Генотип СС гена VKORC1 ассоциируется с гиперкоагуляцией и снижением активности системы фибринолиза у пациентов с постоянной формой фибрилляции предсердий

Рубаненко А. О.[1]
к.м.н., доцент, кафедра пропедевтической терапии

Дьячков В. А.[1,2]
к.м.н., доцент, кафедра пропедевтической терапии; заведующий, приемное отделение

Кириченко Н. А.[1,2]
к.м.н., доцент, кафедра госпитальной терапии с курсами поликлинической терапии и трансфузиологии; врач-терапевт, приемное отделение

Сергеева Т. А.[2]
врач-терапевт, приемное отделение

Щукин Ю. В.[1]
д.м.н., профессор, заведующий, кафедра пропедевтической терапии

1 – ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России
2 – Клиника ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

***Автор для корреспонденции**: Рубаненко Анатолий Олегович; **e-mail:** anatolii.rubanenko@gmail.com*
***Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.*
***Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

Аннотация

Статья посвящена изучению взаимосвязи между генетическими полиморфизмами C1173T гена VKORC1 и показателями системы гемостаза у пациентов с постоянной формой фибрилляции предсердий. В исследование включено 235 пациентов с ишемической болезнью сердца и постоянной формой фибрилляции предсердий (средний возраст – 66,5±8,3лет). В статье демонстрируется, что у больных с постоянной формой фибрилляции предсердий генотип СС гена VKORC1C1173T ассоциируется с увеличением концентрации активируемого тромбином ингибитора фибринолиза более 210%, а также растворимых фибрин-мономерных комплексов более 11 мг%.

Ключевые слова: генетические полиморфизмы, субъединица 1 витамин К эпоксид редуктазы, активируемый тромбином ингибитор фибринолиза, фибрилляция предсердий

doi: 10.29234/2308-9113-2019-7-2-1-8

Фибрилляция предсердий (ФП), как известно, является одной из наиболее распространенных аритмий в клинической практике, при этом ассоциируясь со значительным увеличением риска развития кардиоэмболического инсульта. Распространенность данного осложнения у пациентов с ФП составляет около 1,5% в год [1]. Ведущую роль в развитии инсульта у пациентов с этим нарушением ритма играет тромбообразование в ушке левого предсердия (УЛП) с дальнейшей тромбоэмболией в мозговые артерии. В развитии тромбоза УЛП, в соответствии с положениями теории Р. Вирхова, наряду со стазом форменных элементов и дисфункцией эндотелия, ключевую роль играет гиперкоагуляция и снижение активности фибринолиза [1,4,5,6]. При этом одним из наиболее важных показателей, являющимся связующим звеном между процессами коагуляции и фибринолиза, считается активируемый тромбином ингибитор фибринолиза (АТИФ). Он активируется преимущественно с помощью комплекса тромбин-тромбомодулин и далее разрушает каталитическую поверхность фибрина, тем самым ингибируя действие тканевого активатора плазминогена. Следует отметить, что в высокой концентрации АТИФ оказывает прямое ингибирующее действие на плазминоген. Эти механизмы обусловливают угнетение процесса фибринолиза при увеличении концентрации данного гликопротеина. Концентрация АТИФ и его генетические полиморфизмы изучались у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями [12], острым коронарным синдромом [9], а также венозными тромбозами [15]. В то же время, данные литературы о роли этого показателя в развитии тромбоза УЛП и инсульта у пациентов с ФП практически отсутствуют. Наряду с изучением различных гемостазиологических тестов, большое внимание уделяется также исследованию роли ряда генетических полиморфизмов в развитии тромбозов и тромбоэмболий. В настоящее время доказана роль различных полиморфизмов гена субъединицы 1 витамин К эпоксидредуктазы (VKORC1) в подборе дозы варфарина [7,8,10,11,13]. Однако сведений о роли полиморфизмов данного гена в развитии гиперкоагуляции и тромбоза УЛП у больных с ФП имеется недостаточно [3], что, учитывая имеющиеся данные о влиянии VKORC1 на венозные тромбозы [14], обусловливает необходимость проведения новых исследований в этом направлении.

Цель исследования

Выявить взаимосвязь между генетическими полиморфизмами гена VKORC1 C1173T и гемостазиологическими показателями у пациентов с постоянной формой фибрилляции предсердий.

Методы исследования

Данная работа является продолжением исследования, результаты которого были нами опубликованы в 2015 году [2]. В обсервационное одномоментное исследование включено 235 пациентов с ишемической болезнью сердца и постоянной формой ФП, которые подписали протокол информированного согласия на участие в исследовании (средний возраст – 66,5±8,3 лет). В исследование не включались пациенты с известными нарушениями свертывания крови, поражениями клапанного аппарата сердца, кардиомиопатиями, перенесенным инфарктом миокарда, инсультом в течение менее чем 6 месяцев до включения в исследование, хронической болезнью почек, циррозом печени, а также пациенты, принимающие препараты, влияющие на свертываемость крови (в том числе оральные антикоагулянты). Все пациенты были разделены на три группы: в 1 группу включено 67 пациентов с генотипом CC гена VKORC1 C1173T, во 2 группу – 126 пациентов с генотипом CT гена VKORC1 C1173T, в 3 группу – 42 пациента с генотипом TT гена VKORC1 C1173T. Среди пациентов всех групп не было выявлено достоверных различий по полу, возрасту, а также частоте развития сопутствующих заболеваний, таких как перенесенный инсульт и инфаркт миокарда, сахарный диабет, артериальная гипертензия (табл. 1).

Таблица 1. Клиническая характеристика пациентов, включенных в исследование

Показатель	Группа 1 N=67	Группа 2 N=126	Группа 3 N=42
Пол, мужчины, n (%)	41 (61,2%)	75 (59,5%)	27 (64,3%)
Возраст, лет	65,9±6,8	66,1±7,5	67,4±9,2
Перенесенный инфаркт миокарда, n (%)	14 (20,9)	29 (23,0)	10 (23,8%)
Перенесенный инсульт, n (%)	16 (23,9%)	32 (25,4%)	11 (26,2%)
Сахарный диабет 2 типа, n (%)	10 (14,9%)	16 (12,7%)	7 (16,7%)
Артериальная гипертензия, n (%)	54 (80,6%)	107 (84,9%)	36 (85,7%)

Следует отметить, что распределение частот генотипов гена VKORC1 C1173T, по данным нашего исследования, достоверно не отличалось от теоретического, определенного в соответствии с законом Харди-Вайнберга (табл. 2).

Таблица 2. Соответствие полученного распределения частот выявленных генотипов у больных с фибрилляцией предсердий ожидаемому, определенному по закону Харди-Вайнберга

Генетический полиморфизм	Генотип	Количество пациентов N=235		p
		Полученное	Ожидаемое	
VKORC1 C1173T	CC	67 (28,5%)	56 (30,6%)	>0,05
	CT	126 (53,6%)	90 (49,4%)	>0,05
	TT	42 (17,9%)	36 (20,0%)	>0,05

У всех пациентов проводилась оценка показателей гемостаза, таких как АТИФ, антитромбин, фибриноген, растворимые фибрин-мономерные комплексы (РФМК).

Для определения концентрации фибриногена использовался набор «Фибриноген-тест» («Технология стандарт», Барнаул, Россия), антитромбина – тест-система STA ATIII (Roche Dianostics, Швейцария) на приборе STA-COMPACT (Roche Diagnostics, Швейцария). Концентрация в крови РФМК изучалась с помощью набора «РФМК-тест» («Технология-Стандарт», Барнаул, Россия). Концентрация АТИФ определялась с помощью тест системы IMUCLONE TAFI ELISA (American Diagnostica Inc., США) на иммуноферментном анализаторе «Пикон» (Россия). Исследование генетических полиморфизмов VKORC1 C1173T и G3730A, PAI-1 4G(-675)5G проводили с использованием соответствующих наборов «SNP-экспресс» (НПФ «Литех», Россия). Всем пациентам назначалась стандартная терапия, включающая ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (или антагонисты рецепторов ангиотензина), β-адреноблокаторы, диуретики по показаниям, статины. В исследование включались пациенты, не принимающие оральные антикоагулянты, преимущественно по причине отказа, который оформлялся в письменном виде. В случае, если пациенты соглашались в дальнейшем принимать оральные антикоагулянты, они назначались после исследования гемостазиологических показателей, входящих в дизайн исследования.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы Statistica 7.1 (Stat Soft Inc., USA). Количественные показатели в статье представлены в виде средних значений (М) ± стандартное отклонение (δ). При оценке достоверности различий по количественным показателям между независимыми группами пациентов применяли критерий U Манна-Уитни. Подсчет отношения шансов проводился с использованием логистического регрессионного анализа.

Результаты

При анализе полученных данных было выявлено, что у пациентов с генотипом СС гена VKORC1 средняя концентрация АТИФ превышала нормальные значения, что оказалось на 50,7% и 51,9% соответственно выше по сравнению с пациентами с генотипами СТи ТТ (p<0,05). Средняя концентрация РФМК была выше нормы у пациентов всех групп, при этом в 1 группе она оказалась соответственно на 31,4% и 36,6% выше по сравнению с пациентами 2 и 3 групп (p<0,05). Различия по данным показателям между пациентами 2 и 3 групп, также как по концентрациям фибриногена и антитромбина, не достигли статистической значимости (табл. 3).

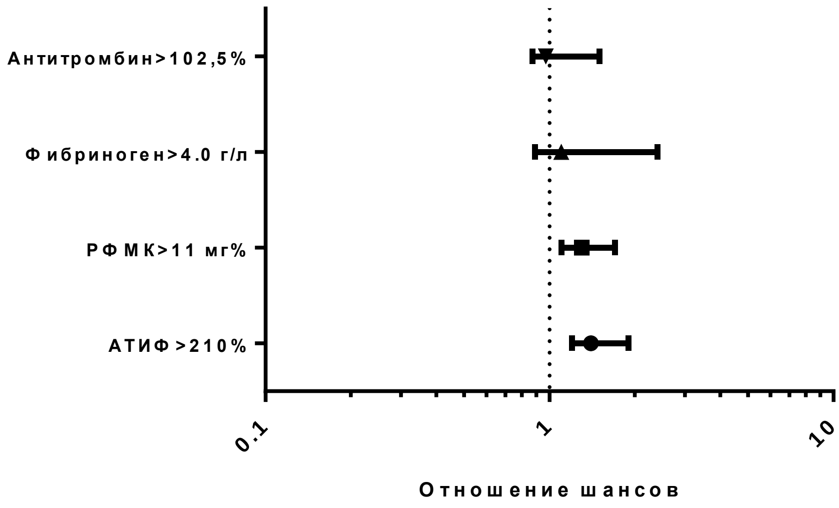
Таблица 3. Показатели гемостаза у больных с фибрилляцией предсердий, М± δ

Показатели/Группы	**1 группа N=67**	**2 группа N=126**	**3 группа N=42**
АТИФ, %	335,8±65,9*,**	165,4±38,8	161,4±44,6
РФМК, мг%	15,3±4,2*,**	10,5±4,9	9,7±3,9
Фибриноген, г/л	4,3±0,89	3,9±0,92	3,8±0,45
Антитромбин, %	106,9±19,5	99,8±17,6	110±18,8

Примечание: * - p_{1-2} группы<0,05, ** - p_{1-3} группы<0,05

С целью определения отношения шансов для вышеприведенных показателей гемостаза у пациентов с генотипом СС гена VKORC1 и без него, мы произвели объединение пациентов 2 и 3 групп. Таким образом, в одну группу включено 67 пациентов с генотипом СС гена VKORC1, а в другую группу – 168 пациентов с генотипами СТ и ТТ гена VKORC1 (аллель Т). Далее, по данным проведенного многофакторного регрессионного анализа было выявлено, что у пациентов с наличием СС генотипа VKORC1 отношение шансов для увеличения концентрации АТИФ более 210% составило 1,4 (95% ДИ 1,2-1,9; p=0,02), а для увеличения концентрации РФМК более 11 мг% – 1,3 (95% ДИ 1,1-1,7; p=0,01) (рис. 1).

Рис. 1. Отношения шансов для показателей гемостаза у пациентов с генотипом СС гена VKORC1 C1173T.



Обсуждение результатов

В нашем исследовании была показана достоверная ассоциация между генотипом СС гена VKORC1 C1173T и повышением концентрации АТИФ более 210% и РФМК – более 11 мг%. Таким образом, у пациентов с наличием генотипа СС гена VKORC1 следует ожидать увеличения концентрации АТИФ более 210% в 1,4 раза чаще, а концентрации РФМК более 11 мг% – в 1,3 раза чаще, по сравнению с пациентами с Т аллелем данного гена.

Генотип СС гена VKORC1 C1173T сопровождается более высокой концентрацией фермента внутри клетки и, следовательно, повышением активности гемостаза по причине более быстрого образования активных форм витамин К зависимых факторов свертывания крови при сравнении с генотипами СТ и ТТ данного гена. Это, по всей видимости, будет способствовать более выраженной активации коагуляционного каскада и, следовательно, уменьшению активности фибринолиза у этих пациентов. В более ранней нашей работе была продемонстрирована независимая ассоциация между генотипом СС гена VKORC1 C1173T, а также между повышением концентрации АТИФ и наличием тромбоза ушка левого предсердия у пациентов с постоянной формой ФП [3]. Таким образом, мы полагаем, что определение генетических полиморфизмов VKORC1 C1173T может использоваться не только в определении чувствительности к терапии варфарином, но и в структуре комплексной оценки предрасположенности к активации системы гемостаза и снижения активности системы фибринолиза у пациентов с фибрилляцией предсердий.

Выводы

У пациентов с постоянной формой фибрилляции предсердий генотип CC гена VKORC1 ассоциируется с увеличением концентрации активируемого тромбином ингибитора фибринолиза более 210% и растворимых фибрин-мономерных комплексов более 11 мг%.

Список литературы

1. Рекомендации ESC по лечению пациентов с фибрилляцией предсердий, разработанные совместно с EACTS. *Российский кардиологический журнал* 2017; 7 (147): 7-86.

2. Рубаненко А.О., Щукин Ю.В. Генотип CC гена VKORC1 ассоциируется с активацией каскада коагуляции и снижением фибринолитической активности у пациентов с фибрилляцией предсердий. *Практическая медицина* 2015; 3-2 (88): 53-55.

3. Рубаненко А.О., Щукин Ю.В. Факторы, ассоциированные с развитием тромбоза ушка левого предсердия у больных с постоянной формой фибрилляции предсердий.*Клиническая медицина* 2014; 11 (92): 29-34.

4. Danese E., Montagnana M., Cervelin G., Lippi G. Hypercoagulability, D-dimer and atrial fibrillation: an overview of biological and clinical evidence. *Ann Med* 2014; (27): 1-8.*doi:*10.3109/07853890.2014.912835.

5. Hijazi Z., Oldgren J., Siegbahn A., Granger C.B. et al. Biomarkers in atrial fibrillation: a clinical review. *Eur Heart J.* 2013; 34(20): 1475-80. *doi:*10.1093/eurheartj/eht024.

6. Matusik P.T., Matusik P.S., Kornacewicz-Jach Z. et al. Elevated NT-proBNP is associated with unfavorably altered plasma fibrin clot properties in atrial fibrillation. *Int J Cardiol.* 2017; (243):244-250. *doi:*10.1016/j.ijcard.2017.05.060

7. Makar-Ausperger K., Krzelj K., Lovric Bencic M. et al. Warfarin Dosing According to the Genotype-guided Algorithm is Most Beneficial in Patients with Atrial Fibrillation: A Randomized Parallel Group Trial. *Ther Drug Monit.* 2018; 40 (3): 362-368.*doi:*10.1097/FTD.0000000000000501

8. Nahar R., Saxena R., Deb R.et al. CYP2C9, VKORC1, CYP4F2, ABCB1 and F5 variants: Influence on quality of long-term anticoagulation. *Pharmacol Rep.* 2014; 66 (2): 243-9.*doi:*10.1016/j.pharep.2013.09.006

9. Pang H, Zhang C, Liu F et al. Reduced thrombin activatable fibrinolysis inhibitor and enhanced inflammatory markers in ACS. *Minerva Cardioangiol.* 2016; Oct 21.

10. Pirmohamed M., Burnside G., Eriksson N. A randomized trial of genotype-guided dosing of warfarin. *N Engl J Med.* 2013. 369 (24): 2294-303. *doi:* 10.1056/NEJMoa1311386.

11. Shaw K, Amstutz U, Kim R.B. et al. Clinical Practice Recommendations on Genetic Testing of CYP2C9 and VKORC1 Variants in Warfarin Therapy. *Ther Drug Monit.* 2015; 37 (4): 428-36.

12. Shi J, Zhi P, Chen J et al. Genetic variations in the thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor gene and risk of cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis. *Thromb Res.*2014;134(3):610-6. *doi:*10.1016/j.thromres.2014.06.023

13. Tang W, Shi Q.P., Ding F. et al. Impact of VKORC1 gene polymorphisms on warfarin maintenance dosage: A novel systematic review and meta-analysis of 53 studies. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2017; 55(4):304-321. *doi:*10.5414/CP202833.

14. Vesa SC., Trifa AP., Crisan S. et al. VKORC1-1639 G>A Polymorphism in Romanian Patients with Deep Vein Thrombosis. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2016; 22(8): 760-764.

15. Wang W., Ma H, Lu L et al. Association between thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor gene polymorphisms and venous thrombosis risk: a meta-analysis. *Blood Coagul Fibrinolysis* . 2016; 27(4): 419-30. *doi:*10.1097/MBC.0000000000000475.

Genotype CC VKORC1 is associated with hypercoagulation and decreasing of fibrinolytic activity in patients with permanent atrial fibrillation

Rubanenko A. O.[1]
PhD, Associate Professor, Chair for Propaedeutics Therapy

Dyachkov V. A.[1,2]
PhD, Associate Professor, Chair for Propaedeutics Therapy; Head, Emergency Department

Kirichenko N. A.[1,2]
PhD, Associate Professor, Chair for Hospital Therapy; Therapeutist, Emergency Department

Sergeeva T. A.[2]
Therapeutist, Emergency Department

Shchukin Yu. V.[1]
MD, Professor, Head, Chair for Propaedeutics Therapy

1 – Samara state medical university, Samara, Russia
2 – Samara state medical university clinics, Samara, Russia

***Corresponding author:** Rubanenko Anatolii; **e-mail:** anatolii.rubanenko@gmail.com*
***Conflict of interest.** None declared.*
***Funding.** The study had no sponsorship.*

Summary

The article assesses association of VKORC1 C1173T genetic polymorphisms and haemostatic indicators in patients with permanent atrial fibrillation. We enrolled in the study 235 patients with coronary artery disease and permanent atrial fibrillation (mean age 66.5±8.3 years). We show that in patients with permanent atrial fibrillation genotype CC VKORC1 is associated with increasing of thrombin activatable fibrinolysis concentration more than 210% and soluble fibrin monomer complexes more than 11 mg%.

Keywords: genetic polymorphisms, vitamin K epoxide reductase subunit 1, thrombin activatable fibrinolysis inhibitor, atrial fibrillation

References

1. Rekomendacii ESC po lecheniyu pacientov s fibrillyaciej predserdij, razrabotannye sovmestno s EACTS [2016 ESC guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with EACTS]. *[Rossijskij kardiologicheskij zhurnal] Russ J Cardiol*. 2017; 147 (7): 7-86. (In Russ.)

2. Rubanenko A.O., Shchukin Yu. V. Genotip SS gena VKORC1 associiruetsya s aktivaciej kaskada koagulyacii i snizheniem fibrinoliticheskoj aktivnosti u pacientov s fibrillyaciej predserdij [VKORC1 CC genotype is associated with activation of the coagulation cascade and reduction of fibrinolytic activity in patients with atrial fibrillation]. *Prakticheskaya medicina [Practical medicine]* 2015; 88 (3-2): 53-55. (In Russ.)

3.Rubanenko A.O., Shchukin Yu. V. Faktory, associirovannye s razvitiem tromboza ushka levogo predserdiya u bol'nyh s postoyannoj formoj fibrillyacii predserdij [Factors associated with thrombosis of the left atrial appendage in patients with chronic atrial fibrillation].*Klinicheskaya medicina [Clinical medicine]* 2014. 92 (11): 29-34. (In Russ.)

4. Danese E., Montagnana M., Cervelin G., Lippi G. Hypercoagulability, D-dimer and atrial fibrillation: an overview of biological and clinical evidence. *Ann Med* 2014; (27): 1-8.*doi:*10.3109/07853890.2014.912835.

5. Hijazi Z., Oldgren J., Siegbahn A., Granger C.B. et al. Biomarkers in atrial fibrillation: a clinical review. *Eur Heart J.* 2013; 34(20): 1475-80. *doi:* 10.1093/eurheartj/eht024.

6. Matusik P.T., Matusik P.S., Kornacewicz-Jach Z. et al. Elevated NT-proBNP is associated with unfavorably altered plasma fibrin clot properties in atrial fibrillation. *Int J Cardiol.* 2017; (243): 244-250. *doi:* 10.1016/j.ijcard.2017.05.060

7. Makar-Aušperger K., Krzelj K., Lovric Bencic M. et al. Warfarin Dosing According to the Genotype-guided Algorithm is Most Beneficial in Patients with Atrial Fibrillation: A Randomized Parallel Group Trial. *Ther Drug Monit.* 2018; 40(3):362-368. *doi:*10.1097/FTD.0000000000000501.

8. Nahar R., Saxena R., Deb R.et al. CYP2C9, VKORC1, CYP4F2, ABCB1 and F5 variants: Influence on quality of long-term anticoagulation. *Pharmacol Rep.*2014; 66(2): 243-9. *doi:*10.1016/j.pharep.2013.09.006.

9. Pang H., Zhang C., Liu F. et al. Reduced thrombin activatable fibrinolysis inhibitor and enhanced inflammatory markers in ACS. *Minerva Cardioangiol.* 2016; Oct 21.

10. Pirmohamed M., Burnside G., Eriksson N. A randomized trial of genotype-guided dosing of warfarin. *N Engl J Med.*2013. 369(24): 2294-303. *doi:* 10.1056/NEJMoa1311386.

11. Shaw K, Amstutz U, Kim R.B. et al. Clinical Practice Recommendations on Genetic Testing of CYP2C9 and VKORC1 Variants in Warfarin Therapy. *Ther Drug Monit.* 2015; 37(4):428-36.

12. Shi J., Zhi P., Chen J. et al. Genetic variations in the thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor gene and risk of cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis.*Thromb Res.* 2014; 134(3): 610-6. *doi:* 10.1016/j.thromres.2014.06.023

13. Tang W., Shi Q.P., Ding F. et al. Impact of VKORC1 gene polymorphisms on warfarin maintenance dosage: A novel systematic review and meta-analysis of 53 studies. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2017; 55(4):304-321. *doi:* 10.5414/CP202833.

14. Vesa S.C., Trifa A.P., Crişan S. et al. VKORC1-1639 G>A Polymorphism in Romanian Patients with Deep Vein Thrombosis. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2016; 22(8):760-764.

15. Wang W., Ma H., Lu L. et al. Association between thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor gene polymorphisms and venous thrombosis risk: a meta-analysis. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2016; 27(4):419-30. *doi:* 10.1097/MBC.0000000000000475.