

ВЛИЯНИЕ УРОВНЯ МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ-9, SP-СЕЛЕКТИНА И ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ ABCB1 И CYP2C19 НА РАЗВИТИЕ РЕЦИДИВИРУЮЩИХ КОРОНАРНЫХ СОБЫТИЙ У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ С ПОДЪЕМОМ СЕГМЕНТА ST

Галицкая С.С.

*УО «Белорусский государственный медицинский университет», 3-я кафедра
внутренних болезней*

*ГУ «Республиканский клинический медицинский центр» Управления делами
Президента РБ, г. Минск*

Актуальность. Лечение пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС) с подъемом сегмента ST является приоритетной задачей неотложной кардиологии. Известно, что в основе патогенеза ОКС лежит цепь патологических событий, включающая дестабилизацию, разрыв или изъязвление атеросклеротической бляшки, которые вызывают активацию тромбоцитарного и плазменного гемостаза и приводят к стенозирующему или окклюзирующему коронарному тромбозу (5). На современном этапе одной из

самых оправданных методик реперфузии при ОКС с подъемом сегмента ST является первичное чрескожное коронарное вмешательство (ЧКВ) (9). При выполнении первичной ЧКВ удается полностью восстановить кровоток в инфаркт-связанной артерии у 93-96% больных.

Несмотря на активное внедрение методов реперфузии, сохраняется проблема возможности развития рецидивирующих коронарных событий (РКС) у пациентов после успешно выполненного ЧКВ. В связи с этим на сегодняшний день встает необходимость в детальном изучении прогностически неблагоприятных лабораторных показателей (2), которые могли бы быть связаны с возникновением и рецидивом атеротромбоза, для оценки индивидуального риска осложненного течения этого инфаркта миокарда. Матриксные металлопротеиназы представляют собой семейство цинксодержащих эндопротеаз, которые наряду с их ингибиторами (тканевые ингибиторы металлопротеиназ — ТИМП) играют важную роль не только в дестабилизации бляшки, но и в обеспечении баланса жизнедеятельности внеклеточного матрикса миокарда. ММП-9 известна как желатиназа, осуществляет деградацию коллагена IV типа, содержащегося в базальной мембране. ММП-9 участвует в процессе повреждения атеросклеротической бляшки (1).

Известно, что sP-селектин появляется на поверхности клеток эндотелия под влиянием таких цитокинов, как ИЛ-1 и ФНО-α. С этими выступающими молекулами связываются оказавшиеся рядом лейкоциты, поскольку их углеводный покров содержит комплементарные структуры. Следовательно, sP-селектин способен привлекать лейкоциты, действующие на самых ранних стадиях иммунной защиты (6). Предполагается, что повышенный уровень sP-селектина может быть связан с активацией эндотелиальных клеток в момент развития ОКС, а концентрация sP-селектина остается повышенной на протяжении 72 часов после поступления больных ОКС в стационар (8).

Для профилактики тромботических осложнений после ОКС и ЧКВ широко применяется комбинация клопидогрела и ацетилсалициловой кислоты. В настоящее время получены данные о вариабельном ответе на клопидогрел у пациентов и о наличии феномена «резистентности» (11). После приема внутрь клопидогрел быстро абсорбируется в кишечнике. В процессе абсорбции участвует белок семейства АТФ-связывающих кассетных транспортеров - ABCB1 (MDR1). Изменения в структуре гена MDR1 может приводить к изменению биодоступности клопидогрела. После абсорбции в кишечнике большая часть ЛС (85%) метаболизируется в печени в неактивный метаболит SR 26334 под воздействием карбоксилэстеразы-1. Оставшаяся часть (15%)

подвергается двухэтапной биотрансформации в печени при участии изоферментов системы цитохрома P-450 CYP2C19, CYP2C9, CYP3A4, CYP3A5.

По данным исследований (7), наиболее важную роль в метаболизме клопидогрела играет ген CYP2C19. Известно более 30 аллелей гена CYP2C19, кодирующего одноименный изофермент. Так, носительство аллельного варианта CYP2C19*1 обеспечивает полную ферментативную активность изофермента, т.о. обеспечивая нормальный метаболизм клопидогрела. CYP2C19*2 и CYP2C19*3 ассоциированы со снижением ферментативной активности цитохромов и возникновением резистентности к клопидогрелу.

Цель исследования: изучить связь уровня матричной металлопротеиназы-9 (ММП-9), sP-селектина и генетических полиморфизмов ABCB1 и CYP2C19 у пациентов с ОКС с подъемом сегмента ST, подвергшихся ЧКВ, с развитием РКС в остром периоде инфаркта миокарда (ИМ).

Материалы и методы: В исследование включены 140 пациентов с ОКС с подъемом сегмента ST в возрасте от 39 до 85 лет, которым в соответствии с протоколом ведения было выполнено первичное ЧКВ. В зависимости от развития РКС после выполнения реперфузии в остром периоде ИМ были выделены группа с РКС (исследуемая группа, n=54) и без РКС (группа сравнения, n=86). В рамках РКС после проведения реперфузионной терапии рассматривали, рецидив ИМ, раннюю постинфарктную стенокардию, ретромбоз инфаркт-связанной артерии, т.е. тромбоз стента, смерть от сердечно-сосудистых причин,.

Использовались клинические, антропометрические, лабораторные и инструментальные методы исследования.

С целью определения уровня матричной металлопротеиназы-9 (ММП-9) был использован набор фирмы DRG International, Inc. (США), который предназначен для количественного определения данного реактива в исследуемых образцах методом ELISA. Референсные значения для ММП-9 составляли 2 - 139,4 нг/мл.

С целью определения уровня sP-селектина был использован набор фирмы DRG International, Inc. (США), который предназначен для количественного определения данного реактива в исследуемых образцах методом ELISA. Референсные значения для sP-селектина составляли 67 - 233 нг/мл.

Генетическое исследование проводилось у 64 пациентов с ОКС с подъемом сегмента ST, получивших в качестве реперфузионной терапии ЧКВ, в возрасте от 39 до 85 лет. В зависимости от развития РКС среди них были выделены две группы: с развившимися в течение инфаркта миокарда РКС (с

высоким кардиоваскулярным риском, $n=32$) и без такового (без РКС, группа сравнения, $n=32$). Статистически значимых различий между группами пациентов, которым проводилось генетическое исследование, по возрасту, полу и распространенности основных факторов сердечно-сосудистого риска не установлено.

Генетическое исследование включало качественную детекцию *in vitro* мутации в гене ABCB1 (3435C>T) и четырех вариантов аллелей гена CYP2C19 (CYP2C19*2 (681G>A), CYP2C19*3 (636G>A), CYP2C19*4 (1A>G), CYP2C19*5 (1297C>T)).

Для определения типа лекарственного метаболизма клопидогрела использовался набор реагентов Pronto ClopidoRisk фирмы Pronto Diagnostics Ltd. (Израиль). В этом наборе для идентификации мутации применяется метод амплификации и гибридизации с аллель специфичными олигонуклеотидами с последующей визуализацией продуктов гибридизации с помощью иммуноферментного анализа.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием статистических пакетов Statistica 10.0, Excel. Различия в группах считали значимыми при вероятности безошибочного прогноза 95,5% ($p<0,05$).

Результаты и обсуждение. Проанализированы основные кардиоваскулярные факторы риска (мужской пол, возраст, курение, наличие артериальной гипертензии, семейный анамнез ранней ишемической болезни сердца, индекс массы тела, наличие сахарного диабета) в исследуемых группах. В группе пациентов с развившимся РКС отмечены более высокие среднегрупповые значения ИМТ по сравнению с группой пациентов с неосложненным течением инфаркта миокарда. Характеристика исследуемых групп представлена в Таблице 1.

По полученным нами данным, при анализе уровня ММП-9 отмечены более высокие уровни в группе пациентов с развившимся РКС после выполнения ЧКВ (213 (200; 226) нг/мл) по сравнению с пациентами без РКС (183 (150; 206) нг/мл, $p<0,05$).

В исследовании, проведенном Печериной и соавт. (4) изучена роль матриксных металлопротеиназ в оценке прогноза повторных сердечно-сосудистых событий в период пребывания в стационаре у пациентов с ИМ с подъемом сегмента ST. В исследование включены 175 пациентов. Всем пациентам при поступлении в стационар и в динамике на 12-е сутки от начала заболевания определяли содержание в сыворотке крови ММП-1, 3 и 9. При оценке динамики концентрации ММП установлено, что уровни всех изучаемых ММП на 12-е сутки ИМ оказались в 1,1-1,6 раза ($p<0,05$) выше, чем в 1-е сутки

заболевания. При сравнительном анализе концентраций ММП в сыворотке крови между группами пациентов с благоприятным и неблагоприятным исходом определено, что у пациентов с неблагоприятным исходом уже на 1-е сутки ИМ регистрируются более высокие медианные концентрации ММП-3 и 9. Такая же тенденция наблюдается и на 12-е сутки заболевания. Однако достоверные различия между группами получены только для ММП-9. Уровни данного маркера у пациентов с неблагоприятным исходом на 1-е сутки оказались выше на 19,4% ($p=0,04$), на 12-е сутки – на 48,8% ($z=0,03$), чем у пациентов с благоприятным прогнозом.

Таблица 1 – Характеристика исследуемых групп

Показатель	Группа с РКС, (n=54)	Группа без Н РКС, (n=86)
Возраст, лет; $M \pm m$	63,5 \pm 1,4	59,8 \pm 1,12
Мужской пол, % (n)	85 (46)	77,9 (67)
Курение, % (n)	48 (26)	45,3 (39)
АГ, % (n)	88,9 (54)	86 (74)
Семейный анамнез ИБС, % (n)	24,1 (13)	24,4 (21)
Сахарный диабет, % (n)	16,7 (9)	11,6 (10)
ИМТ, кг/м ² ; $M \pm m$	29 (27; 32,5)*	26 (23; 30)

Примечание – * - достоверность различия показателей при сравнении с группой без РКС при $p < 0,05$.

При изучении уровня sP-селектина отмечены более высокие значения в группе пациентов с РКС (280 (240; 330) нг/мл) по сравнению с группой пациентов без РКС (210 (150; 235) нг/мл, $p < 0,05$).

В ходе исследования по выявлению предикторов неблагоприятных коронарных событий в качестве факторов риска неблагоприятного прогноза у пациентов с ОКС с подъемом сегмента ST, подвергшихся ЧКВ, отмечено, что повышение уровня sP-селектина на 10-е сутки является предиктором развития тромбоза стента в отдаленном периоде (3).

При генотипировании по гену ABCB1 в группе пациентов с РКС выявлено 6,25% пациентов (n=2) с аллелем TT гена ABCB1 (гомозиготы), в группе пациентов без РКС не выявлено носителей данного генотипа. Носительство генотипа CT (гетерозиготы) выявлено у 93,75% пациентов с РКС, а в группе пациентов без РКС частота встречаемости генотипа CT составила 81,25% ($\chi^2=6,6$, $p < 0,01$).

В работе S. Tabassome была выявлена ассоциация полиморфизма C3435T гена ABCB1 с клинической резистентностью к клопидогрелу у 2 208 пациентов с инфарктом миокарда, получавших клопидогрел и находившихся под наблюдением в течение года. Носители генотипа ТТ имели большую частоту сердечно-сосудистых событий, чем носители генотипа СС (10).

Данные, полученные в ходе генотипирования по CYP2C19 в нашем исследовании представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Частота гетерозиготных генотипов CYP2C19 среди пациентов с ОКС с подъемом сегмента ST, подвергшихся ЧКВ

Генотип	Пациенты с РКС (n=32)		Пациенты без РКС (n=32)	
	количество пациентов (n)	% от общего количества	количество пациентов (n)	% от общего количества
*1/*2	12	37,5	2	6,25
*1/*3	2	6,25	-	-
*1/*4	1	3,125	-	-
*1/*5	-	-	-	-

Т.о., выявлены статически значимые различия по носительству, по крайней мере, одной мутантной аллели CYP2C19*2 (*1/*2) среди пациентов с РКС (37,5%) по сравнению с группой пациентов без РКС (6,25%), $\chi^2=9,1$, $p<0,01$. Т.е. у пациентов с выявленными мутантными аллелями CYP2C19 мы можем ожидать недостаточную клиническую эффективность клопидогрела при назначении его в стандартной дозе. Возможно, развитие РКС в выделенной группе пациентов отчасти связано с нарушением метаболизма клопидогрела и его недостаточной клинической эффективностью.

Выводы. Таким образом, для пациентов с острым коронарным синдромом с подъемом сегмента ST и рецидивирующими коронарными событиями характерно течение заболевания на фоне более высоких значений уровня sP-селектина и ММП-9. В группе пациентов с развитием рецидивирующих коронарных событий в остром периоде инфаркта миокарда частота встречаемости генотипа ТТ гена ABCB1 составила 6,25%, генотипа СТ гена ABCB1 – 93,75%, тогда как в группе пациентов с неосложненным течением инфаркта миокарда носителей генотипа ТТ не обнаружено, а удельный вес гетерозигот (генотипа СТ) составил 81,25%. Частота встречаемости генотипа

CYP2C19*2 (*1/*2) у пациентов с острым коронарным синдромом с подъемом сегмента ST, течение которого осложнилось развитием рецидивирующих коронарных событий, и с неосложненным течением заболевания составила 37,5% и 6,25% соответственно.

Литература

1. Волков, В.И. Изменение уровня матриксной металлопротеиназы-9 у больных со стабильной и нестабильной стенокардией // В.И. Волков, Д.Н. Калашник, С.А. Серик// Украинский терапевтический журнал.- 2006. - №1. – С. 4-7.
2. Предикторы неблагоприятных исходов чрескожных коронарных вмешательств у пациентов с острым инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST / Митьковская Н.П. [и др.] // Медицинская панорама, 2012. - №3 – С. 3-5.
3. Предикторы неблагоприятных коронарных событий у больных острым коронарным синдромом с подъемом сегмента ST, подвергшихся чрескожным коронарным вмешательствам / Барбараш Л.С. [и др.] // Кардиология. – 2010. - №7. – С. 15-20.
4. Роль матриксных металлопротеиназ в оценке прогноза у больных инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST в период пребывания в стационаре / Печерина Т.Б. [и др.] // Кардиология. – 2013. - №6. – с. 18-24.
5. Савченко А.П., Черкавская О.В., Руденко Б.А., Болотов П.А. Интервенционная кардиология. Коронарная ангиография и стентирование. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2010.
6. Шахнович, Р. М. Маркеры воспаления и ОКС / Р. М. Шахнович, А.Б. Басинкевич // Кардиология СНГ. 2005. - Т. 3, № 1. - С. 59-61.
7. Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel / Mega J.L. [et al.] // N Engl J Med. – 2009. – 360. –Р. 354-62.
8. Endotelial atheroprotective and anti-inflammatory mechanisms / B. C. Berk, J. I. Abe, W. Min et al. // Ann N Y Acad Sci. 2001. - Vol. 947. - P. 93-109.
9. ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation / Ph. Gabriel Steg [et al.] //European Heart Journal. – 2012. – V. 33. – P. 2569–2619.
10. Genetic Determinants of Response to Clopidogrel and Cardiovascular Events / Tabassome S. [et al.] // N Engl J Med 2009;360:363-75.
11. Variability in individual responsiveness to clopidogrel. Clinical implications, management and future perspectives / Angiolillo D. [et al.] // J Am Coll Cardiol. – 2007. – Vol. 49. – P.1505-1516.