На правах рукописи

Поздняков Николай Олегович

КЛИНИКО-ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ГЕНОВ CYP2D6, ENOS И AGTR2 У ПАЦИЕНТОВ С РАЗЛИЧНЫМИ ФОРМАМИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Волгоград – 2016

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор **Хохлов Александр Леонидович**

Официальные оппоненты:

Журавлева Марина Владимировна, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО "Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова" Минздрава России

Кетова Галина Григорьевна, доктор медицинских наук, профессор, руководитель научно-образовательного центра «Клиническая фармакология» ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России

Ведущее учреждение: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России

Защита диссертации состоится «__» _____ 2016 г. в ___ часов на заседании Диссертационного Совета Д 208.008.02 при ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России по адресу: г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте (www.volgmed.ru) ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Автореферат разослан «___» _____ 2016г.

Ученый секретарь
Диссертационного Совета,
доктор биологических наук Любовь Ивановна Бугаева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Ишемическая болезнь сердца (ИБС) долгое время является одной из основных причин смертности населения во многих странах мира. Российская Федерация занимает лидирующее место в Европе по уровню смертности от сердечно-сосудистых заболеваний [Масленникова Г.Я., 2015]. По данным Росстата от 2014г. ИБС стала причиной смерти для более чем 500 тыс человек. Эксперты ВОЗ предполагают, что к 2020 г. смертность от ССЗ в мире достигнет 25 млн в год, на долю ИБС придется около 50%.

ИБС является хроническим заболеванием, имеющим многофакторную этиологию. Морфологическим субстратом ишемической болезни сердца в большинстве случаев является атеросклероз, в развитии которого большую роль играет эндотелий [Петров В.И., 2014; Кириченко Д.А., 2015]. Согласно современным представлениям в атерогенезе основополагающим этапом является эндотелиальная дисфункция [Куваев В.С., 2015]. В ее основе могут лежать структурные полиморфизмы генов, участвующие в регуляции тонуса сосудистой стенки. К ним можно отнести: ген эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) и ген рецептора ангиотензина II 2 типа (AGTR2).

Несмотря на значительное количество лекарств, безопасность и эффективность фармакотерапии ишемической болезни сердца до сих пор является актуальным и острым вопросом. С учетом того, что современные подходы к терапии ИБС преследуют две основные цели: устранение симптомов и предотвращение сердечно - сосудистых событий [ESC, 2013], то приходится назначать одновременно несколько лекарственных препаратов на длительный срок. Это, в свою очередь, требует значительного контроля безопасности и эффективности лечения. Помощь в решении этой задачи могут предоставить фармакоэпидемиологические исследования, которые являются одним из ключевых моментов в понимании проблем, связанных с успешным лечением пациентов с ИБС. В ходе нескольких проведенных

российских исследований был обнаружен ряд проблем, связанных с ведением пациентов с ИБС, в том числе: недостаточное назначение иАПФ, кардиоселективных бета-блокаторов, верошпирона, статинов, антиагрегантов; полипрагмазия; невыявление и отсутствие коррекции факторов риска [Переверзева К.Г., 2015]. В то же время в России существует недостаток фармакоэпидемиологических данных, отражающих реальную ситуацию с лечением ишемической болезни сердца и дающих возможность оценить соблюдение клинических рекомендаций врачами в повседневной практике.

ИБС часто входит в состав коморбидной патологии [Васильченко М.Г., 2015], особенно у пожилых людей, что сопровождается полипрагмазией [Кирщина И.А., 2015]. Одновременное назначение нескольких препаратов может влиять на эффективность терапии, а также непредсказуемо изменять результат фармакодинамического и фармакокинетического лекарственного взаимодействия. Также известно, что фармакологический ответ у пациентов с одной и той же болезнью, не будет одинаковым, а будет зависеть от генотипа каждого индивидуума. Кроме того, фармакологические исследования установили неоднородность человеческой популяции по способности метаболизировать лекарственные средства [Калугин А.А., 2015].

Так, изофермент CYP2D6, участвует в метаболизме около 20% известных лекарственных средств, в том числе липофильных бета-блокаторов – группы препаратов, широко применяемой для лечения ИБС. Изофермент CYP2D6 имеет несколько вариантов аллелей и является высоко полиморфным [Сычев Д.А., 2015]. Носительство дефектных аллелей может приводить к изменению концентрации препарата в крови и изменять выраженность фармакодинамического эффекта.

Степень разработанности проблемы

За последние годы были проведены исследования, доказавшие, что экспрессия полиморфных вариантов гена eNOS может приводить к развитию атеросклероза [Georgescu A. et al., 2015], являющимся основной причиной

развития ИБС. Также была выявлена ассоциация минорных аллей гена eNOS с инфарктом миокарда и артериальной гипертензией [Мулерова Т.А., 2015].

Изучение гена AGTR2 выявило связь различных полиморфных вариантов гена с гипертонической болезнью [Li, J., et al., 2015], с гипертрофией левого желудочка и ранней ИБС.

Изучение особенностей влияния полиморфизмов гена CYP2D6 на метаболизм метопролола началось около 20 лет назад. Полученные в ходе исследований данные, позволили разделять людей по скорости метаболизма метопролола на «нормальных метаболизаторов», имеющих нормальный ген фермента метаболизма, «медленных» - имеющих мутацию, приводящую к снижению или отсутствию ферментативной активности, «сверхактивных» - имеющих мутацию, приводящую к синтезу фермента с высокой метаболизирующей активностью [Сычев Д.А., 2016]. С клинической точки зрения, наличие тех или иных аллельных вариантов будет влиять на переносимость и эффективность лечения метопрололом [Гурова Я.В., 2015; Кучина, Е.С., 2015].

Таким образом, проведение анализа фармакотерапии у лиц с различными формами ИБС и изучение у данной когорты пациентов полиморфизмов генов эндотелиальной NO-синтазы, рецептора ангиотензина II 2, а также CYP2D6, является актуальным.

Цель исследования

Разработать подходы к оптимизации фармакотерапии больных с ишемической болезнью сердца с учетом встречаемости полиморфизмов генов eNOS, AGTR2, CYP2D6.

Задачи исследования

1. Изучить соответствие клиническим рекомендациям фармакотерапии разных форм ишемической болезни сердца: стабильная и нестабильная формы стенокардии, острый инфаркт миокарда.

2. Оценить достаточность назначенных доз бета-блокаторов пациентам с различными формами ИБС: стабильная и нестабильная формы стенокардии, острый инфаркт.

3. Провести исследование эффективности и безопасности терапии пациентов с ИБС липофильным бета-блокатором метопрололом с учетом наличия «медленных» аллелей CYP2D6.

4. Исследовать распространенность аллельных вариантов генов eNOS и AGTR2 у пациентов с разными формами ИБС и без данной патологии.

5. Определить клинико-генетические ассоциации между течением ИБС и наличием аллельных вариантов генов eNOS и AGTR2.

6. Проанализировать особенности терапии ингибиторами АПФ у пациентов с ИБС на фоне артериальной гипертензии в зависимости от аллельных вариантов генов eNOS и AGTR2.

Научная новизна

Впервые определена клиническая значимость частоты встречаемости полиморфизмов генов eNOS и AGTR2 в их влиянии на возраст дебюта ИБС. Впервые изучено влияние аллельных вариантов генов eNOS и AGTR2 на особенности фармакотерапии ИБС ингибиторами АПФ.

Впервые установлено клиническое значение определения полиморфизмов гена CYP2D6*4 и CYP2D6*10 у пациентов с ИБС, принимающих метопролол.

Научно-практическая значимость работы

Выявлены недостатки в лечении ИБС на госпитальном и амбулаторном этапах. Исследована частота встречаемости полиморфных вариантов генов eNOS и AGTR2 у пациентов со стабильной и нестабильной формами стенокардии, инфарктом миокарда. Обнаружена связь аллельных вариантов гена eNOS с возрастом дебюта ИБС. Проанализирована особенность фармакотерапии пациентов с ИБС в зависимости от аллельных вариантов генов AGTR2 и CYP2D6.

Полученные в ходе научной работы результаты включены в материалы лекций и практических занятий для студентов на кафедре клинической фармакологии с курсом ИПДО ГБОУ ВПО ЯГМУ Минздрава России для студентов 5 курса лечебного факультета.

Методология работы

В исследовании использовался генетический анализ, проводимый методом полимеразной цепной реакции на анализаторе нуклеиновых кислот BioRad iQ5. В качестве объектов исследования выступали пациенты с различными формами ИБС. Оценку влияния аллельных вариантов генов AGTR2 и CYP2D6 на эффективность терапии определяли по динамике артериального давления и ЧСС соответственно.

Положения, выносимые на защиту:

1. В исследуемой популяции пациентов Ярославской области с различными формами ИБС наибольшее клиническое значение в структуре полиморфизмов гена CYP2D6 имеют гетерозиготные варианты (частота встречаемости 32,7% для CYP2D6*4 и CYP2D6*10), что необходимо учитывать для персонализированного назначения эффективных и безопасных доз метопролола.
2. При наличии гомозиготного варианта AA гена AGTR2 для достаточного гипотензивного эффекта у больных с ишемической болезнью сердца на фоне артериальной гипертензии, требуются более высокие дозировки периндоприла, чем при носительстве варианта GG.
3. Существует разница между частотой распределения полиморфных вариантов гена AGTR2 у пациентов с ИБС и у лиц без данной патологии, а носительство полиморфного варианта TT гена eNOS связано с более ранним дебютом ИБС, чем наличие GG и GT вариантов.

Степень достоверности и апробация результатов

В работе использовалось современное, высокотехнологичное оборудование и современные методы исследования, с помощью которых был

получен значительный объём экспериментальных данных, проанализированный общепринятыми методами и критериями статистической обработки данных, что позволяет судить о степени достоверности результатов исследования.

Полученные в ходе научной работы результаты были доложены на Международной Балтийской школе по клинической фармакологии и лекарственному обеспечению (Калининград, 05.08.2013), на XII конгрессе «Европейской ассоциации клинических фармакологов и терапевтов (EACPT)» в Мадриде, Испания (28.06.2015), на 70-ой Юбилейной Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием "Актуальные вопросы медицинской науки" (Ярославль, 2016).

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 180 страницах и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, характеристику клинических наблюдений и методов исследования, 4 главы с изложением результатов собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации, список литературы, включающий 162 отечественных и 131 зарубежных научных работ; иллюстрирована 51 таблицами и 10 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В первой главе представлен обзор литературы, отражающий основные подходы к лечению различных форм ИБС, а также значение генетических исследований в лечении и особенностях течения ИБС.

Вторая глава диссертации посвящена описанию материалов и методов исследования. Основу работы составили клинические наблюдения и специально проведенные исследования у 187 больных с ИБС: стабильная и нестабильная форма стенокардии, инфаркт миокарда, а так же 45 пациентов без ИБС. В работе приняли участие 232 человека, среди которых мужчин

было 133 (57,3%), женщин - 99 (42,7%). Средний возраст составил 61,7±0,7 лет.

Работа выполнена в дизайне ретроспективного аналитического (амбулаторный этап за предшествующие 3 года) и проспективного аналитического (госпитальный этап) исследования. В соответствии с поставленными задачами все больные были разделены на 4 группы: 1 группу составили 98 больных с инфарктом миокарда, 2 группу – 46 пациентов с нестабильной стенокардией, 3 группу – 43 человека со стабильной формой стенокардии, 4 группу – 45 пациентов без ИСБ, которые составили группу сравнения. В исследование не включались пациенты: не подписавшие согласие на участие в исследование; имеющие сахарный диабет; постоянные формы нарушения ритма сердца; заболевания щитовидной железы; онкологические заболевания; психические заболевания; пороки сердца.

На первом этапе исследования у всех включенных пациентов анализировалась фармакотерапия за 3 года, предшествующих госпитализации.

На втором этапе исследования у изучаемых групп пациентов проводился генетический анализ генов eNOS, AGTR2, CYP2D6. После получения результатов исследовалась распространенность различных аллельных вариантов данных генов, а также связь полиморфизмов генов eNOS и AGTR2 с возрастом дебюта ИБС. Отдельно из всех исследуемых групп пациентов была выделена подгруппа лиц, имеющих артериальную гипертензию, у которой также изучалась распространенность генов eNOS и AGTR2.

На третьем этапе исследования были выделены группы пациентов, получающих метопролол. У данных пациентов оценивались дозировки метопролола, динамика ЧСС на фоне приема метопролола с первого дня госпитализации до дня выписки из стационара в зависимости от варианта гена CYP2D6; проводилась оценка частоты развития нежелательных реакций

в зависимости от генотипа. Также была выделена группа пациентов, получающих периндоприл, у которой на протяжении госпитализации оценивали динамику артериального давления в зависимости от дозировки препарата и аллельного варианта генов eNOS и AGTR2.

Возрастно-половая характеристика больных представлена в табл. 1, а структура патологии – в табл. 2.

Таблица 1

Возрастно-половая характеристика больных

Параметры	Общая группа, n=232	Группа с ИМ, n=98	Группа с НС, n=46	Группа со стабильной стенокардией, n=43	Группа сравнения, n=45
Возраст (лет)	61,7±0,7	60,6±1,1	59,1±1,5	69,1±1,3	60,3±1,3
Средний возраст женщин	66,4±0,9	66,9±1,2	61,6±1,1	69,2±1,2	65,6±1,1
Число, % женщин в группе	99 (42,7%)	29 (29,4%)	18 (39,1%)	32 (74,4%)	20 (44,4%)
Средний возраст мужчин	58,4±0,9	57,9±1,2	57,5±2,1	69,1±1,9	55,9±1,0
Число, % мужчин в группе	133 (57,3%)	69 (69,6%)	28 (60,1%)	11 (25,6%)	25 (55,6%)

Таблица 2

Структура сопутствующей патологии у исследуемых групп больных

Сопутствующая патология	Группа с ИМ, n=98	Группа с НС, n=46	Группа со стабильной стенокардией, n=43	Группа сравнения, n=45
ХСН	39 (39,8%)	34 (73,9%)	34 (79,1%)	0 (0%)
ГБ	88 (89,8%)	41 (89,1%)	43 (100%)	31 (68,9%)
ДЭП	1 (1,0%)	1 (2,2%)	10 (23,3%)	7 (15,6%)
ОНМК	6 (6,1%)	1 (2,2%)	6 (13,9%)	0 (0%)

В ходе исследования проводилось анкетирование пациентов с использованием специальных анкет (опросников), которые заполнялись автором при личной беседе с опрашиваемыми (респондентами). В анкете указывались паспортные данные (инициалы, возраст, номер истории болезни), диагноз (основной, сопутствующий, осложнения основного), длительность ИБС, дебют ИБС и АГ, оценивался клинический статус и проводимая фармакотерапия (препараты, дозы, кратность, длительность, путь введения) в настоящий момент и в предшествующие 3 года, а также забирался образец крови для генетического тестирования.

Исследование полиморфизмов генов проводилось на клинической базе кафедры клинической фармакологии с курсом ИПДО НУЗ «Дорожная клиническая больница на станции Ярославль ОАО «РЖД» в лаборатории

клинической фармакогенетики[1] на анализаторе нуклеиновых кислот BioRad iQ5. В ходе работы были использованы реагенты компании Синтол для определения генетических полиморфизмов методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в препаратах ДНК человека, полученных из периферической крови. В результате в сыворотке крови были определены гены, кодирующие элементы ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (AGTR2); ген, определяющие структуру эндотелиальной NO-синтазы (eNOS); гены, кодирующие подсемейство изофермента цитохрома Р-450 CYP2D6.

Подобные исследования выполнены у 187 больных с ИБС: стабильная и нестабильная формы стенокардии, ИМ, и у 45 пациентов без данной патологии. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакетов программ Microsoft Excel и STATISTICA 10. Для оценки количественных признаков с нормальным распределением использовался t-критерий Стьюдента, для оценки признака, не относящегося к нормальному, использовался тест Манна-Уитни. Различия считали достоверными при $p<0,05$ (p - достигнутый уровень значимости). При анализе значений 3 групп использовали критерий Краскела-Уоллиса. Для выявления зависимости одного признака от других использовали регрессионный анализ; связь признаков вычисляли корреляционным анализом по Спирмену.

В третьей главе представлены результаты анализа назначений лекарственных препаратов. На госпитальном этапе выявлен высокий процент назначения классов препаратов, положительно влияющих на прогноз у пациентов с острыми формами ИБС: бета-блокаторы – 100%, статины – 100%, дезагреганты – 100%, иАПФ/сартаны – 95,6%. Однако у пациентов со стабильной стенокардией на фоне АГ частота назначения этих препаратов была ниже: бета-адреноблокаторы – 48,8%, статины - 51,2%, дезагреганты – 30,2%, иАПФ/сартаны – 69,8%. Следует отметить, что средняя (ЧСС) на фоне терапии бета-адреноблокаторами не достигает целевых значений: при

[1] Выражаем глубокую признательность врачу лабораторной диагностики НУЗ «Дорожная клиническая больница на станции Ярославль ОАО «РЖД» И.Н.Царевой за проведение генетического тестирования

стабильной стенокардии средняя ЧСС - 66,8±1,1 в мин, нестабильной стенокардии - 67,4±0,8 в мин, при инфаркте миокарда - 66,7±0,6 в мин.

Проведенный анализ фармакотерапии на догоспитальном этапе выявил недостаточность приема лекарств, влияющих на прогноз: бета-блокаторов, статинов, дезагрегантов, иАПФ/сартанов, пациентами со стабильными формами ИБС (рис. 1). Кроме того, ЧСС на фоне терапии бета-адреноблокаторами у пациентов со стабильной стенокардией составила 66,8±1,1 в мин, что выше рекомендованных целевых показателей.

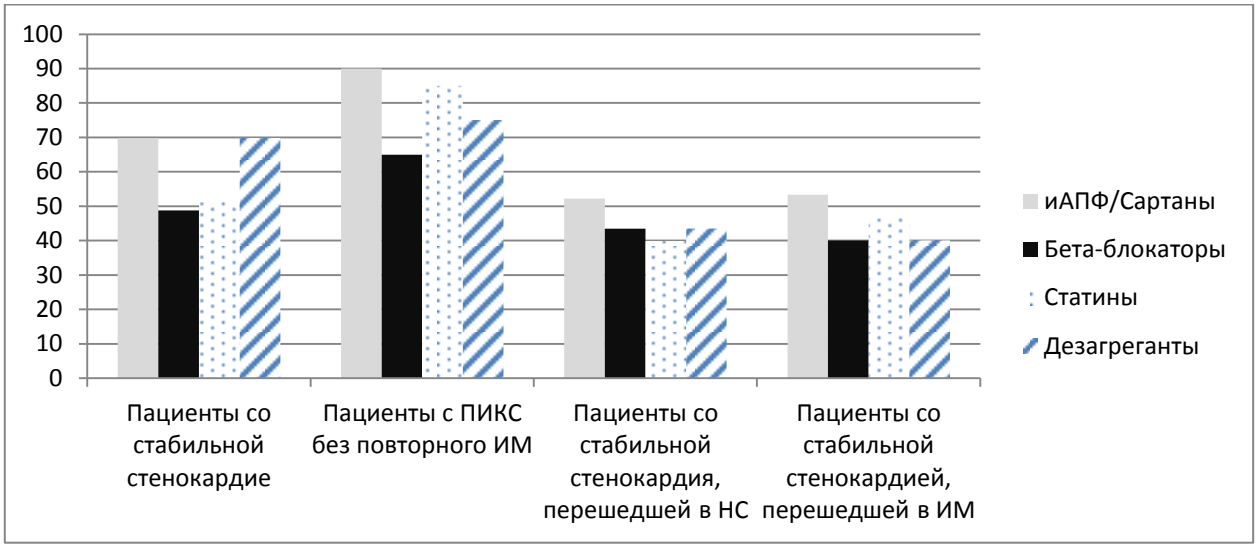

Рисунок 1. Структура назначения основных групп лекарственных препаратов на догоспитальном этапе у пациентов с хроническими и острыми формами ИСБ

В четвертой главе изложены результаты изучения распространенности различных аллельных вариантов генов eNOS и AGTR2. Выявлено, что частота встречаемости нормального варианта GG гена eNOS при сопоставлении со всеми группами, была выше в группе сравнения, с другой стороны, распространенность полиморфного варианта TT была сопоставима во всех группах пациентов с различными формами ИБС и группы сравнения, и не превышала 4,7% (рис. 2).

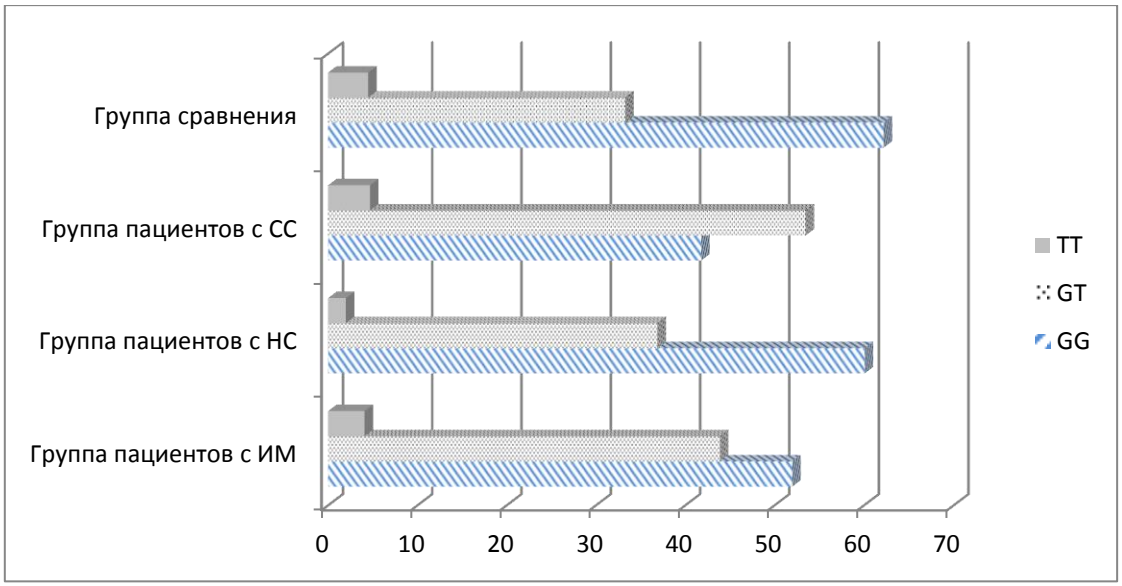

Рисунок 2. Распространённость аллельных вариантов гена eNOS

Примечание: p>0,05. Статистическая обработка проведена методом x^2

Распространенность аллельного варианта GG гена AGTR2 в группе сравнения превышала 50%, тогда как во всех группах пациентов с разными формами ИБС этот показатель не поднимался выше 36,7% (рис. 3).

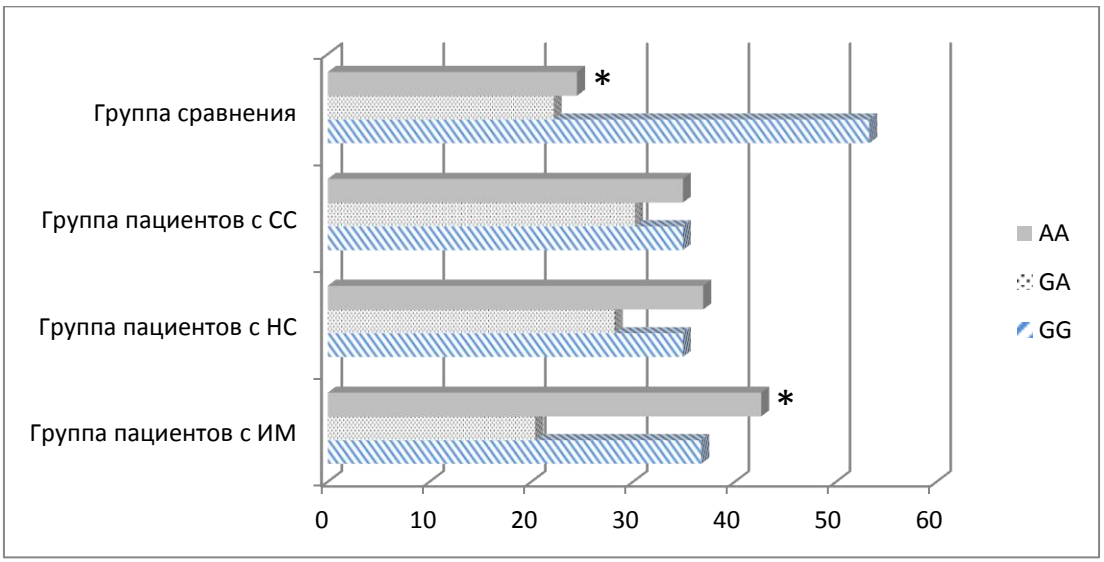

Рисунок 3. Распространённость аллельных вариантов гена AGTR2

Примечание: -*p<0,05. Статистическая обработка проведена методом x^2

При анализе частоты встречаемости полиморфного варианта AA удалось обнаружить статистическую разницу между группой пациентов с инфарктом миокарда и группой сравнения (42,6% и 24,5% соответственно, $p<0,05$).

При сравнении общей группы пациентов с ИБС и группы сравнения частота встречаемости аллельного варианта GG достоверно отличалась от группы сравнения (36,4% и 53,3% соответственно, $p<0,05$). С другой стороны, полиморфный вариант AA гена AGTR2 в группе сравнения встречался реже при сопоставлении со всеми другими группами, в которые были включены пациенты с разными формами ИБС.

Проведенный регрессионный анализ не выявил совместного влияния полиморфных вариантов генов eNOS и AGTR2 на форму дебюта ишемической болезни сердца и на развитие повторного инфаркта миокарда (табл. 3 и 4).

Таблица 3

Зависимость дебюта ишемической болезни сердца в форме инфаркта миокарда от наличия полиморфных аллелей генов eNOS и AGTR2

	b	p
eNOS	-0,077	0,19
AGTR2	0,027	0,49

Примечание: статистическая обработка проведена методом регрессионного анализа

Таблица 4

Зависимость риска развития повторного инфаркта миокарда в зависимости от наличия полиморфных аллелей генов eNOS и AGTR2

	b	p
eNOS	0,027	0,63
AGTR2	-0,003	0,94

Примечание: статистическая обработка проведена методом регрессионного анализа

В исследуемых группах пациентов была выделена подгруппа лиц с артериальной гипертензией для изучения распространенности полиморфных вариантов генов eNOS и AGTR2 (рис. 4 и 5).

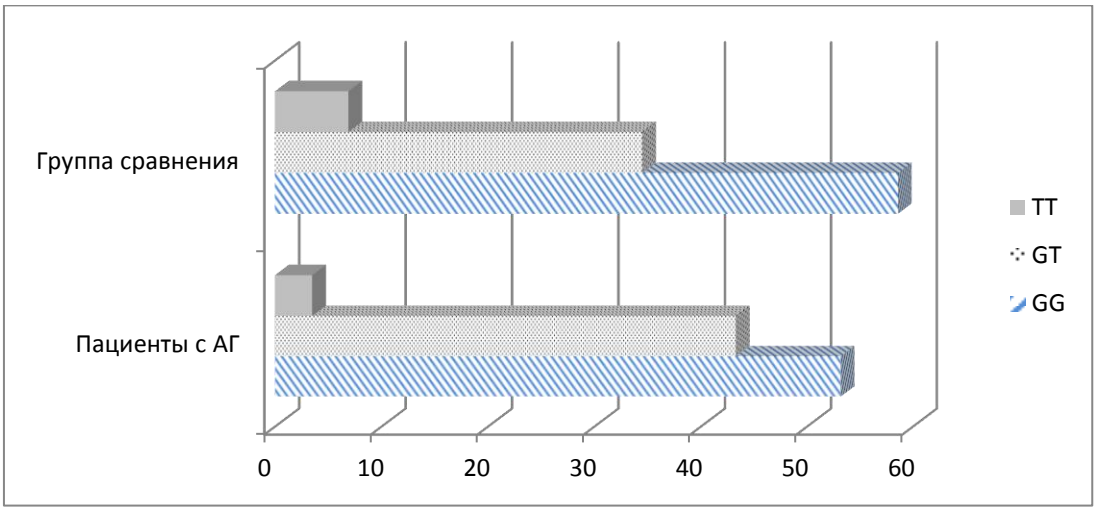

Рисунок 4. Распространённость аллельных вариантов гена eNOS у пациентов с артериальной гипертензией

Примечание: $p>0,05$. Статистическая обработка проведена методом x^2

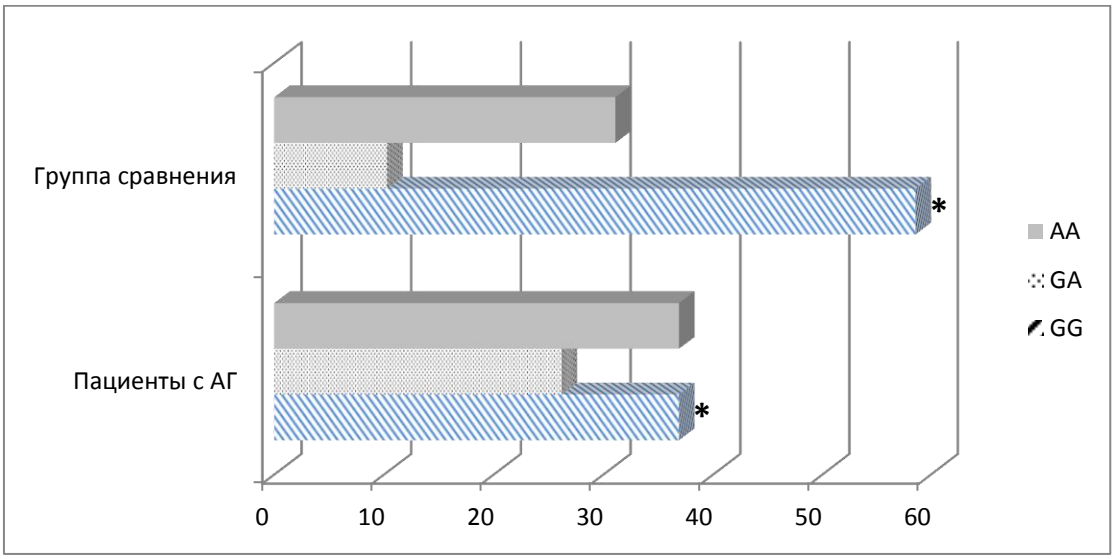

Рисунок 5. Распространённость аллельных вариантов гена AGTR2 у пациентов с артериальной гипертензией

Примечание: -*$p<0,05$. Статистическая обработка проведена методом x^2

Ген eNOS в обеих группах пациентов в большей степени представлен нормальным гомозиготным вариантом. Однако частота гетерозигот и полиморфных гомозигот в группе пациентов с АГ выше, чем у пациентов без АГ. Ген AGTR2 у пациентов с АГ одинаково представлен нормальным гомозиготным и полиморфным гомозиготным вариантами (36,9%, соответственно). Однако у пациентов без АГ частота встречаемости нормального гомозиготного варианта составляет более 50% и статистически больше частоты встречаемости у пациентов с АГ. Гетерозиготный вариант имеет большую частоту распространения в группе пациентов с АГ, чем у пациентов без данной патологии (26,2% и 10,3%, соответственно). Встречаемость гомозиготного полиморфного варианта у пациентов без АГ составляет 31,1%, что представляет собой меньший результат, в отличие от группы пациентов с АГ.

По результатам проведенного анализа наличия полиморфного варианта гена AGTR2 и возраста начала ИБС выявлено, что носители полиморфного гетерозиготного варианта GA имеют самый поздний дебют ишемической болезни сердца (59,2±0,8 года), в отличие от гомозиготных носителей GG и AA (54,7±0,7 и 54,6±0,7 лет, соответственно). В ходе изучения ассоциации аллельных вариантов гена eNOS и возраста начала ИБС обнаружено, что в группе пациентов с ИБС с полиморфным вариантом TT возраст дебюта ИБС самый ранний (47,0±0,8 лет) и он достоверно отличается от возраста начала заболевания у групп пациентов с аллельными вариантами GG и GT (56,4±0,7 и 55,8±0,7, соответственно) (табл. 5).

Таблица 5

Возраст дебюта ИБС: стабильная и нестабильная стенокардии, инфаркт миокарда в зависимости от полиморфизмов гена eNOS

Полиморфный вариант гена eNOS	Средний возраст включения пациента в исследование, лет	Возраст дебюта ИБС, лет
GG	62,3±10,9	56,4±0,7
GT	62,3±10,8	55,8±0,7
TT	59,4±10,8	47,0±0,8*

Примечание: - *p<0,05. Статистическая обработка проведена тестом Манна-Уитни

Регрессионный анализ также выявил, что наличие полиморфного аллеля Т связано с более ранним развитием ишемической болезни сердца (табл. 6).

Таблица 6

Зависимость возраста дебюта ИБС от наличия полиморфного аллеля Т гена eNOS

	Регрессионный коэффициент b	p
Возраст дебюта ИБС/Наличие полиморфного аллеля Т	-2,54	0,02

Примечание: статистическая обработка проведена методом регрессионного анализа

В пятой главе представлены результаты изучения влияния аллельных вариантов CYP2D6 на эффективность терапии метопрололом и анализ межлекарственных взаимодействий. Обнаружено, что у носителей «медленных» аллельных вариантов гена CYP2D6*10, CYP2D6*4, в отличие

от носителей нормальных аллелей, при приеме сопоставимых доз метопролола, выявляется большее снижении ЧЧС: в 1,6 раза для CYP2D6*10, в 1,7 раза для CYP2D6*4 (табл. 7).

Таблица 7

Разница ЧСС до назначения метопролола и после его назначения CYP2D6*10, CYP2D6*4

Ген	Аллели	Разница ЧСС, n=113	ЧСС до приема метопролола
CYP2D6*10	Норма гомозигота (CC)	10,7±0,5*	76,0±1,9
	Гетерозигота (CT)	16,8±0,7*	78,1±0,9
CYP2D6*4	Норма гомозигота (GG)	10,6±0,5**	76,1±1,5
	Гетерозигота (GA)	17,9±0,7**	78,4±0,9

Примечание: - *, ** $p<0,05$. Статистическая обработка проведена t-критерием Стьюдента

Расчет снижения ЧСС на единицу метопролола продемонстрировал, что у носителей «медленных» аллелей единица метопролола снижает ЧСС достоверно больше в 2,2 раза при CYP2D6*10 и в 2,0 раза при CYP2D6*4, чем у носителей нормальных аллельных вариантов (табл. 8).

Таблица 8

Снижение ЧСС на единицу метопролола

Ген	Аллельный вариант	Разница ЧСС/дозировка метопролола
CYP2D6*10	CC	0,24±0,02*
	CT	0,52±0,04*
CYP2D6*4	GG	0,26±0,02**
	GA	0,53±0,05**

Примечание: *, ** p<0,05. Статистическая обработка проведена t-критерием Стьюдента

Выявлено 144 межлекарственных взаимодействия, из которых 8 значимых с амиодароном – повышение риска развития брадикардии и остановки сердца; 1 значимое с нифедипином - снижение ЧСС и проводимости; 14 значимых с фуросемидом – повышение риска гипергликемии и триглицеридемии; 4 значимых с дигоксином - повышение риска развития брадикардии; 8 значимых с гипотиазидом - повышение риска гипергликемии и триглицеридемии; 9 значимых с индапамидом - повышение риска гипергликемии и триглицеридемии; 16 значимых со спиронолактоном - повышение риска гипергликемии и триглицеридемии; 10 значимых с амлодипином - снижение ЧСС и проводимости; 74 малозначимых с аспирином - снижение гипотензивного эффекта.

В шестой главе представлены результаты исследования связи различных аллельных вариантов генов eNOS и AGTR2 с показателями ЭХО-КС и эффективностью терапии иАПФ.

Анализ влияния аллельных вариантов генов eNOS и AGTR2 на показатели ЭХО-КС: КДР ЛЖ, ЗСЛЖ, МЖП, ФВ не выявил различий между пациентами с различными аллельными вариантами (табл. 9 и 10).

Таблица 9

Показатели ЭХО-КС у пациентов с разными аллельными вариантами гена AGTR2

Ген	Аллели	ЭХО-КС КДР ЛЖ	ЭХО-КС МЖП, n=65	ЭХО-КС ЗСЛЖ, n=65	ЭХО-КС ФВ (по Тейхольцу), n=65
AGTR2 rs1403543	Норма гомозигота (GG)	52,7 ±0,8	11,4±0,3	10,3±0,2	54,3±0,9
	Гетерозигота (GA)	52,9±0,8	11,8±0,3	10,2±0,3	52,0±1,3
	Мутация гомозигота (AA)	52,6±0,7	11,1±0,3	10,2±0,2	55,9±11,4

Примечание: p>0,05. Статистическая обработка проведена критерием Краскела-Уоллиса

Таблица 10

Показатели ЭХО-КС у пациентов с разными аллельными вариантами гена eNOS

Ген	Аллели	ЭХО-КС КДР ЛЖ, n=65	ЭХО-КС МЖП, n=65	ЭХО-КС ЗСЛЖ, n=65	ЭХО-КС ФВ (по Тейхольцу), n=65
eNOS rs1799983 G894T	Норма гомозигота (GG)	51,8±0,7	11,5±0,3	10,2±0,2	52,5±1,3
	Гетерозигота (GT)	53,8±0,7	11,5±0,3	10,4±0,3	55,3±8,1
	Мутация гомозигота (TT)	-	-	-	-

Примечание: p>0,05. Статистическая обработка проведена критерием Краскела-Уоллиса

Изучение влияния полиморфизмов гена AGTR2 у пациентов с ИБС на дозировку иАПФ периндоприла, позволило обнаружить, что в зависимости от аллельного варианта гена AGTR2 средние дозировки периндоприла для достижения целевых цифр АД, при исходно сопоставимых цифрах, составили: норма гомозигота (GG) - 4,6±0,3 мг, гетерозигота (GA) - 5,2±0,3 мг, мутация гомозигота (AA) - 6,2±0,3 мг (при сравнении GG и AA, $p<0,05$).

Заключение

Таким образом, в результате исследования удалось выявить высокий уровень назначения основных групп препаратов у пациентов с инфарктом миокарда и нестабильной стенокардией на госпитальном этапе и недостаточность терапии пациентов со стабильной стенокардией.

В ходе нашей работы удалось обнаружить, что генотип GG гена AGTR2 встречается в 1,5 раза реже у пациентов с ИБС, чем у лиц без данной патологии, а аллельный вариант AA в 1,7 раза чаще встречается у пациентов с инфарктом миокарда, чем у лиц без ИБС. Кроме того, при наличии аллельного варианта AA дозировки периндоприла, необходимые для достижения гипотензивного эффекта препарата, будут выше, чем у гомозигот GG.

В результате изучения полиморфизмов гена eNOS удалось обнаружить, что у носителей генотипа TT дебют ИБС происходит чаще, чем у гетерозигот и гомозигот GG.

По данным проведенного анализа терапии метопрололом пациентов с ИБС обнаружено 144 межлекарственных взаимодействия с данным препаратом, а также выявлено, что у носителей «медленных» аллельных вариантов гена CYP2D6*10, CYP2D6*4, в отличие от носителей нормальных аллелей, при приеме сопоставимых доз метопролола, выявляется большее снижение ЧЧС: в 1,6 раза для CYP2D6*10, в 1,7 раза для CYP2D6*4.

ВЫВОДЫ

1. Фармакотерапия различных форм ишемической болезни сердца: стабильной и нестабильной стенокардии, острого инфаркта миокарда в целом соответствуют клиническим рекомендациям. Однако при стабильной стенокардии недостаточно часто используются следующие группы препаратов: бета-адреноблокаторы – 48,8%, статины - 51,2%, дезагреганты – 30,2%, иАПФ/сартаны – 69,8%.
2. В лечении больных с различными формами ИБС практикуется оправданная вопросами безопасности тактика осторожного назначения бета-адреноблокаторов. Обнаружено 144 межлекарственных взаимодействия, из них - 70 значимых (23 – повышение риска брадикардии). В результате средняя частота сердечных сокращений (ЧСС) на фоне терапии бета-адреноблокаторами не достигает целевых значений: при стабильной стенокардии средняя ЧСС- 66,8±1,1 в мин, нестабильной стенокардии - 67,4±0,8 в мин, при инфаркте миокарда - 66,7±0,6 в мин.
3. У носителей «медленных» аллельных вариантов гена CYP2D6*10, CYP2D6*4, в отличие от носителей нормальных аллелей, при приеме сопоставимых доз метопролола, выявляется большее снижение ЧЧС: в 1,6 раза для CYP2D6*10, в 1,7 раза для CYP2D6*4.
4. Частота обнаружения генотипа GG гена AGTR2 у пациентов, имеющих ИБС (средний возраст 62,2 ± 0,8 лет), в 1,5 меньше, чем у пациентов аналогичного возраста без ИБС (средний возраст 60,3±1,3 лет), а встречаемость генотипа AA гена AGTR2 у пациентов с инфарктом миокарда (средний возраст 60,6±1,1 лет) в - 1,7 раза больше, чем у больных аналогичного возраста без ИБС.
5. Более ранний дебют ИБС отмечается у носителей полиморфного варианта TT гена eNOS (на 9,4±0,3 года), чем у носителей аллельных вариантов GG и GT.

6. Дозировки периндоприла, необходимые для достаточного гипотензивного действия, у пациентов с гомозиготным аллельным вариантом GG гена AGTR2 ниже (4,6±0,3 мг), чем у гомозигот по полиморфному варианту AA (6,2±0,3 мг).

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Персонализированный подход к назначению метопролола при ИБС должен осуществляться с учетом результатов генетического тестирования гена CYP2D6. Наличие «медленных» аллельных вариантов GA и CT гена CYP2D6*4 и CYP2D6*10, соответственно, требует назначения меньших дозировок метопролола, чем для GG и CC носителей.
2. У пациентов с ИБС на фоне артериальной гипертензии при назначении периндоприла рекомендуется исследование аллельных вариантов гена AGTR2. В случае выявления гомозиготного варианта GG, средние дозировки периндоприла, необходимые для гипотензивного эффекта препарата, в 1,3 ниже, чем для гомозигот AA.
3. С целью прогнозирования раннего дебюта ИБС в возрасте от 35 до 55 лет (стабильная и нестабильная форма стенокардии, инфаркт миокарда) рекомендовано генетическое тестирование для выявления аллельного варианта TT гена eNOS (вероятность 71,4%).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК РФ:

1. Поздняков, Н.О. Полиморфизм гена eNOS: распространенность и связь с заболеваниями / Н.О. Поздняков, А.Л. Хохлов // Фарматека. – 2015. – №13. – С.21-24.
2. Хохлов, А. Л. Полиморфизм генов eNOS и AGTR2 как фактор риска развития ишемической болезни сердца / А. Л. Хохлов, Н. О. Поздняков, А. Е. Мирошников. // Проблемы стандартизации в здравоохранении. - 2015г. - № 9/10 - С.46-50.
3. Поздняков, Н.О. Значение комплексного подхода с использованием генетического полиморфизма и оценки лекарственного взаимодействия в течение ишемической болезни сердца / Н.О. Поздняков, А.А. Хохлов, А.Е. Мирошников, И.С. Могутова, Д.П. Комаров// Клиническая геронтология. – 2015. - №11-12. – С. 66-70.
4. Хохлов, А.Л. Особенности клинического значения полиморфных вариантов генов eNOS и AGTR2 у пациентов с ИБС / А.Л.Хохлов, Н.О.Поздняков, А.Е.Мирошников, И.Н.Царева, С.О.Поздняков // Архивъ внутренней медицины. – 2016. -№3(29). –С. 53-58.

Другие работы, опубликованные по теме диссертации:

5. Мирошников, А.Е. Генетические аспекты возможности прогнозирования затрат на медицинскую помощь у лиц с сердечно-сосудистыми заболеваниями / А.Е. Мирошников, Н.О. Поздняков, С.О. Поздняков, Е.Г. Лилеева // Universum: Медицина и фармакология: электрон. научн. журн. - 2016. - № 1-2 (24).
6. Поздняков, Н.О. К вопросу о клиническом значении полиморфизмов генов eNOS и AGTR2 у пациентов с инфарктом миокарда, стабильной и нестабильной формами стенокардии / Н.О. Поздняков, А.Е.

Мирошников, С.О. Поздняков // Universum: Медицина и фармакология: электрон. научн. журн. - 2016. - № 1-2 (24).

7. Поздняков, Н.О. Распространенность полиморфизмов генов, участвующих в регуляции тонуса сосудистой стенки у лиц пожилого возраста с инфарктом миокарда, стабильной и нестабильной формами стенокардии / Н.О. Поздняков, А.Е. Мирошников, С.О. Поздняков // Актуальные проблемы медицины в России и за рубежом. Выпуск III. Сборник научных трудов по итогам международной научно-практической конференции. - 2016. - С. 71-74.
8. Хохлов, А.Л. Ассоциация полиморфизмов генов eNOS и AGTR2 с дебютом ИБС: стабильной и нестабильной стенокардии, инфарктом миокарда /А.Л. Хохлов, Н.О. Поздняков, А.Е. Мирошников, Д.П. Комаров // Фармакогенетика и фармакогеномика. – 2015. - №2. – С.14-18.
9. Хохлов, А.Л. Клинико-генетические ассоциации при ИБС: значение полиморфизмов генов eNOS и AGTR2, межлекарственные взаимодействия / А.Л. Хохлов, Н.О. Поздняков, А.Е. Мирошников, А.А. Хохлов, И.Н. Царева // Лекарственный вестник. – 2016. - №2(62), том 10. – С.19-28.
10. Khokhlov A. The Prevalence of eNOS and AGTR2 Gene Polymorphism In Patient With Coronary Artery Disease / A. Khokhlov, A. Miroshnikov, N. Pozdnyakov, D. Komarov, I. Dryagencova // Clinical Therapeutics. – 2015. - Volume 37, Issue 8, Supplement. - p. e69.
11. Хохлов, А.Л. Значение фармакогенетических исследований при различных формах ишемической болезни сердца: Монография / Хохлов А.Л., Поздняков Н.О., Рыбачкова Ю.В. – Ярославль: Ремдер. – 2016. – 188 с.

Список использованных сокращений

АГ – артериальная гипертензия

ЗСЛЖ – задняя стенка левого желудочка

ИАПФ – ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИМ – инфаркт миокарда

КДО – конечный диастолический объем

ЛЖ – левый желудочек

МЖП – межжелудочковая перегородка

ПИКС – постинфарктный кардиосклероз

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

ФВ – фракция выброса

ФК – функциональный класс

ХСН – хроническая сердечная недостаточность

ЧСС – частота сердечных сокращений

ЭКГ – электрокардиография

ЭХО-КГ – эхокардиография

NO – оксид азота

AGTR2 - рецептор 2-го типа к ангиотензину II

eNOS – эндотелиальная синтаза оксида азота

Поздняков

Николай Олегович

КЛИНИКО-ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ГЕНОВ CYP2D6, ENOS И AGTR2 У ПАЦИЕНТОВ С РАЗЛИЧНЫМИ ФОРМАМИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук