

УДК 616.12-008.313.2:575.853(574)

С.Ф. БЕРКИНБАЕВ, М.Р. РЫСУЛЫ, А.Т. МУСАГАЛИЕВА,
Г.А. ДЖУНУСБЕКОВА, А.Н. АМАНТАЕВА, Д.М. МЕКЕБЕКОВА

Научно-исследовательский институт кардиологии и внутренних болезней, г. Алматы, Республика Казахстан

**ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ CYP2C9 И VKORC1 У БОЛЬНЫХ
С ФИБРИЛЛЯЦИЕЙ ПРЕДСЕРДИЙ КАЗАХСКОЙ НАЦИОНАЛЬНОСТИ**

Пациенты с фибрилляцией предсердий и высоким риском тромбоземболических осложнений должны получать антикоагулянтную терапию. Наибольшее число мировых исследований посвящено влиянию носительства 2 аллельных вариантов гена CYP2C9 (CYP2C9*2 и CYP2C9*3) на фармакокинетику, антикоагулянтный эффект, развитие кровотечений и особенности режима дозирования варфарина. Нами был проведен генетический анализ 50 пациентов с фибрилляцией предсердий казахской национальности, получающих варфарин.

В результате проведенных исследований установлено, что среди обследованных лиц казахской национальности полиморфизмы генов CYP2C9*, CYP2C9*3, VKORC1G3730A не связаны с поддерживающей дозой варфарина у лиц казахской национальности с мерцательной аритмией. В то же время лица казахской национальности с генотипом TT гена VKORC1C1173T нуждаются в более низкой дозе варфарина, чем лица с гомозиготным носительством нормального аллеля.

Ключевые слова: мерцательная аритмия, варфарин, полиморфизм генов.

Больные с высоким риском тромбоземболических осложнений должны получать антикоагулянтную терапию. Следует отметить, что согласно последним рекомендациям Европейского общества кардиологов для профилактики тромбоземболии при фибрилляции предсердий (ФП) следует отдавать предпочтение новым антиромбиновым препаратам, показавшим высокую эффективность при большей безопасности. Однако, высокая стоимость этих препаратов ограничивает их широкое использование. Антагонисты витамина К (варфарин), называемые также непрямыми антикоагулянтами (НАКГ), занимают лидирующие позиции в качестве препаратов выбора для профилактики тромбоземболических осложнений сердечно-сосудистых заболеваний. Хорошая доказательная база варфарина обуславливает его широкое применение в клинической практике. Варфарин доказал свою эффективность при ФП в нескольких многоцентровых исследованиях (AFASAK I, SPAF, BAATAF, CAFA, SPINAF, EAFT), метаанализ которых свидетельствует о способности препарата снижать риск возникновения инсульта на 62% [1].

Однако применение варфарина требует жесткого лабораторного контроля международного нормализованного отношения (МНО), так как препарат имеет узкое терапевтическое окно (МНО – 2–3). При этом эффективность препарата не доказана, если МНО менее 1,6, а при значении показателя более 3,0 достоверно увеличивается риск кровотечений. Несмотря на тщательный лабораторный контроль, поддержать уровень МНО в пределах 2-3, даже в многоцентровых исследованиях удается в 50-70% случаев [2, 3], в то время как в рутинной врачебной практике – менее 40% [4].

Следовательно, изучение факторов, определяющих индивидуальную чувствительность к варфарину, остается крайне актуальным. Общеизвестно, что одним из таких факторов являются генетические особенности пациента [5]. Генетические особенности пациента, определяющие индивидуальную чувствительность к варфарину, могут быть связаны с полиморфизмом генов, кодирующих ферменты биотрансформации варфарина, и белков-мишеней варфарина.

Наибольшее число исследований посвящено влиянию носительства 2 аллельных вариантов гена CYP2C9 (CYP2C9*2 и CYP2C9*3) на фармакокинетику, антикоагулянтный эффект, развитие кровотечений и особенности режима дозирования варфарина. При наличии CYP2C9*2 или CYP2C9*3 замедляется биотрансформация варфарина, что сопровождается повышением концентрации

препарата в крови, увеличением частоты чрезмерной гипокоагуляции и высоким риском кровотечений [6].

Метаанализ японских исследователей [7] показал, что пациенты, являющиеся носителями аллельных вариантов CYP2C9*2 и CYP2C9*3, требуют более длительной процедуры подбора дозы варфарина, а также могут демонстрировать внезапное повышение уровня МНО как в период подбора дозы, так и при длительной терапии [8]. Для данной категории пациентов обычно подбираются более низкие дозы варфарина (менее 5 мг/сут).

Кроме того, индивидуальная чувствительность к варфарину зависит и от витамин-К-эпоксид-редуктазного комплекса (VKORC1), представляющего собой небольшой трансмембранный белок, локализованный в эндоплазматическом ретикулуме гепатоцитов. Витамин К является кофактором карбоксилирования витамин-К-зависимых белков (факторы свертывания II, VII, IX, X), в результате чего происходит их активация. Витамин К-эпоксид редуктаза (VKOR), участвующая в восстановлении эпоксидной формы витамина К в гидрохиноновую, является фармакодинамической мишенью для варфарина. Степень активности и валидности VKORC1 генетически детерминирована. Известен ряд полиморфизмов в гене VKORC1. Чаще всего изучают изменения на участке, расположенном в промотерной зоне гена, в положении 1173 C/T. При этом гомозиготный вариант C/C является «диким» типом. При наличии гетерозиготного варианта C/T, а тем более гомозиготного варианта T/T происходит снижение экспрессии гена, что проявляется уменьшением содержания VKORC1 в гепатоцитах и требует уменьшения дозы варфарина. Так Kimura R и соавт. при обследовании лиц японской национальности установили, что однонуклеотидная замена 1173C>T (rs9934438 – at intron 1) связана со снижением дозы варфарина на 30% [9], в то время как 3730G>A (rs7294 – 3'UTR) полиморфизм ассоциируется с повышением дозы варфарина [10].

В связи с этим изучение полиморфизма генов CYP2C9 и VKORC1 у больных с мерцательной аритмией казахской национальности представляется весьма актуальным.

Материал и методы

Обследовано 50 больных казахской национальности с мерцательной аритмией, которым подбиралась доза варфарина эмпирическим способом до достижения МНО 2-3. У всех пациентов был произведен забор крови для проведения генетического анализа.

Результаты и обсуждение

В результате проведенного исследования выявле-

но, что среди лиц казахской национальности наиболее распространенным генотипом гена CYP2C9*2 является «дикий» генотип, обуславливающий нормальный уровень метаболизма варфарина, у 26% пациентов было установлено гетерозиготное носительство мутантного аллеля. Мутация по CYP2C9*3 у лиц казахской национальности встречается очень редко, в 8% выявлено гетерозиготное носительство мутантного аллеля (табл. 1).

Таблица 1 – Частотное распределение генотипов генов CYP2C9*2, CYP2C9*3, в группе больных с фибрилляцией предсердий казахской национальности

Генотипы	CYP2C9*2		Генотипы	CYP2C9*3	
	n	%		n	%
CC	37	74	AA	46	92
CT	13	26	AC	4	8
TT	0	0	CC	0	0
Аллели					
С (дикий)	87	87	А (дикий)	96	96
Т	13	13	С	4	4
Всего	100	100		100	100

Результаты анализа взаимосвязи полиморфизма гена CYP2C9 с дозой варфарина, необходимой для поддержания МНО на уровне 2-3, представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Доза варфарина в зависимости от генотипов гена CYP2C9

Генотип CYP2C9*2	CC	CT
Частота (%)	74%	26%
Доза варфарина (мг)	3,88±0,3	3,22±0,5
Генотип CYP2C9*3	AA	AC
Частота (%)	92%	8%
Доза варфарина (мг)	3,79±0,27	3,59±0,35

Как видно из таблицы 2, достоверно значимых различий по дозе варфарина в зависимости от полиморфизма гена CYP2C9*2 и CYP2C9*3 в обследованной группе пациентов казахской национальности нами не выявлено.

Известно, что фармакодинамической мишенью для варфарина является витамин К – эпоксид редуктаза. С активностью данного фермента связан и антикоагулянтный эффект варфарина.

Анализ распределения генотипов VKORC1G3730A показал, что среди лиц казахской национальности частота носительства мутантного аллеля в гомозиготном состоянии составляет 16%, на долю гетерозигот по данному аллелю приходится 82%, гомозиготное носительство по «дикому» аллелю составляет 2% (табл. 3).

Таблица 3 – Частотное распределение генотипов гена VKORC1

Генотипы	VKORC1 G3730A		Генотипы	VKORC1 C1173T	
	n	%		n	%
GG	1	2	CC	3	6
GA	41	82	CT	28	56
AA	8	16	TT	19	38
	50	100		50	100
Аллели					
G	43	43	С	34	34
A	57	57	Т	66	66
	100	100		100	100

Учитывая, что с генотипом GG выявлен только один пациент, то в дальнейшем анализе мы объединили его с группой пациентов с генотипом GA. При сравнении дозы варфарина необходимой для поддержания МНО на уровне 2-3 между носителями генотипа GA и AA достоверно значимых различий не установлено (табл. 4).

Таблица 4 – Доза варфарина в зависимости от генотипов гена CYP2C9

Генотип CYP2C9*2	GG+GA	AA
Частота (%)	84%	16%
Доза варфарина (мг)	3,79±0,28	3,28±0,66

Анализ распределения генотипов гена VKORC1C1173T показал (табл. 3), что среди лиц казахской национальности частота дикого генотипа (CC) составляет 6%, а на долю лиц-носителей мутантного аллеля в гетерозиготном состоянии (CT) приходится 56%, в гомозиготном состоянии (TT) – 38%. Следует отметить, что высокая распространенность мутантного аллеля данного полиморфизма характерна для лиц азиатской национальности. Так, по данным исследования, проведенного Miyagata Y и др., частота TT генотипа у японцев составила 85%.

При анализе дозы варфарина в зависимости от полиморфизма гена VKORC1C1173T (табл. 5) установлено, что у носителей генотипа CC («дикого» генотипа) доза варфарина, необходимая для поддержания МНО на уровне 2-3, составляет 6,25±1,56 мг, что почти в 2 раза выше, чем у гомозиготных носителей мутантного аллеля (TT) – 2,99±0,29 (p<0,05). Установленная зависимость позволяет сделать вывод, что для лиц казахской национальности, являющихся носителями мутантного аллеля гена VKORC1C1173T, необходимы более низкие дозы варфарина для поддержания МНО на уровне 2-3, что важно учитывать для предупреждения возникновения кровотечений на фоне антикоагулянтной терапии варфарином лицам казахской национальности.

Таблица 5 – Доза варфарина в зависимости от полиморфизма гена VKORC1C1173T у больных с ФП казахской национальности

Доза	Генотип CC (дикий тип)	Генотип CT	Генотип TT
Частота (%)	15%	60%	25%
Доза варфарина (мг)	6,25±1,56	3,99±0,23	2,99±0,29

Выводы

Таким образом, на данном этапе в результате проведенных исследований установлено, что среди обследованных лиц казахской национальности полиморфизмы генов CYP2C9*, CYP2C9*3, VKORC1G3730A не связаны с поддерживающей дозой варфарина у лиц казахской национальности с мерцательной аритмией. В то же время лица казахской национальности с генотипом TT гена VKORC1C1173T нуждаются в более низкой дозе варфарина, чем лица с гомозиготным носительством нормального аллеля.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Olesen J.B., Lip G.Y., Lane D.A. et al. Vascular disease and stroke risk in atrial fibrillation: a nationwide cohort study // Amer. J. Med. – 2012. – Vol. 125 (82). – P. 13-23
- Lenzini P., Wadelius M., Kimmel S. et al. Integration of genetic, clinical, and INR data to refine warfarin dosing // Clin. Pharmacol. Ther. – 2010. – Vol. 87, N 5. – P. 572-578
- Morgan C.L., McEwan P., Tukiendorf A. et al. Warfarin

treatment in patients with atrial fibrillation: observing outcomes associated with varying levels of INR control // *Thrombosis Research*. – 2009. – Vol. 124. – P. 37-41

4 Rose A.J., Ozonoff A., Berlowitz D.R. et al. Warfarin dose management affects INR control // *J. Thromb. Haemost.* – 2009. – Vol. 7. – P. 94-101

5 Сычев Д.А., Кропачева Е.С., Игнатъев И.В. и др. Фармакогенетика непрямых антикоагулянтов: значение генотипа в повышении эффективности и безопасности терапии // *Кардиология*. – 2006;(7):72-8

6 Johnson J.A., Gong L., Whirl-Carrillo M. et al. Clinical pharmacogenetics implementation consortium guidelines for CYP2C9 and VKORC1 genotypes and warfarin dosing // *Clin. Pharmacol. Ther.* – 2011. – Vol. 90, N 4. – P. 625-629

7 Yin T, Miyata T. Warfarin dose and the pharmacogenomics of CYP2C9 and VKORC1 – Rationale and perspectives // *Thromb Res*. 2006;102(4):1345-9

8 Moridani M, Fu L, Selby R et al. Frequency of CYP2C9 polymorphisms affecting warfarin metabolism in a large anticoagulant clinic cohort // *Clin Biochem*. 2006;39(6):606-12

9 Kimura R, Miyashita K, Kokubo Y, Akaiwa Y, Otsubo R, Nagatsuka K, Otsuki T, Okayama A, Minematsu K, Naritomi H, Honda S, Tomoike H, Miyata T. Genotypes of vitamin K epoxide reductase, gamma-glutamyl carboxylase, and cytochrome P4502C9 as determinants of daily warfarin dose in Japanese patients // *Thromb Res* 2007; 120: 181–86

10 D'Andrea G, D'Ambrosio RL, Di Perna P, Chetta M, Santacroce R, Brancaccio V, Grandone E, Margaglione M. A polymorphism in the VKORC1 gene is associated with an interindividual variability in the dose-anticoagulant effect of warfarin // *Blood* 2005; 105: 645–49

Т Ұ Ж Ы Р Ы М

**С.Ф. БЕРКИНБАЕВ, М.Р. РЫСҰЛЫ,
А.Т. МҰСАҒАЛИЕВА, Г.А. ЖҮНІСБЕКОВА,
А.Н. АМАНТАЕВА, Д.М. МЕКЕБЕКОВА**

*Кардиология және ішкі аурулар ФЗИ,
Қазақстан Республикасы, Алматы қ.*

ЖҮРЕКШЕ ФИБРИЛЛЯЦИЯСЫМЕН АУЫРАТЫН ҰЛТЫ ҚАЗАҚ АУРУЛАРДАҒЫ CYP2C9 ЖӘНЕ VKORC1 ГЕНДЕРІНІҢ ПОЛИМОРФИЗМІ

Варфаринге жеке сезімталдықтың болуына әсер ететін факторлардың қатары белгілі. Емделушінің генетикалық ерекшеліктері препараттың қажетті дозасымен байланысты болуы мүмкін.

Мақсаты. Жүрекше фибрилляциясымен ауыратын ұлты қазақ аурулардағы.

CYP2C9 және VKORC1 гендерінің полиморфизмінен варфариннің бір қалыпта ұстап тұратын дозасына тәуелділікті зерттеу.

Материалдар мен әдістер. ХБҚ 2-3 жеткенге дейін эмпирикалық тәсілмен варфарин дозасы таңдалған жыбырлақ аритмиямен ауыратын ұлты қазақ 50 ауру тексерілді. Пациенттерден CYP2C9*2, CYP2C9*3,

VKORC1G3730A және VKORC1C1173T гендерінің полиморфизмдерін анықтау үшін қан алынды.

Нәтижесі. Варфарин дозасының VKORC1C1173T генінің полиморфизміне тәуелділігіне талдау жасағанда CC генотипін («жабайы» генотип) тасымалдаушыларда 2-3 деңгейіндегі ХБҚ бір қалыпта ұстап тұруға қажетті варфарин дозасы $6,25 \pm 1,56$ мг құрайды, бұл мутантты аллельдің (ТТ) гомозиготты тасымалдаушыларына қарағанда шамамен 2 есеге жоғары $2,99 \pm 0,29$ ($p < 0,05$) екендігі анықталды.

Тұжырымдар. Белгіленген тәуелділік VKORC1C1173T генінің мутантты аллелін тасымалдаушысы болып табылатын ұлты қазақ тұлғалар үшін 2-3 деңгейіндегі ХБҚ бір қалыпта ұстап тұру үшін варфариннің мейлінше төмен дозасының қажеттігі туралы қорытынды шығаруға мүмкіндік берді. CYP2C9*, CYP2C9*3, VKORC1G3730A гендерінің полиморфизмдері жыбырлақ аритмиямен ауыратын ұлты қазақ тұлғаларда варфариннің бір қалыпта ұстап тұратын дозасының деңгейімен байланысты емес.

Негізгі сөздер: жүрекше фибрилляциясы, варфарин, гендерінің полиморфизмі.

S U M M A R Y

**S.Ph. BERKINBAYEV, M.R. RYSULY,
A.T. MUSAGALIEVA, G.A. DZHUNUSBEKOVA,
A.N. AMANTAYEVA, D.M. MEKEBEKOVA**

*Scientific-Research Institute of Cardiology and
Internal Diseases, Kazakhstan Republic, Almaty c.*

POLYMORPHISM OF CYP2C9 AND VKORC1 GENES AMONG KAZAKH NATIONALITY PATIENTS WITH ATRIAL FIBRILLATION

A number of factors affecting individual sensitivity to warfarin are known. Genetic features of the patient may be associated with the required dose of the drug. Objective: To study the dependence of the maintenance dose of warfarin by CYP2C9 gene polymorphisms and VKORC1 in patients with atrial fibrillation Kazakh nationality.

Materials and methods. 50 patients with Kazakh nationality with atrial fibrillation, which was chosen empirically dose of warfarin to achieve an INR of 2-3. In all patients, blood sampling was performed to determine the genetic polymorphism of CYP2C9 * 2, CYP2C9 * 3, VKORC1G3730A and VKORC1C1173T.

Results. In the analysis of warfarin depending on the gene polymorphism VKORC1C1173T found that genotype CC ("wild" genotype) warfarin dose required to maintain an INR of 2-3 is $6,25 \pm 1,56$ mg, which is almost 2 times higher than in homozygous carriers of the mutant allele (TT) – $2,99 \pm 0,29$ ($p < 0,05$).

Conclusions. Established relationship allows us to conclude that for the Kazakhs, who are carriers of the mutant allele VKORC1C1173T, required lower doses of warfarin to maintain an INR of 2-3. Polymorphisms of genes CYP2C9 *, CYP2C9 *3, VKORC1G3730A not associated with the level of maintenance dose of warfarin in the Kazakhs with atrial fibrillation.

Key words: atrial fibrillation, warfarin, polymorphism of genes.