

МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ

А.В. Павлова, Е.С. Кылбанова, Э.В. Гурьева, Н.Р. Максимова,
А.Л. Данилова, В.А. Васильев, Б.В. Андреев

ПРИМЕНЕНИЕ ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ НА ФОНЕ РЕСТЕНОЗА СТЕНТА

УДК 611.1:615

Изучено влияние полиморфизма гена CYP2C19 на развитие рестеноза стента после чрескожного коронарного вмешательства у пациентов с острым коронарным синдромом. Полученные данные демонстрируют, что почти у половины пациентов с рестенозом в стенте коронарной артерии выявлен ген, отвечающий за снижение метаболизма клопидогрела.

Ключевые слова: рестеноз, клопидогрел, фармакогенетика, острый коронарный синдром.

We studied the influence of CYP2C19 gene polymorphism on the development of in-stent restenosis after transdermal coronary intervention in patients with acute coronary syndrome. The obtained data have revealed a gene almost in the half of patients with restenosis in coronary artery, it being responsible for the reduction of clopidogrel metabolism.

Keywords: restenosis, clopidogrel, pharmacogenetics, acute coronary syndrome.

Введение. Острый коронарный синдром (ОКС) – термин, обозначающий любую группу клинических признаков или симптомов, позволяющих подозревать острый инфаркт миокарда (ОИМ) или нестабильную стенокардию (НС) [3].

С целью визуализации и лечения атеросклероза коронарных артерий (КА) проводится метод чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ) с использованием стентов на фоне активной антиагрегантной, антикоагулянтной и липидснижающей терапии [1].

Одним из наиболее часто применяемых в настоящее время антиагрегантов является блокатор P2Y₁₂ рецептора клопидогрел. Результаты исследований CAPRIE (Clopidogrel versus Aspirin in Patients at Risk of Ischemic Events), CURE (Clopidogrel in Unstable angina Recurrent Events), CREDO (Clopidogrel for the Reduction of Events During Observation) открыли дорогу широкому применению кло-

пидогрела при лечении больных атеросклерозом [9,10,12]. Однако существует большая категория больных, у которых, несмотря на прием антитромбоцитарных препаратов, возникают повторные ишемические осложнения. Ввиду данного проявления в последнее время проводится исследование на выявление генетических факторов, связанных с метаболизмом клопидогрела, среди которых аллельные варианты гена цитохрома CYP2C19 занимают по значимости первое место [2, 6, 11, 15]. У пациентов, являющихся носителями аллельных вариантов CYP2C19*2 и CYP2C19*3, отмечается слабый антиагрегантный эффект клопидогрела в связи с нарушением образования его активного метаболита в печени, что обуславливает генетически детерминированную резистентность к данному препарату [7, 13]. И пациенты с ОКС, как группа высокого риска неблагоприятных сердечно-сосудистых событий, при исследовании на резистентность к клопидогрелу представляют наибольший интерес.

Цель: проанализировать влияние полиморфизма гена CYP2C19 на развитие рестеноза стента после ангиопластики коронарных артерий у пациентов с острым коронарным синдромом.

Материалы и методы исследования. Исследование проведено на базе отделения неотложной кардиологии с группой интенсивной терапии Регионального сосудистого центра Республиканской больницы №2-Центра экстренной медицинской помощи в период с 2013 по 2015 г. Решение о включении больного в исследование осуществлялось после подписания ин-

формированного согласия пациента. Протокол исследования одобрен локальным Этическим комитетом.

В исследование включено 35 случаев рестеноза в стенте (РС) коронарной артерии у пациентов с острым коронарным синдромом. Диагноз установлен на основании клиники, типичных изменений ЭКГ, динамики маркеров некроза миокарда (тропонин I) в соответствии с рекомендациями Всероссийского национального общества кардиологов по диагностике и лечению больных острым инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST ЭКГ (ВНОК, 2007) и национальными рекомендациями по лечению острого коронарного синдрома без стойкого подъема сегмента ST на ЭКГ (ВНОК, 2006).

Всем пациентам проведено фармакогенетическое исследование, взята кровь для генетического анализа на определение полиморфизма генов CYP2C19*2 и CYP2C19*3 методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции (ПЦР). Выделение ДНК проводилось из 0,2 мл крови с помощью набора для выделения ДНК GeneJET Whole Blood Genomic DNA Purification Mini Kit (Thermo Scientific, USA). Амплификацию полиморфизмов генов CYP2C19*2 и CYP2C19*3 проводили с помощью TaqMan наборов (Applied Biosystems, USA) в системе детекции продуктов ПЦР в реальном времени.

Расчет начальной дозы клопидогрела проведен с помощью программы PharmSuite, с учетом результатов фармакогенетического исследования в сотрудничестве с учебно-научной лабораторией «Геномная медицина» клиники Медицинского института Се-

Медицинский институт СВФУ им. М.К. Аммосова: **ПАВЛОВА Анна Валентиновна** – аспирант, врач кардиолог РБ №2-ЦЭМП, uybachnik@mail.ru, **КЫЛБАНОВА Елена Семеновна** – д.м.н, проф., зав. кафедрой, kyles@list.ru, **ГУРЬЕВА Эльга Владимировна** – аспирант, врач кардиолог РБ №2-ЦЭМП, elgagurieva@mail.ru; **МАКСИМОВА Надежда Романовна** – д.м.н., проф., зав. УНЛ «Геномная медицина» Клиники МИ, nr.maksimova@s-vfu.ru, **ДАНИЛОВА Анастасия Лукична** – к.б.н., н.с. УНЛ «Геномная медицина» Клиники МИ, al.danilova@s-vfu.ru; **ВАСИЛЬЕВ Виталий Анатольевич** – рентгенэндоваскулярный хирург РБ №2-ЦЭМП, vasilev.vitaliy.1982@mail.ru; **АНДРЕЕВ Борис Витальевич** – к.м.н., гл. врач РБ №2-ЦЭМП, bv.andreev@s-vfu.ru.

веро-Восточного федерального университета.

Обследуемые пациенты разделены на 3 группы:

I – носители гена CYP2C19*1, n – 19, из них мужчин – 15 и женщин – 4. Средний возраст $57,8 \pm 12,7$ лет;

II – носители гена CYP2C19*2, n – 12, из них мужчин – 9 и женщин – 3. Средний возраст составил $66,7 \pm 7,6$ лет;

III – носители гена CYP2C19*3, n – 4, исследуемые мужского пола. Средний возраст $60 \pm 6,6$ лет.

Все пациенты при поступлении в отделение неотложной кардиологии получили антиагрегантную терапию в виде нагрузочной дозы: аспирин в дозе 250–325 мг и клопидогрел в дозе 600 мг.

Анализ лабораторных данных включал показатели липидного профиля. Ввиду высокого риска сердечно-сосудистых осложнений высокими показателями липидов считали значения: ОХС $\geq 4,0$ ммоль/л, ХС ЛНП $\geq 1,8$ ммоль/л, ХС ЛВП $\geq 1,0$ ммоль/л у мужчин и $1,2$ ммоль/л у женщин, ТГ $\geq 1,7$ ммоль/л (рекомендации Российского кардиологического общества (РКО) 2012 г., Национального общества по изучению атеросклероза (НОА) и Российского общества кардиосоматической реабилитации и вторичной профилактики (РосОКР)). Индекс массы тела (ИМТ) оценивали по индексу Кеттелла II, рассчитанному по формуле: вес (кг)/рост (m^2). Нормальный ИМТ в пределах $18,5-24,9$ кг/ m^2 ; $25-29,9$ кг/ m^2 – избыточная масса тела (предожирение); ≥ 30 кг/ m^2 – ожирение (РКО, 2012).

Коронароангиография проводилась по общепринятой методике на аппарате «INNOVA 3100». При визуальном анализе коронарограмм оценивались основные коронарные артерии (ствол левой коронарной артерии, передняя межжелудочковая артерия, огибающая артерия, диагональная артерия, правая коронарная артерия, ветвь тулового края). Оценивали тип коронарного кровоснабжения сердца и количество пораженных артерий, а также определяли функцию ранее поставленного стента (DES стент – покрытый лекарственным препаратом, BMS стент – голометаллический). При характеристике рестеноза стента использована классификация, основанная на протяженности и локализации рестенозированного участка по отношению к стенту (Mehran и соавт., 1999): I тип – локальный (длина менее 10 мм); II – диффузный (длина более 10 мм); III – пролиферативный (выходящий за

пределы стента, длина более 10 мм); IV тип – окклюзия стента.

Ангиографическим критерием рестеноза являлось уменьшение просвета сосуда в зоне ранее имплантированного стента на 50% и более, что потребовало проведения повторной реваскуляризации. Осуществляли стандартное лечение ОКС, включая стентирование инфаркт-связанной коронарной артерии.

Все больные после предшествующего стентирования получили рекомендации по приему двухкомпонентной дезагрегантной терапии (ацетилсалициловую кислоту, клопидогрел или тикагрелор) и базисной терапии ИБС (β -адреноблокаторы, ингибиторы АПФ, статины).

Процедуры статистического анализа выполнялись с помощью статистического пакета SPSS-19. Результаты представлены в виде $M \pm SD$, где M – среднее значение, SD – стандартное отклонение, 95% ДИ – 95% доверительный интервал. Проверку на нормальность распределения изучаемых количественных показателей в двух исследуемых группах проводили по тесту Колмогорова-Смирнова. Распределение переменных отличалось от нормального, ввиду чего они представлены в виде медианы и интерквартильными (25-я и 75-я процентиля) размахами. Достоверность различий средних количественных показателей между двумя группами проверялась с помощью непараметрического теста Манна-Уитни, качественные показатели проверяли по таблице сопряженности с вычислением достоверности по критерию χ^2 -Пирсона для независимых выборок. Достоверными принимали отличия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. В I группе исследуемых (пациенты с нормальным геном CYP2C19*1) рестеноз

в стенте коронарной артерии проявился клинически в среднем через $18,7$ ($3,7$; $21,3$) месяцев. Во II группе, среди носителей замедленного гена (CYP2C19*2), – через $16,8$ ($1,25$; $19,3$) месяцев, в III группе пациентов с геном CYP2C19*3 – через $5,5$ ($2,0$; $9,5$) месяцев, что соответствует результатам исследований других авторов по выявлению причин рестеноза в стенте коронарных артерий [2, 4]. Несмотря на раннее проявление заболевания после предшествующего коронарного вмешательства в III группе исследуемых, достоверных различий по временным показателям рестеноза стента в зависимости от гена не выявлено ($p < 0,05$).

В табл.1 представлены средние показатели липидного профиля у обследованных. Проведенный анализ выявил высокие показатели ОХС и ХСЛНП. По данным Iliodromitis [14], дислипидемия и отсутствие приема холестеринснижающих препаратов увеличивают риск рестеноза стента. Средний уровень ОХС у пациентов I группы составил $4,2$ ммоль/л [$3,2$; $5,0$], II группы был несколько выше в сравнении с I группой – $4,6$ ммоль/л [$3,7$; $5,4$], III группы – значительно выше, чем у пациентов I группы – $5,4$ ммоль/л [$4,6$; $6,1$], p -III $< 0,05$. Среднее значение ХС ЛНП в III группе пациентов оказался высоким в сравнении с показателями других групп – $3,7$ ммоль/л ($2,8$; $4,5$), но достоверные различия не получены. Показатели ХС ЛВП и ТГ во всех группах были в пределах значений, рекомендованных РКО, за исключением несколько низкого показателя ХС ЛВП во II группе (табл.1). Индекс атерогенности (ИА) был выше у пациентов носителей гена CYP2C19*2 и CYP2C19*3 и составил $3,7$ в сравнении с показателем в I группе $2,5$.

Анализ данных коронарной ангио-

Таблица 1

Средние показатели липидного профиля у пациентов с рестенозом в стенте КА

Показатель	I группа, носители гена CYP2C19*1, n – 19	II группа, носители гена CYP2C19*2, n – 12	III группа, носители гена CYP2C19*3, n – 4	P I-II	P I-III	P II-III
Общий холестерин, ммоль/л	4,2 [3,2;5,0]	4,6 [3,7;5,4]	5,4 [4,6;6,1]	>0,05	<0,05	>0,05
Липопротеины низкой плотности, ммоль/л	2,7 [1,9;3,1]	2,8 [2,2;3,4]	3,7 [2,8;4,5]	>0,05	>0,05	>0,05
Липопротеины высокой плотности, ммоль/л	1,3 [1,0;1,6]	0,9 [0,7;1,2]	1,3 [0,8;1,7]	>0,05	>0,05	>0,05
Триглицериды	1,1 [0,86-1,3]	1,5 [1,2;1,9]	1,0 [0,6;1,4]	<0,05	>0,05	>0,05
Индекс атерогенности	2,5 [1,8;3,0]	3,7 [2,5;4,9]	3,7 [2,2;5,1]	<0,05	>0,05	>0,05

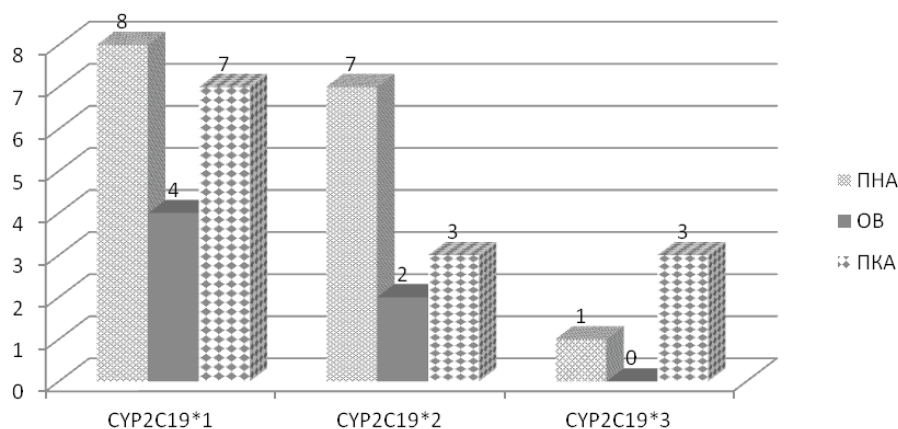


Рис.1. Локализация рестеноза стента в КА в зависимости от гена

Характеристика ангиографических показателей

Таблица 2

Показатель	I группа , носители гена CYP2C19*1, n – 19		II группа , носители гена CYP2C19*2, n – 12		III группа , носители гена CYP2C19*3, n – 4		P I-II	P I-III	P II-III
	n	%	n	%	n	%			
Характер ранее имплантированного стента:									
BMS	2	10,5	4	33,3	3	75,0	>0,05	<0,01	>0,05
DES	9	47,4	3	25,0	1	25,0	>0,05	>0,05	>0,05
Неизвестно	8	42,1	5	41,7	-	-	>0,05	-	-
Тип рестеноза:									
I	3	15,8	1	8,3	-	-	>0,05	-	-
II	6	31,6	1	8,3	-	-	>0,05	-	-
III	6	31,6	5	41,7	1	25,0	>0,05	>0,05	>0,05
IV	4	21,1	5	41,7	3	75,0	>0,05	<0,05	>0,05
Степень сужения, %									
менее 50	4	21,1	-	-	1	25,0	-	>0,05	-
50-75	3	15,8	1	8,3	-	-	>0,05	-	-
75-90	4	21,1	1	8,3	-	-	>0,05	-	-
больше 90	8	42,1	10	83,3	3	75,0	<0,05	>0,05	>0,05

графии выявил различия по частоте встречаемости рестеноза в стенте КА у исследуемых пациентов (рис.1). Наибольший процент повреждения вы-

явлен в передненисходящей артерии (ПНА), на втором месте – в правой коронарной артерии (ПКА), затем в огибающей артерии (ОВ).

Из общего числа больных, перенёсших ЧКВ со стентированием КА (n=35), в I группе

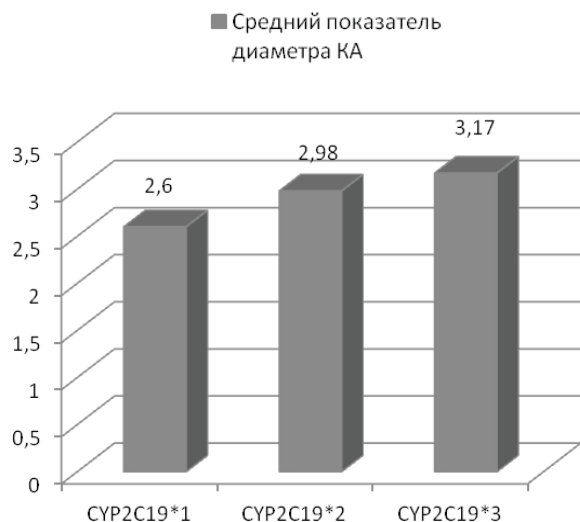


Рис.2. Средний диаметр коронарной артерии у пациентов с рестенозом в стенте

исследуемых 2 пациентам ранее имплантированы стенты без лекарственного покрытия (BMS), 9 пациентам – стенты с лекарственным покрытием (DES) (табл.2). Во II группе исследуемых, у пациентов с геном, отвечающим за резистентность к клопидогрелу (CYP2C19*2), BMS стенты установлены у 4 чел. (33,3%), DES стенты – 3 чел. (25%), неизвестно – 5 чел. (41,7%), у лиц с геном CYP2C19*3 BMS стенты установлены у 3 чел. (75%), DES стенты – у 1 чел. (25%). Наибольший процент установки BMS стентов получен в III группе.

Анализ отдаленных результатов после стентирования выявил во всех группах наибольшую частоту встречаемости двух типов рестеноза: пролиферативного и окклюзивного поражения. Вместе с тем, окклюзия стента (IV тип) значительно чаще встречается в группе CYP2C19*3. Потеря просвета в стенте > 90 % при РС наиболее высока в группах с генами CYP2C19*2 GA (83,3%) и CYP2C19*3 AA (75%).

Считается, что пациенты с меньшим диаметром реваскуляризованного сосуда имеют больший риск развития неблагоприятного исхода после коронарного стентирования [5]. В нашем исследовании нами также получены аналогичные данные (рис. 2). Средний показатель диаметра коронарных артерий в исследованных группах был не выше 3,5 мм. Так, в I группе средний диаметр КА составил всего 2,6 мм, что, возможно, повлияло на развитие рестеноза. Во II группе пациентов аналогичный показатель был равен 2,98 мм, III – 3,17 мм. Значимые различия получены между I и II группами, $p < 0,05$.

В нашей работе мы проанализировали исходы ОКС – клинические диагнозы у обследованных. Нами получено, что у пациентов с отсутствием гена на резистентность к клопидогрелу

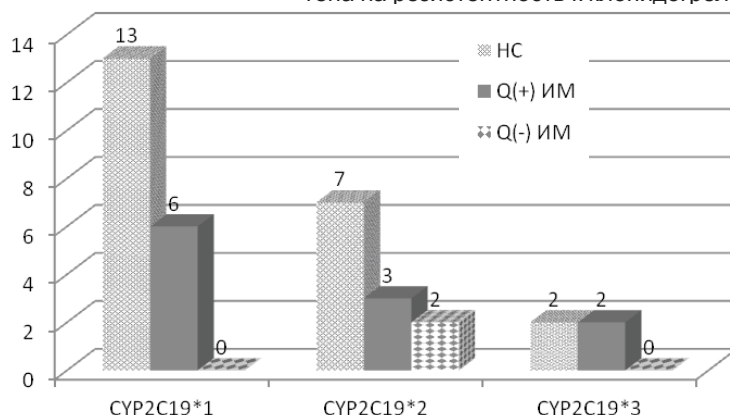


Рис.3. Сосудистые осложнения у пациентов с рестенозом в стенте: НС – нестабильная стенокардия, Q(+)ИМ – Q позитивный инфаркт миокарда, Q(-) – Q негативный инфаркт миокарда

небольшую долю встречаемости имел диагноз нестабильная стенокардия (рис.3).

Все пациенты ввиду рестеноза стента с целью снижения риска повторного рестеноза были переведены на антиагрегант тикагрелор (Брилинта) в дозе 180 мг/сут.

Выводы:

1. Гены CYP2C19*2 и CYP2C19*3 встречаются у пациентов с рестенозом в стенке коронарной артерии в 45,7% случаев.

2. Одним из неблагоприятных факторов развития рестеноза стента являются нарушения липидного обмена, что требует более тщательного наблюдения и лечения данных категорий пациентов.

3. Рестеноз в коронарной артерии наиболее часто происходил в ПНА, на втором месте – ПКА и затем ОА, с наибольшим диаметром сосуда (не более 3,0 мм в среднем) и с наиболее высоким показателем поражения голометаллического стента (BMS), что соответствует литературным данным [5, 8].

4. Ввиду вышеуказанных результатов нашего исследования всем пациентам, подвергшимся ЧКВ со стентированием, рекомендуется проводить анализ на агрегацию тромбоцитов и при отсутствии снижения агрегационной способности тромбоцитов на фоне проводимой двухкомпонентной антиагрегантной терапии необходимо проведение фармакогенетического тестирования ввиду высокого риска рестенозирования стента.

5. При выявлении носительства CYP2C19*2 или CYP2C19*3 рекомендуется выбрать другой антиагрегант, например, прасугрел, тикагрелор. При выявлении гена CYP2C19*1/*1 клопидогрел применяется в дозах, регламентированных в инструкции по медицинскому применению: нагрузочная доза 300 мг, далее по 75 мг/сут [7].

Литература

1. Инвазивная кардиология и коронарная болезнь / Ю.Н. Соколов, М.Ю. Соколов, Л.Н.

Костенко [и др.]. – Киев: Морион, 2002. – С. 360.

Invasive cardiology and coronary heart disease / Yu.N. Sokolov, M.Yu. Sokolov, L.N. Kostenko [et al.]. – Kyiv: Morion, 2002. – P. 360.

2. Ломоносова А.А. Проблема рестеноза после чрескожных внутрикоронарных вмешательств и перспективы его профилактики с помощью генотерапевтических воздействий / А.А. Ломоносова, С.Ю. Григорова, Ю.И. Афанасьев // Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация. – 2010. – № 4. – С. 5-10.

Lomonosova A.A. The problem of restenosis after percutaneous intracoronary interventions and prospects of prevention by means of gene therapy effects / A.A. Lomonosova, S. Yu. Grigorova, Yu.I. Afanasiev // Scientific Gazette. Series Medicine. Pharmacy. – 2010. – № 4. – p. 5-10.

3. Национальные рекомендации по диагностике и лечению больных острым инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST ЭКГ. Первое издание 2007 // Кардиоваскулярная терапия и профилактика 2007;6 (8). Приложение 1.

National guidelines on the diagnosis and treatment of patients with acute myocardial infarction with ST-segment elevation ECG. First Edition 2007// Cardiovascular therapy and prevention. – 2007; 6 (8). Annex 1.

4. Предикторы развития тромбозов и рестенозов коронарных стентов / Е.А. Фадеева, Е.Ф. Котовщикова, А.А. Ефремушкина [и др.] // Медицина и образование в Сибири. – 2014. – №2.

Predictors of thrombosis and restenosis of coronary stents / E.A. Fadeeva, E.F. Kotovshchikova, A.A. Efremushkina [et al.] // Health and education in Siberia. – 2014. – №2.

5. Причины рестеноза в стенке после интервенционного лечения пациентов с острым коронарным синдромом с элевацией сегмента ST / В.В. Буза, Ю.А. Карпов, А.Н. Самко [и др.] // Кардиология. – 2009. – №1. – С. 9-13.

Reasons for in-stent restenosis after interventional treatment of patients with acute coronary syndrome with ST segment elevation / V.V. Buza, Yu.A. Karpov, A.N. Samko [et al.] // Cardiology. – 2009. – №1. – P. 9-13.

6. Сулимов В.А. Резистентность к антитромбоцитарным препаратам (аспирину, клопидогрелу) у пациентов, подвергающихся элективному стентированию коронарных артерий / В.А. Сулимов, Е.В. Мороз // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2012. – Т. 8, №1. – С.23.

Sulimov V.A. Resistance to antiplatelet drugs (aspirin, clopidogrel) in patients undergoing elective coronary stenting / V.A. Sulimov, E.V. Moroz // Rational pharmacotherapy in cardiology. – 2012. – Vol. 8, №1. – P.23.

7. Сычев Д.А. Фармакогенетическое тестирование: клиническая интерпретация результатов: рекомендации для практикующих врачей / Д.А. Сычев. – М., 2013. – С. 86.

Sychev D.A. Pharmacogenetic tes-ting: clinical interpretation of the results: recommendations for practitioners / D.A. Sychev // Moscow. – 2013. – P. 86.

8. Чрескожные коронарные вмешательства. Рекомендации американской коллегии кардиологов, американской ассоциации сердца и общества сердечно-сосудистой ангиографии и интервенций. Издание 2005 // Journal of the American College of Cardiology 2006; 47. -121.

Percutaneous coronary intervention. Recommendations of the American College of Cardiology, American Heart Association and the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions. Edition 2005 // Journal of the American College of Cardiology 2006; 47. -121.

9. A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). CAPRIE Steering Committee. Lancet. – 1996; – 348(9038): 1329-1339.

10. Benefits and risks of the combination of clopidogrel and aspirin in patients undergoing surgical revascularization for non-ST-elevation acute coronary syndrome: the Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent ischemic Events (CURE) Trial/ Fox K.A., S.R. Mehta, R. Peters [et al.] // Circulation – 2004; – 110(10):1202-8.

11. Clopidogrel resistance is associated with increased risk of recurrent atherothrombotic events in patients with acute myocardial infarction / S. Matetzky, B. Shenkman, V. Guetta [et al.] // Circulation. – 2004; – 109: 3171 – 3175.

12. Early and sustained dual oral antiplatelet therapy following percutaneous coronary intervention: a randomized controlled trial / S.R. Steinhubl, P.B. Berger, J.T. Mann 3rd [et al.] // JAMA. – 2002; – 288(19):2411-20.

13. High on-treatment platelet reactivity and P2Y12 antagonist in clinical trials / D. Trenk, S.D. Kristensen, W. Hochholzer, F.-J. Neumann // Thromb. Haemost. – 2013. – 109 (2): 1–11.

14. Increased C reactive protein and cardiac enzyme levels after coronary stent implantation. Is there protection by remote ischaemic preconditioning? / E.K. Iliodromitis, S. Kyrzopoulos, I.A. Paraskevaidis [et al.] // Heart. 2006; – 92(12): 1821–1826.

15. The relation of dosing to clopidogrel responsiveness and the incidence of high post-treatment platelet aggregation in patients undergoing coronary stenting / P.A. Gurbel, K.P. Bliden, K.M. Hayes, U.S. Tantry // J Am Coll Cardiol. – 2005/ – 45:1392-6.