

ВИЗНАЧЕННЯ ГЕНЕТИЧНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ CYP2C9 НА ТЛІ ПРИЗНАЧЕННЯ ВАРФАРИНУ У ПАЦІЄНТІВ НА ІШЕМІЧНУ ХВОРОБУ СЕРЦЯ, УСКЛАДНЕНУ ПОСТІЙНОЮ ФОРМОЮ ФІБРИЛЯЦІЇ ПЕРЕДСЕРДЬ

Аспірантка **Панібратюк Ольга Анатоліївна**,

Професор **Яковлева Ольга Олександрівна**

Україна, Вінниця, Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова

DOI: https://doi.org/10.31435/rsglobal_wos/31012020/6888

ARTICLE INFO

Received: 15 November 2019

Accepted: 09 January 2020

Published: 31 January 2020

KEYWORDS

warfarin,
genetic polymorphism CYP2C9,
Arg144Cys,
slow metabolites.

ABSTRACT

This article describes the results of a genetic study of the spread of CYP2C9 polymorphic variants in patients in the Podilskyi region of Ukraine. In different ethnic groups, the frequency of cytochrome polymorphic isoenzymes can vary significantly. The presence of genetic mutations of this cytochrome (Arg144Cys, Ile359Leu) is associated with an increased concentration of warfarin in the blood, which can lead to excessive hypocoagulation and risk of bleeding. Particular attention should be paid to patients with a detected mutation in homozygous form, as both alleles of the gene are mutant (their carriers are "slow metabolizers" and therefore require more careful dose selection). Patients are advised to undergo individual genotyping, which will help to predict the risk of each individual patient.

Citation: Панібратюк Ольга Анатоліївна, Яковлева Ольга Олександрівна. (2020) Vyznachennia Henetychnoho Polimorfizmu CYP2C9 na Tli Pryznachennia Varfarynu u Patsientiv na Ishemichnu Khvorobu Sertsia, Uskladnenu Postiinoiu Formoiu Fibriliatsii Peredserd. *International Academy Journal Web of Scholar*. 1(43). doi: 10.31435/rsglobal_wos/31012020/6888

Copyright: © 2020 Панібратюк Ольга Анатоліївна, Яковлева Ольга Олександрівна. This is an open-access article distributed under the terms of the **Creative Commons Attribution License (CC BY)**. The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) or licensor are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Вступ. Ефективність та безпека фармакотерапії варфарином при ІХС, ускладненій постійною формою фібриляції передсердь, є важливим медичним аспектом. Оскільки варфарин взаємодіє з великою кількістю лікарських засобів та має вузьке терапевтичне вікно.

Особливого значення дана взаємодія набуває у пацієнтів, які генетично схильні до повільного виведення варфарину, є носіями мутантних алелей цитохрому CYP2C9, зокрема поліморфних алелей Arg144Cys (заміщення амінокислоти Аргініну на Цистеїн в 144 позиції гену - CYP2C9*2) та Ile359Leu (заміщення амінокислоти Ізолейцину на Лейцин в 359 позиції гену - CYP2C9*3). Така ситуація асоціюється із підвищеною кількістю кровотеч у їх носіїв. Таким чином, індивідуальну переносимість лікарського засобу формує ще й спадкова (генетична) складова [1,2]. За даними [3,4], від 20% до 95 % всіх небажаних лікарських реакцій зумовлені генетичними особливостями пацієнта.

Поліморфізму генів ізоферментів цитохрому властива яскраво виражена етнічна специфічність. Оскільки, різниця в дії ліків, зареєстрована в різних етнічних групах – широко відомий та мало вивчений факт, в останні роки з'явилось все більше причин для детального вивчення таких відмінностей [2].

Мета. Визначити частоту поширення мутантних варіантів гена CYP2C9*2 та CYP2C9*3 у популяції Подільського регіону України серед пацієнтів з ІХС та постійною формою ФП.

Матеріали та методи. У дослідження включено 100 пацієнтів віком від 39 до 88 років (в середньому 66,26±0,97, медіана віку – 67 років, інтерквартильний розмах – 60 і 72 роки).

Серед них 34 (34,0%) чоловіки і 66 (66,0%) жінок відповідно. Пацієнти були обстежені на базі комунального некомерційного підприємства «Вінницький регіональний клінічний лікувально-діагностичний центр серцево-судинної патології».

Критерії включення: верифікований діагноз ішемічної хвороби серця, наявність постійної форми фібриляції передсердь, серцева недостатність II А ступеню; інформована згода пацієнта на участь у дослідженні.

Критерії виключення: наявність серцевої недостатності I, II-Б, III стадії; механічних клапанів серця; вираженого або тяжкого мітрального стенозу; цукрового діабету на момент включення в дослідження; цирозу печінки; гепатитів; портальної гіпертензії; гіпопротеїнемії; тромбоцитопенії; порушення функції нирок (ШКФ < 15 ммоль/л; креатинін \geq 200 мкмоль/л); прийом антитромбоцитарних препаратів; наявність онкопатології; туберкульозу.

Генетичне дослідження було виконане в навчально-науковій клініко-діагностичній лабораторії полімеразно-ланцюгової реакції Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова. Свідоцтво про атестацію № 051/15 від 02.03.2015 р. дійсне до 01.03.2020 р. Ідентифікація поліморфних алелей Arg144Cys гена CYP2C9*2 та Ile359Leu гена CYP2C9*3 проводилась методом ПЛР. Геномна ДНК екстрагувалась із мононуклеарів периферичної крові з використанням набору для виділення ДНК Gene Jet Whole Blood Genomic DNA Purification Mini Kit (Thermo Scientific, США) згідно інструкції виробника. Для ідентифікації поліморфних алелей Arg144Cys гена CYP2C9*2 та Ile359Leu гена CYP2C9*3 використовували ампліфікацію відповідної ділянки гену методом алель-специфічної ПЛР (паралельно проводили дві реакції ампліфікації – з двома парами алель-специфічних праймерів для кожного гену) в режимі реального часу з використанням комплексу реагентів за методикою SNP-експрес-РВ (Літех, РФ). Ампліфікацію проводили на приладі «iCycler IQ5 (BioRad, США). Режим ампліфікації: 93 °C, 1 хв; 35 циклів: 93°C, 10 с.; 64°C, 10 с., 72°C, 20 с.

Статистичну обробку результатів дослідження виконували за допомогою пакета програм «Statistica» 12.0 StatSoft (за рекомендаціями Ребрової О.Ю., 2006 р.) [5] за загально-прийнятою методикою. Оцінку відповідності розподілу генотипів очікуваним значенням [6] за рівновагою Харді – Вайнберга. Міжгрупову достовірність різниці кількісних величин розрахована за T-test for independent samples by groups і % - за критерієм χ^2 .

Для порівняння ролі генетичного поліморфізму та лікарської взаємодії варфарину з дигоксином, яка відбувається на рівні глікопротеїну Р, хворих поділено на 2 групи: I - де для контролю ЧСС був потрібен дигоксин, II - без дигоксину.

Результати. Нами визначались наступні варіанти поліморфізму:

C/C – нормальний варіант («дикий», не змінений) в гомозиготній формі.

C/T- гетерозиготна форма, де один з генів «дикий», інший змінений (мутантний варіант), у кожному конкретному випадку ймовірність повільного виведення ліків, які метаболізуються CYP2C9, становить 50 %, оскільки ми достойменно не знаємо з якого алелю гену зчиталась інформація.

T/T- мутантний варіант, гомозиготна форма, пацієнтів з даним поліморфізмом прийнято вважати «повільними метаболізаторами», що асоціюється з підвищеним ризиком кровоточивості, та необхідності прийому значно менших доз ліків, що метаболізуються даним цитохромом.

Таблиця 1. Результат співвідношення виявлених генів, n=100, у %

Поліморфізм генів	Гомозигота за диким алелем (C/C)	Гетерозиготи (C/T)	Гомозиготи за мутантним алелем (T/T)
CYP2C9*2 (Arg 144 Cys)	79%	11%	10 %
CYP2C9*3 (Ile 359 Leu)	90 %	9 %	1%

Таким чином, у популяції Подільського регіону України переважали пацієнти без мутації (C/C), знайдені й генетичні мутації при поліморізмі генів CYP2C9, потенційний ризик підвищеної кровоточивості спостерігається у 31% обстежених (наявність хоча б одного мутантного алелю). Підтверджені ризики небажаних лікарських реакцій, через сповільнення виведення лікарських засобів, спостерігалось у 11% пацієнтів (так як вони є гомозиготами за мутантним алелем будь-якої з видів мутації)

Таблиця 2. Частота генотипу. Рівновага за Харді - Вайнбергом

Генотипи	Випадки (n= 100)	Частота генотипу	Рівновага за Харді – Вайнбергом	P
CYP2C9*2				
C/C	79	0.79	79/0,845	0,05
C/T	11	0.11	11/0,262	
T/T	10	0.10	10/0,155	
CYP2C9*3				
C/C	90	0,9	91/ 0,893	0,05
C/T	9	0,09	9/ 0,1039	
T/T	1	0,01	1/ 0.0001	

Отже, розподіл частот генотипів поліморфних варіантів CYP2C9 відповідав рівновазі Харді – Вайнберга, що підтверджує репрезентативний відбір вибірки та правильне генотипування.

Таблиця 3. Генетична характеристика груп відповідно до варіанту терапії

Генетична характеристика груп	Варфарин (n=50)	Варфарин + Дигоксин (n=50)	p
Без мутації генів	38 (76,0%)	32 (64,0%)	0,19
З мутаціями	12 (24,0%)	18 (36,0%)	0,19
Гетерозиготи (C/T) обох видів мутації	9 (18,0%)	11 (22,0%)	0,62
Гомозиготи обох видів (мутації T/T)	3 (6,0%)	8 (16,0%)	0,11
Гомозиготи за диким алелем (C/C) CYP2C9*2	43 (86,0%)	35 (70,0%)	0,05
Гетерозиготи (C/T) CYP2C9*2	3 (6,0%)	8 (16,0%)	0,11
Гомозиготи за мутантним алелем (T/T) CYP2C9*2	3 (6,0%)	7 (14,0%)	0,18
Гомозиготи за диким алелем (C/C) CYP2C9*3	45 (90,0%)	47 (94,0%)	0,46
Гетерозиготи (C/T) CYP2C9*3	6 (12,0%)	3 (6,0%)	0,29
Гомозиготи за мутантним алелем (T/T) CYP2C9*3	0 (0)	1 (2,0%)	0,31

Проведений аналіз свідчить, що групи спостереження відрізняються достовірно лише за одним показником (гомозиготи за диким алелем), за іншими ж критеріями групи однорідні.

Висновки. 1. Результати дослідження свідчать, що у хворих на ІХС та ФП, існує поліморфізм CYP2C9, який віддзеркалює генетичний статус в Подільському регіоні.

2. Серед обстежених переважав нормальний розподіл генотипів (без наявної мутації) відповідно: CYP2C9*2 C/C- 79 %, CYP2C9*3 C/C- 90%.

3. Факторами ризику кровотеч на тлі призначення варфарину, можна вважати наявність генетичної мутації, що більш виражено у мутаціях за гомозиготним варіантом.

4. Індивідуальне генотипування рекомендовано включати в план обстеження хворих для передбачення ризиків щодо конкретного пацієнта.

ЛІТЕРАТУРА

- Owen Ryan P., Gong Li, Sagreiya Hersh, Klein Teri E., Altman Russ B. VKORC1 Pharmacogenomics Summary. Pharmacogenet Genomics. 2010; 20 (10): 642-44.
- Зотова І.В., Никитин А.Г., Фаттахова Э.Н., Бровкин А.Н., Ходырев Д.С., Лаврикова Е.Ю.,... Затеишиков Д.А. Влияние полиморфизма генов CYP2C9 и VKORC1 на безопасность терапии варфарином. Клиническая практика №4, 2013. С 3- 10
- Сычев Д.А., Игнатъев И.В., Стасяк Е.В., Бульбова Ю.М., Раменская Г.В., Кукес В.Г. Полиморфизм гена CYP2C9: клинико-фармакологические аспекты. Медицинская генетика. Т. 4. №3. 2005. с. 98- 102.
- Сычев Д.А., Кукес В.Г. (Ред.) Клиническая фармакогенетика. М.: ГЭОТАР- МЕД. 2007.
- Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica - М., Медисфера, 2006. - 312 с.
- Сиволоб А.В., Рушковський С.Р., Кир'яченко С.С. та ін., Сиволоб А.В. (Ред.) Генетика. К.: Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет", 2008. – 320 с. SBN 975-966-439-108-2