УДК 616.127-004

С. Т. Данилкина, Г. И. Лифшиц, Е. Н. Воронина, М. Л. Филиппенко

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН
просп. Академика Лаврентьева, 8, Новосибирск, 630090, Россия

Центр новых медицинских технологий в Академгородке
ул. Пирогова, 25/4, Новосибирск, 630090, Россия
E-mail: svetlana_dan197@mail.ru

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ С ТЕЧЕНИЕМ БОЛЕЗНИ (КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ)

Достижения в молекулярной генетике в последние десятилетия открыли новые возможности для клинической медицины, в том числе для диагностики предрасположенности к развитию сердечно-сосудистых заболеваний. Установлена связь генетически обусловленных тромбофилий с рецидивирующими тромбозами сосудов, инфарктом миокарда, мозговым инсультом, репродуктивной патологией, аномалиями генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы с развитием прогрессирующей артериальной гипертензии [1]. Это позволяет, с одной стороны, разработать комплекс мер по профилактике заболеваний, коррекции дополнительных факторов риска, с другой – использовать своевременные медикаментозные стратегии [2]. В качестве иллюстрации приведем пример клинического наблюдения.

Больной С., 37 лет, программист. При поступлении в стационар предъявлял жалобы на боли в области сердца при физической нагрузке (ходьба 500 м, подъем на 3-й этаж), купирующиеся в покое, перебои в работе сердца, сердцебиение, повышение АД до 180 / 100 мм рт. ст. на фоне приема гипотензивных препаратов.

Из анамнеза жизни стало известно, что пациент курит в течение 18 лет до пачки сигарет в день, алкоголь употребляет редко, физическая активность низкая, соблюдает диету с ограничением поваренной соли.

Анализ анамнеза позволил установить, что наследственность отягощена по сердечно-сосудистой патологии: отец умер в 53 года от острого инфаркта миокарда.

Анамнез заболевания: артериальная гипертензия с 20 лет с максимальными подъемами до 200 / 100 мм рт. ст., длительно не лечился. В 2002 г. перенес острый Q-позитивный задненижний инфаркт миокарда, в последующем ангинозные приступы отмечались преимущественно в ночное время. В 2003 г. перенес мозговой инсульт с правосторонним гемипарезом. В марте 2006 г. выполнена чрескожная транслюминальная коронарная ангиопластика (ЧТКА) и стентирование устья правой коронарной (ПКА) и диагональной артерий (ДА) двумя стентами EUCATAX, после чего стенокардия не беспокоила. В ноябре 2006 г. вновь перенес повторный крупноочаговый острый инфаркт миокарда в рубцовой зоне с захватом боковой стенки.

В январе 2007 г. после коронарографии выявлена окклюзия стентированного сегмента ДА, окклюзия ветви тупого края (ВТК) от устья, субокклюзия ПКА дистальнее стентированного сегмента. Проведена повторная чрескожная транслюминальная коронарная ангиопластика ДА, ПКА с имплантацией стента ZETA. В марте 2007 г. перенес острый повторный (третий) инфаркт миокарда задненижней локализации. В июле 2007 г. проведена контрольная коронарография, где определилась окклюзия ДА и ПКА в стентах, окклюзия ВТК от устья. Предложена ЧТКА ПКА и ДА стентами с лекарственным покрытием, от чего пациент воздерживался.

В течение последнего года регулярно принимал кардиомагнил (ацетилсалициловая кислота) по 75 мг/сут, плавикс (клопи-

ISSN 1818-7943. Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина. 2008. Том 6, выпуск 2
© С. Т. Данилкина, Г. И. Лифшиц, Е. Н. Воронина, М. Л. Филиппенко, 2008

догрель) по 75 мг/сут, ко-ренитек (эналаприл, гидрохлортиазид) по 1 таб/сут, конкор (бисопролол) по 5 мг/сут и зокор (симвастатин) в дозе 20 мг/сут.

Проведено следующее обследование. ИМТ = 26,8 кг/м^2, окружность талии 106 см. АД сидя 160 / 95 мм рт. ст., ЧСС 72–74 удара в минуту.

Анализ крови и общий анализ мочи в пределах нормы. Биохимический анализ крови: холестерин 4,6 ммоль/л, ХС-ЛВП 0,86 ммоль/л, ХС-ЛНП 3,54 ммоль/л, ТГ 2,8 ммоль/л, сахар крови 3,5 ммоль/л, мочевина 4,2 ммоль/л, билирубин 9,2 ммоль/л, АЛаТ 45 ЕД/л, АСаТ 28,8 ЕД/л, фибриноген 3,0 г/л, СРБ +++.

ЭКГ: ритм синусовый, ЧСС 63 уд/мин. Рубцовые изменения в нижней и задненижней стенках левого желудочка. УЗИ брахицефальных артерий: признаки гетерогенных атеросклеротических бляшек обеих внутренних сонных артерий (ВСА), стенозы по диаметру справа 23 и слева 28 %), гемодинамически незначимые. Мультиспиральная компьютерная томография сердца: атеросклеротические бляшки в правой коронарной артерии с отложениями в ней кальция, стенозирующие просвет ПКА.

При исследовании системы гемостаза выявлено резкое снижение активности протеина S до 30 % (в норме 65–145 %), гомоцистеин 21,63 (в норме 5,9–11) мкМоль/л.

Установлен следующий клинический диагноз. Ишемическая болезнь сердца: стенокардия напряжения, 2-й функциональный класс. Постинфарктный кардиосклероз (ИМ Q-позитивный задненижний (2002), повторные задненижние с захватом боковой стенки (2006, 2007). Операция ЧКВ правой коронарной и диагональной артерий с имплантацией стентов EUCATAX (2006), ЧКВ ДА, ПКА с имплантацией стента ZETA (2007).

Гипертоническая болезнь III стадии, 3-й степени, риск 4 (очень высокий). ХСН 1.2 ФК (NYHA).

Цереброваскулярная болезнь. Атеросклероз брахиоцефальных артерий. Стеноз ВСА справа 23 и слева 28 %. Резидуальные явления ОНМК (2003), ХИНК 4-й степени (по Покровскому). Ожирение 1 степени. Тромбофилия, обусловленная снижением активности протеина S.

На основании анамнеза, отягощенного по сердечно-сосудистой патологии, пациенту было проведено генетическое тестирование. При исследовании полиморфных вариантов генов пациента выявлено 10 мутаций, в том числе 3 гомозиготные мутации в системе генов, регулирующих состояние сосудистой стенки (эндотелиальная NO-синтаза), в генах ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (альдостерон синтетаза, агиотензин-превращающий фермент), 4 полиморфизма в генах детоксикационной системы, в генах клеточного звена гемостаза (тромбоцитарный гликопротеин), мутации в генах ферментов фолатного цикла, в генах воспалительного ответа (цитокинов). Результаты генотипирования представлены ниже.

Первая гомозиготная мутация в системе генов, регулирующих состояние сосудистой стенки, NOS3(e) (эндотелиальная NO-синтаза) кодирует фермент – эндотелиальную синтазу окиси азота, функцией которой является выработка оксида азота (NO). Он считается одним из наиболее важных биологических медиаторов, который вовлечен во множество физиологических процессов. В частности, NO участвует в реализации таких процессов, как расслабление гладкой мускулатуры сосудов, передача нервного импульса, снижение слипания тромбоцитов, регуляция тонуса гладких мышц, иммунные реакции и т. д. Потеря NO-опосредованных эффектов также предрасполагает к развитию атеросклероза.

Таким образом, аллельный вариант 298D у пациента приводит к уменьшению концентрации окиси азота в кровеносном русле, вследствие чего снижается вазодилатация, ухудшается реология крови, нарушается рост коллатеральных сосудов. Мутация также способствует развитию атеросклероза и ассоциирована со значительным риском развития инфаркта миокарда. Кроме того, отрицательный эффект варианта 298D выраженно усугубляется при наличии факта курения, утяжеляя нарушения вазодилатации [3], что установлено у больного.

Вторая гомозиготная мутация – в генах ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС). Ген CYP 11B2 кодирует фермент альдостеронсинтазу, продуцирующую альдостерон, один из важнейших компонентов ренин-ангиотензин-альдостероновой

Результаты генотипирования полиморфных вариантов генов пациента С.

Ген	Кодируемый белок	Полиморфизм	Результат
NOS3(e)	Эндотелиальная NO-синтаза	Glu298Asp (G / T)	Гомозигота
CYP 11B	Альдостеронсинтетаза	C344T	Гомозигота
GSTM	Глютатион-S-трансфераза-μ	Del	Гомозигота
NAT2	N-ацетил-трансфераза 2-го типа	C481T	Гетерозигота
GpIa	Тромбоцитарный гликопротеин Ia	C807T	Гетерозигота
IL-1b	Интерлейкин 1b	C+3953T	Гетерозигота
CYP1A2	Цитохром 1A2	C163A	Гетерозигота
NAT2	N-ацетил-трансфераза 2 типа	G590A	Гетерозигота
ACE	Ангиотензинпревращающий фермент	I / D	Гетерозигота
MTHFR	Метилентетрагидрофолатредуктаза	C677T	Гетерозигота

системы. Он в свою очередь регулирует минеральный обмен в организме (влияет на обмен натрия, калия и воды). Полиморфная замена приводит к увеличению уровня альдостерона за счет повышения экспрессии гена, что несет в себе высокий риск развития артериальной гипертензии [4].

Кроме того, в этой же системе генов выявлен полиморфизм в гене ACE, который кодирует аминокислотную последовательность ангиотензин-превращающего фермента (АПФ). Этот фермент также является важным физиологическим регулятором артериального давления и водно-солевого обмена. Он превращает циркулирующий в крови неактивный ангиотензин 1 в ангиотензин 2, обладающий мощным гипертензивным действием. В случае с рассматриваемым пациентом данный ген находится в гетерозиготной форме (I / D), но вариант D наследуется по аутосомно-доминантному типу. Это означает, что повышенный риск сердечно-сосудистых заболеваний связан как с гомозиготной (D / D), так и гетерозиготной (I / D) формами наследования. У пациента артериальная гипертония 3-й степени (до 200 / 100 мм рт. ст.) реализовалась с 20-летнего возраста.

Третья гомозиготная мутация выявлена в системе генов антиоксидантной и детоксикационной систем – GSTM (μ-глютатион-S-трансфераза), делеционный полиморфизм. Этот ген кодирует аминокислотную последовательность фермента глутатион-S-трансферазы, которая играет существенную роль в инактивации электрофильных органических веществ. Наибольшая экспрессия гена наблюдается в тканях печени, почек и желудка [5].

В случае делеции (отсутствие) гена фермент глутатионтрансфераза не синтезируется, в результате чего способность организма метаболизировать экзогенные токсические соединения значительно снижается. Это приводит к повышению риска возникновения различных форм рака, а также к ишемической болезни сердца. Во всех случаях риск развития заболеваний многократно увеличивается при курении.

Важнейшей гетерозиготной мутацией у больного являются полиморфные замены в генах системы гемостаза, что обусловливает предрасположенность к тромбофилии.

У пациента не выявлен ни один полиморфизм, ведущий к нарушению плазменного (коагуляционного) механизма гемостаза. Но выявлен полиморфизм одного из 3-х тромбоцитарных гликопротеинов, определяющего систему клеточного гемостаза – в гене GpIa (тромбоцитарный гликопротеин Ia), который кодирует аминокислотную последовательность интегрина. Тот в свою очередь является специализированным рецептором тромбоцитов для их взаимодействия с поврежденной стенкой сосудов. Благодаря интегринам тромбоциты образуют монослой в области поврежденных тканей, что является необходимым условием включения последующих звеньев свертывающей системы крови. В случае полиморфного варианта данного гена отмечается увеличение скорости прикрепления тромбоцитов к стенкам сосудов, что приводит к повышенному риску тромбообразования, а следовательно, к инфаркту миокарда и другим сердечно-сосудистым заболеваниям [6].

В системе генов фолатного цикла была выявлена мутация в гене MTHFR (метилентетрагидрофолатредуктаза). Этот ген кодирует аминокислотную последовательность фермента метилентетрагидрофолатредуктазы, который играет ключевую роль в метаболизме фолиевой кислоты. Она – составная часть комплекса витаминов группы В. В организме человека и животных кислота не синтезируется, а поступает извне вместе с пищей и при этом является важным элементом синтеза нуклеиновых кислот (ДНК и РНК), пуринов и пиримидинов. Фолиевая кислота действует как кофактор для ферментов фолатного цикла, вовлеченных в биосинтез ДНК и РНК, а также включается в процесс доставки метильных групп в так называемый цикл метилирования, превращающий аминокислоту гомоцистеин в метионин. Нарушения в работе ферментов фолатного цикла приводят к избыточному накоплению гомоцистеина в плазме человека (гипергомоцистеинемия) [7].

Это вещество обладает прямым повреждающим действием на эндотелиальную клетку сосудов, увеличивает пролиферацию гладкомышечных клеток, вызывает повышенную склонность к тромбообразованию, усугубляя риск нарушения артериального и венозного кровообращения. Неблагоприятное воздействие варианта Т полиморного фокуса С677Т в значительной степени зависит от внешних факторов: низкого содержания в пище фолатов, курения, приема алкоголя [8].

Таким образом, у больного выявлена генетическая предрасположенность к артериальной гипертензии, реализующаяся через РААС с гиперальдостеронизмом, к вазоконстрикции – в связи недостаточной выработкой оксида азота (мутации эндотелиальной NO-синтазы), к тромбозу – в связи с нарушениями в системе клеточного гемостаза (мутация тромбоцитарного гликопротеина), гипергомоцистеинемия (мутация генов фолатного цикла) с формированием атеросклероза и атеротромбоза.

Коррекция лечения в связи с выявленными полиморфными вариантами заключается в следующем: категорический отказ от курения и употребления алкоголя как дополнительных факторов реализации выявленных полиморфизмов, диета с повышенным содержанием фолиевой кислоты – зелень, зеленый чай, орехи (арахис), овощи, отруби, дрожжи т. д.

С целью коррекции дислипидемии и лечения артериальной гипертензии пациенту рекомендовано повышение физической активности: ходьба быстрым шагом до 30 минут в день, пользование лестницей, а не лифтом, велотренажер по ступенчатой схеме, плавание. Для контроля физической нагрузки рекомендован шагомер: необходимо делать не менее 10 000 шагов в день.

В связи с гомозиготной мутацией в системе генов, кодирующих эндотелиальную NO-синтазу, что ведет к потере NO-опосредованных эффектов, мужчине проведена замена β-адреноблокатора конкора на небилет (небиволол) в оптимальной дозировке. Небилет является конкурентным и избирательным блокатором β1-адренорецепторов, но в отличие от других препаратов группы β-блокаторов оказывает вазодилатирующее действие за счет модуляции высвобождения релаксирующего фактора (NO) из эндотелия сосудов. Поэтому наряду с основными свойствами всех β-блокаторов небилет вызывает прямой вазодилатирующий, а следовательно, и антиангинальный эффект у лиц, страдающих ИБС [8].

Полиморфная замена в гене альдостерон синтетазы (CYP 11B2) за счет повышения экспрессии гена приводит к увеличению уровня альдостерона и способствует развитию артериальной гипертензии [9]. Поэтому для лечения данного пациента был выбран верошпирон (спиронолактон) в дозе 100 мг в сутки. Препарат является конкурентным антагонистом альдостерона, повышает выведение ионов натрия и воды в дистальных канальцах почек, тем самым снижая АД.

В связи с полиморфизмом (делецией) в локусе гена ACE (система РААС) у пациента значительно повышена выработка ангиотензин-превращающего фермента, что приводит к мощному гипертензивному действию. В связи с этим данному лицу проведено повышение дозы ингибитора АПФ, который блокирует активность фермента, в два раза (ренитек до 20 мг/сут) и проведено комбинирование с антагонистами рецепторов к ангиотензину 11 (АРА) – диован (валсартан). Комбинация с препаратом

группы АРА была обусловлена тем, что блокада ангиотензин-превращающего фермента полностью не гарантирует прекращение процесса образования активного ангиотензина 2 из ангиотензина 1. Этот процесс также катализируется активностью химаз [10]. Блокада же АТ2-рецепторов полностью подавляет АТ2-артериальную вазоконстрикцию, уменьшает внутриклубочковое давление в почках, снижает секрецию ряда вазоактивных соединений и ряда гормонов (норадреналин, альдостерон, вазопрессин, эндотелеин 1 и т. д.).

С целью ликвидации гипергомоцистениемии, пациенту назначен постоянный ежедневный прием 5 мг фолиевой кислоты, 2 мг витамина B_6 и 6 мкг витамина B_{12}.

В качестве холестеринснижающего препарата использован крестор (розувастатин) в дозе 20 мг/сут. По сравнению со всеми существующими статинами крестор обеспечивает оптимальное достижение целевых уровней холестерина ЛПНП и наиболее значимого повышения уровня холестерина ЛПВП во всем диапазоне доз. Комбинированное назначение ингибитора АПФ, антагониста АРА 2 и статина значительно снижает риск сердечно-сосудистых осложнений [11].

Коррекция лечения системы гемостаза не проводилась в связи с адекватным снижением коагуляции и агрегации тромбоцитов. Было рекомендовано продолжить прием комбинации препаратов (плавикса и кардиомагнила).

Эффект лечения оценивался через 3, 6 и 9 месяцев от начала терапии. При осмотре пациент отмечал улучшение общего самочувствия в виде повышения толерантности к физическим нагрузкам, отсутствие одышки, ангинозных приступов. Определена стабилизация гемодинамики, АД на уровне 120–130 / 80 мм рт. ст.

При лабораторном обследовании отмечены целевые значения показателей липидного спектра: холестерин 3,6 ммоль/л, ХС-ЛВП 0,9 ммоль/л, ХС-ЛНП 2,54 ммоль/л, ТГ 1,8 ммоль/л, коэффициент атерогенности 3,1, уровень гомоцистена снизился до 6 мкмоль/л. При УЗ контроле брахицефальных артерий динамики не выявлено. По данным ЭКГ, определена положительная динамика в питании миокарда левого желудочка.

Таким образом, у рассмотренного пациента была выявлена совокупность полиморфных вариантов генов-кандидатов сердечно-сосудистой патологии, обусловивших раннее формирование тяжелой артериальной гипертензии, рецидивирующих инфарктов миокарда, нарушения мозгового кровообращения. С учетом полученных генных полиморфизмов проведена коррекция лекарственной терапии, позволившей добиться стабилизации состояния пациента по клиническим и лабораторным показателям. В дальнейшем планируется продолжить наблюдение и лечение, контрольные УЗИ исследования сонных и коронарных артерий (коронарография) через 12 и 24 мес. лечения с оценкой эффективности терапии.

Список литературы

1. *Оганов Р. Г., Масленникова Г. Я.* Проблемы профилактики сердечно-сосудистых заболеваний в России // Кардиология СНГ. 2003. № 1. С. 12–15.

2. *Сычев Д. А.* Клиническая фармакогенетика как путь к персонализированной медицине: оправданы ли надежды? // Клиническая фармакология и терапия. 2005. Т. 14, № 5. С. 77–85.

3. *McLeod H. L., Evans W. E.* Pharmacogenomics unlocking the human genom for better drug therapy // Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 2001. Vol. 109. P. 3171–3175.

4. *Makris M.* Genetic analysis, phenotypic diagnosis and risk venous thrombosis in families with inherited deficiencies of protein S // Blood. 2000. Vol. 95. P. 1935–1942.

5. *Evans W. E., Johnson J. A.* Genetic control of isoniasid metabolism in man // Br. Med. J. 1990. Vol. 2. P. 485–491.

6. *Perrault C.* Role of the intracellular domains of GP1b in controlling the adhesive properties of the platelet GP1b / V /1X complex // Blood. 2003. Vol. 101. P. 3477–3481.

7. *Баранова Е. И., Большакова О. О.* Клиническое значение гомоцистеинемии // Артериальная гипертензия. 2004. Т. 10, № 1. С. 12–15.

8. *Шевченко О. П., Олефриенко Г. А.* Гипергомоцистеинемия и ее клиническое значение // Лаборатория. 2002. № 3. С. 344.

9. *Кудряшова О. Ю. и др.* Генетические основы индивидуальной чувствительности к антитромбоцитарным препаратам / О. Ю. Кудряшова, Д. А. Затейщиков, Б. А. Сидоренко // Кардиология. 2005. № 9. С. 85–89.

10. *Кукес В. Г. и др.* Клиническая фармакогенетика и практическое здравоохранение / В. Г. Кукес, Д. А. Сычев, И. В. Игнатьев // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2006. Т. 69, № 2. С. 75–79.

11. *Janssen H.* Factor V Leiden mutation, prothrombin gene mutation, and deficiencies in coagulation inhibitors associated with Budd-Chiari syndrome and portal veins thrombosis // Blood. 2000. Vol. 96. P. 2364–2368.

Материал поступил в редколлегию 27.02.2008