

*На правах рукописи*

**ЭВЕРСТОВА**

**Татьяна Егоровна**

**КЛИНИЧЕСКИЕ И ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ  
ВТОРИЧНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА**

3.1.24 – Неврология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Казань – 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Северо-Восточный федеральный университет имени М. К. Аммосова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

Научный руководитель: **Николаева Татьяна Яковлевна**  
доктор медицинских наук, доцент

Официальные оппоненты: **Шамалов Николай Анатольевич**  
доктор медицинских наук, профессор кафедры фундаментальной и клинической неврологии и нейрохирургии ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России  
**Прокопенко Семен Владимирович**  
доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой нервных болезней ФГБОУ ВО «КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России

Ведущее учреждение: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «\_\_\_\_»\_\_\_\_\_ 2023 г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании объединенного диссертационного совета 99.2.058.02 при ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России и ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России по адресу: 420012, г. Казань, ул. Бутлерова, 49.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России по адресу: 420012, г. Казань, ул. Бутлерова, 49, и на сайте организации: [www.kazangmu.ru](http://www.kazangmu.ru)

Автореферат разослан «\_\_\_\_»\_\_\_\_\_ 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
кандидат медицинских наук, доцент

Лапшина  
Светлана Анатольевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### **Актуальность темы исследования**

Проблема предупреждения острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) приобрела в последние десятилетия особую значимость, что связано с высокой заболеваемостью, смертностью и инвалидизацией после перенесенного инсульта (Гусев Е. И. и др., 2003; Скворцова В. И. и др., 2008; Allen C. L. et al., 2008). Среди ОНМК по всему миру преобладает ишемический инсульт (ИИ) (Cuisset T. et al., 2009; Шамалов Н.А. и др., 2019; Утеулиев Е.С. и др., 2017; Takahashi S. et al., 2008).

Для лечения атеротромботического варианта (АТВ) ИИ широко используются препараты ацетилсалicyловой кислоты (АСК), в частности, аспирин (Chen Z. M. et al., 2000; Feher G. et al., 2009; Скворцова В. И. и др., 2006). Неэффективность лечения аспирином, или клиническая резистентность, определяется как неспособность предотвратить рецидивирующие тромбоэмбolicкие ишемические явления (Algra A. et al., 1999; Костюченко Г. И., 2004). Аспиринорезистентность (AP) может быть обусловлена наследственными факторами.

Важнейшее значение для первичной и вторичной профилактики кардиоэмбolicкого варианта (КЭВ) ИИ имеют непрямые антикоагулянты. Наиболее широко в медицинской практике используется варфарин (Schwartz E. et al., 2003; Архипов В. В., 2019). Наиболее опасным в отношении возникновения геморрагических осложнений лечения варфарином является период инициации терапии. В этот период необходимо учитывать как клинические особенности заболевания и сопутствующую медикаментозную терапию, так и носительство определенных генотипов, влияющих на метаболизм антикоагулянтов (Парфенов В. А., 2012; Дерюгин М. В., 2015).

Несмотря на большое внимание к профилактике инсульта, вопросам вторичной профилактики с применением фармакогенетических исследований уделяется недостаточно внимания. При назначении антикоагулянтной и антиагрегантной терапии необходим персонифицированный подход с учетом

клинической ситуации, особенностей пациента, включая этническую принадлежность, и вариантов носительства генов, ассоциированных с чувствительностью к препарату.

**Цель исследования:** изучить особенности клинического течения, результатов фармакогенетического исследования у пациентов с ишемическим инсультом, получающих антикоагулянтную и антиагрегантную терапию, для разработки методов эффективной вторичной профилактики с учетом принципов персонализированной медицины.

**Задачи исследования:**

1. Изучить особенности клинических проявлений у пациентов с атеротромботическим и кардиоэмболическим вариантами ишемического инсульта в зависимости от предшествующей антиагрегантной и антикоагулянтной терапии.

2. Определить частоту встречаемости аспиринорезистентности среди пациентов с атеротромботическим вариантом ишемического инсульта в зависимости от этнической принадлежности по результатам показателей агрегации тромбоцитов.

3. Установить распределение носительства аллелей и генотипов полиморфизмов гена *GPIIIa* у пациентов с атеротромботическим вариантом ишемического инсульта.

4. Установить распределение носительства аллелей и генотипов *CYP2C9* и *VKORC1* у пациентов с кардиоэмболическим вариантом ишемического инсульта.

5. Изучить возможную ассоциацию риска геморрагической трансформации очага инфаркта мозга с носительством генотипов *CYP2C9* и *VKORC1* на фоне терапии непрямыми антикоагулянтами.

6. Определить связь носительства генотипов гена *VKORC1* с динамикой показателей гипокоагуляции на фоне приема непрямых антикоагулянтов.

**Научная новизна**

Впервые изучены особенности клинических проявлений у больных с ишемическим инсультом (атеротромботическим и кардиоэмболическим

вариантами) в зависимости от предшествующей антиагрегантной и антикоагулянтной терапии.

Установлено распределение носительства аллелей и генотипов *CYP2C9* и *VKORC1* у пациентов с кардиоэмболическим вариантом ишемического инсульта, получающих варфарин, а также полиморфизмов гена *GP IIIa* у пациентов с атеротромботическим вариантом ишемического инсульта, получающих аспирин.

Определена зависимость показателей медикаментозной гипокоагуляции от носительства генотипов *CYP2C9* и *VKORC1* у пациентов с кардиоэмболическим вариантом ишемического инсульта, получающих варфарин. В работе проанализированы показатели агрегометрии в зависимости от носительства генотипов *GP IIIa* у пациентов с атеротромботическим вариантом ишемического инсульта, получающих аспирин.

Разработан алгоритм вторичной профилактики тромбоэмбологических осложнений у пациентов с ишемическим инсультом (кардиоэмболическим и атеротромботическим вариантами) с учетом носительства полиморфизмов генов *CYP2C9*, *VKORC1* и *GP IIIa*.

### **Практическая и теоретическая значимость работы**

Полученные данные о фармакогенетических аспектах антикоагулянтной терапии у пациентов с кардиоэмболическим ишемическим инсультом могут быть использованы неврологами, кардиологами и терапевтами для выявления и формирования групп риска развития геморрагических осложнений.

Данные о выявленной аспиринерезистентности у пациентов с атеротромботическим вариантом ишемического инсульта могут быть использованы для выявления и формирования возможных групп риска развития повторных тромботических осложнений.

Знание фармакогенетических аспектов терапии ишемического инсульта может способствовать снижению количества нежелательных лекарственных реакций при применении прямых оральных антикоагулянтов (ПОАК) и препаратов ацетилсалициловой кислоты, возможных осложнений, развития повторного ОНМК, улучшению контроля над проводимой терапией.

Данное исследование может благоприятствовать повышению качества и безопасности терапии такими препаратами, как варфарин, у пациентов с кардиоэмболическим и аспирин у пациентов с атеротромботическим вариантами ишемического инсульта, а также внедрению генетического тестирования в рутинную клиническую практику с учетом принципов персонализированной медицины.

### **Методология и методы исследования**

Применялись клинический, инструментальный, молекулярно-генетический и статистический методы.

Объект исследования – пациенты с атеротромботическим и кардиоэмболическим вариантами ишемического инсульта, а также лица из группы контроля – всего 300 наблюдений.

Предмет исследования – клинические проявления, нейровизуализационные данные, гемореологические показатели, данные агрегометрии, результаты генотипирования.

### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Одним из значимых факторов риска развития атеротромботического варианта ишемического инсульта является отсутствие приема антиагрегантной терапии до заболевания. Среди пациентов кардиологического профиля значимо чаще встречается гастропатия как сопутствующая патология. Для лиц женского пола характерно более тяжелое течение кардиоэмболического варианта ишемического инсульта в сравнении с мужчинами.
2. Этническая принадлежность не влияет на развитие аспиринорезистентности. Риск развития аспиринорезистентности определяют заболевания печени различного генеза, нарушение углеводного обмена и меньшие дозы назначаемого антиагреганта. Показатели липидного спектра не были ассоциированы с риском развития аспиринорезистентности в исследованной группе пациентов.
3. Носительство генотипа A/G полиморфизма rs2317676 гена *GPIIIa* повышает риск развития аспиринорезистентности у пациентов с атеротромботическим вариантом ишемического инсульта.

4. Представители азиатской этнической группы среди пациентов с кардиоэмболическим вариантом ишемического инсульта быстрее достигают терапевтических значений международного нормализованного отношения (МНО) на фоне терапии варфарином.

5. Геморрагическая трансформация очага инфаркта мозга при кардиоэмболическом варианте ишемического инсульта зависит от носительства аллеля *CYP2C9\*2* и генотипа *CYP2C9\*1/\*2*, а также генотипа GG полиморфизма G3673A гена *VKORC1*.

6. Гипокоагуляция быстрее достигается при носительстве аллеля А полиморфизма G3673A гена *VKORC1*. Назначение антитромбоцитарной терапии должно основываться на данных фармакогенетических исследований.

### **Внедрение результатов исследования в практику**

Полученные результаты внедрены в лечебно-диагностический процесс неврологического отделения для больных с ОНМК Регионального сосудистого центра (РСЦ) Государственного бюджетного учреждения Республики Саха (Якутия) «Республиканская больница №2 – Центр экстренной медицинской помощи» (ГБУ РС(Я) «РБ№2-ЦЭМП») г. Якутска, а также используются в методике преподавания на кафедре неврологии и психиатрии Медицинского института Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова» Минобрнауки России (ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова»).

### **Апробация результатов исследования**

Основные положения диссертации были доложены на XXIII Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (Москва, 2016), National Youth Medical Forum (Якутск, 2016), Всероссийской научной конференции Национального молодежного медицинского форума (Якутск, 2017), Общеуниверситетской научной конференции студентов СВФУ (Якутск, 2018), Аспирантских чтениях «Северное сияние» в рамках X Конгресса с международным участием «Экология и здоровье человека на

Севере» (Якутск, 2019), III Всероссийской (с международным участием) конференции молодых ученых «Будущее неврологии» (Казань, 2019), V Всероссийской (с международным участием) Научной конференции молодых ученых «Будущее неврологии» (Казань, 2022), VII Всероссийской (с международным участием) Научной конференции молодых ученых «Будущее неврологии» (Казань, 2023).

**Личное участие автора в получении результатов** – выполнение планирования, организации и проведения клинико-неврологического осмотра, оценка нейровизуализационных, гемореологических и молекулярно-генетических исследований, статистическая обработка результатов, публикация материалов по теме диссертации.

**Публикации.** Автором опубликовано 7 статей по теме диссертации, из них 4 статьи опубликованы в рецензируемых научных журналах, определенных ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ.

### **Структура и объем диссертации.**

Диссертационная работа содержит введение, пять глав (обзор литературы, материалы и методы исследования, три главы по результатам собственных исследований), заключение, выводы, практические рекомендации, алгоритмы ведения пациентов, перспективы дальнейшей разработки темы, списки сокращений и условных обозначений, приложения. Диссертация изложена на 154 страницах машинописного текста, иллюстрирована 25 таблицами и 21 рисунком, 2 клиническими наблюдениями. Список литературы включает 162 источника, из них 47 отечественных и 115 зарубежных.

### **Ожидаемые результаты**

Данное исследование позволит значительно повысить качество и безопасность терапии такими препаратами, как варфарин, у пациентов с кардиоэмболическим и аспирин у пациентов с атеротромботическим вариантом ишемического инсульта. Появится возможность внедрения генетического тестирования в рутинную клиническую практику с учетом принципов персонализированной медицины. Увеличение количества и качества

фармакогенетических исследований может стать значительным подспорьем для врачей в принятии решений о назначении эффективной персонализированной антикоагулянтной и антиагрегантной терапии.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы исследования**

Исследование проведено на базе кафедры неврологии и психиатрии Медицинского института ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова» в г. Якутске. Набор пациентов проводился в РСЦ ГБУ РС(Я) «РБ№2-ЦЭМП». Экспериментальная часть проводилась в учебно-научной лаборатории «Геномная медицина» Клиники ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», а также в Центре персонифицированной медицины Государственного автономного учреждения Республики Саха (Якутия) «Республиканская клиническая больница №3» (ГАУ РС(Я) «РКБ №3»). Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова» (Протокол от 20.12.2018 г. №16).

В исследование были включены 100 больных с атеротромботическим вариантом ИИ, 100 больных с кардиоэмболическим вариантом ИИ и 100 человек группы контроля. Все обследуемые лица были поделены на две этнические группы – европеоиды и азиаты. В европеоидную этническую группу вошли русские, в азиатскую этническую группу - якуты, эвены и эвенки.

Объектом исследования выбрана совокупность больных ишемическим инсультом атеротромботического и кардиоэмболического вариантов, госпитализированных в РСЦ за период с 2013 по 2021 годы. Единица наблюдения – больной ИИ, образцы дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), показатель агрегометрии, история болезни. Критериями включения являлись: лица мужского и женского пола старше 18 лет, европеоидной и азиатской этнической группы, больные ИИ (АТВ и КЭВ), находящиеся на терапии препаратами АСК или антикоагулянтами (варфарин). Критерии исключения: геморрагический инсульт,

прием нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП), возраст младше 18 лет.

В качестве группы контроля в исследование вошли лица, госпитализированные в отделение терапии и кардиологии ГАУ РС(Я) «РКБ №3» и РСЦ ГБУ РС(Я) «РБ№2-ЦЭМП» соответственно. Критерием исключения было наличие ОНМК или острого коронарного синдрома на момент исследования, а также в анамнезе, прием НПВП, онкологические заболевания, заболевания крови, возраст младше 18 лет.

Методы обследования включали: неврологический и соматический осмотр, нейровизуализацию головного мозга, ультразвуковые исследования сердца, магистральных артерий головы, исследование коагулограммы, электрокардиограммы. Для оценки неврологического статуса использованы шкалы NIHSS, Glasgow, Рэнкин и Ривермид. Для пациентов с атеротромботическим вариантом ишемического инсульта дополнительно проведено исследование агрегации тромбоцитов с помощью ASPI-test.

Идентификация носительства аллельных вариантов генов *VKORC1* и *CYP2C9* проводилась с использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени (Real-Time PCR) с помощью реагентов «ГенТест CES1» (ООО «Номотек», Москва, Россия) на амплификаторе Real-Time CFX96 Touch (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA). Для полиморфизмов rs11871251/rs2317676 гена *GPIIIa* проводилась на амплификаторе в режиме «реального времени» CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System («Bio-Rad», США) с помощью реактивов наборов фирмы TaqMan SNP Genotyping Assays Applied Biosystems, Thermo Scientific (США).

**Статистический анализ** данных проведен с использованием пакета статистических программ SPSS Statistics 26. Были применены следующие методы статистического анализа: проверка соответствия распределения количественных переменных нормальному закону проводилась с помощью критериев Шапиро-Уилка и Колмогорова-Смирнова с коррекцией значимости по Лильефорсу. Описательные статистики количественных данных представлены в виде медианы

(Ме) и интерквартильного размаха (Q1-Q3). Сравнительный анализ количественных признаков в сравниваемых группах проводили с применением критерия Манна-Уитни. При сравнении частот признаков в сравниваемых группах применяли критерий Пирсона  $\chi^2$ , точный 2-сторонний критерий Фишера. Определялись отношение шансов (ОШ), 95% доверительный интервал (95% ДИ). Критическое значение уровня статистической значимости различий ( $p$ ) принималось равным 5%.

## **Результаты.**

В исследовании приняли участие 100 пациентов с атеротромботическим вариантом ишемического инсульта и 100 человек группы контроля. Среди больных было 69 представителей азиатской этнической группы (69%) и 31 представитель европеоидной (31%), среди группы контроля – 61 азиат (61%) и 39 европеоидов (39%). Медиана возраста участников исследования из группы больных составила 63,6 (57; 68) лет, из группы контроля 65,5 (57; 71) лет. Средний возраст мужчин в обеих группах составил  $62,9 \pm 10,09$  лет, женщин  $67,4 \pm 10,38$  лет ( $p=0,113$ ). Средний возраст лиц азиатской этнической группы составил  $65,0 \pm 10,97$  лет, европеоидной –  $63,6 \pm 9,22$  лет ( $p=0,443$ ). Таким образом, группы были сопоставимы по полу и возрасту.

Для пациентов с АТВ ИИ из факторов риска чаще встречались курение, злоупотребление алкоголем, сахарный диабет (СД) и наследственная предрасположенность, но различия не достигли достоверных значений. Злоупотребление алкоголем статистически значимо чаще встречалось в группе пациентов с ИИ в сравнении с группой контроля ( $p=0,030$ ; ОШ=3,093; 95% ДИ: 1,069-8,945).

Среди сопутствующих заболеваний в группе больных гастропатия имелась у 12 человек (12%), из них трое (3%) принимали аспирин до заболевания. По этническому распределению было 6 азиатов и 6 европеоидов. В группе контроля гастропатия имелась у 65 человек (65%), из них ранее АСК принимали 39 человек (39%). Среди исследуемых контролей с гастропатией был 41 азиат (41%) и 24 европеоида (24%). Частое развитие гастропатии в группе контроля ( $p <0,001$ ),

вероятно, было связано с более частыми случаями приема антиагрегантов в анамнезе ( $p <0,001$ ).

В группе больных на фоне приема АСК в стандартной дозе 125 мг/сут отсутствие терапевтического эффекта, следовательно, наличие АР было выявлено у 5 человек. Показатели их агрегации тромбоцитов были выше 115 U. Среди них было 4 мужчин и 1 женщина. Все они принадлежали к азиатской этнической группе. В группе контроля отсутствие терапевтического эффекта от приема АСК в стандартной дозе было зарегистрировано у 10 человек. Среди них было 9 мужчин и 1 женщина. 9 человек оказались представителями азиатской этнической группы, причем 8 из них были мужчинами.

Представители европеоидной этнической группы в данном исследовании имели низкие показатели агрегации тромбоцитов ( $50,13\pm33,75$  U у европеоидов против  $63,8\pm37,36$  U у азиатов), следовательно, были более склонны к развитию геморрагических осложнений, нежели азиаты.

В соответствии с полученными данными по агрегации тромбоцитов участники из группы больных были поделены на две подгруппы: в 1 подгруппу вошли пациенты с низкой агрегацией тромбоцитов (показатель ASPI-test ниже 71 U,  $n = 60$ ), во 2 подгруппу – пациенты с нормальной и высокой агрегацией тромбоцитов (показатель ASPI-test выше 71 U,  $n = 40$ ).

Не было обнаружено зависимости между развитием АР и этнической принадлежностью ( $p = 0,052$ ). Сравнительный анализ частот таких признаков как курение ( $p = 0,585$ ), злоупотребление алкоголем ( $p = 0,158$ ), перенесенный в анамнезе инсульт ( $p = 0,656$ ), прием антиагрегантных препаратов в анамнезе ( $p = 0,405$ ) также не имели статистически значимых различий между исследуемыми группами. Однако выявлена связь между наличием СД и высокими показателями агрегометрии: в группе пациентов с низкой агрегацией тромбоцитов частота заболевания СД статистически значимо ниже, чем в группе с нормальной и высокой агрегацией тромбоцитов ( $p=0,042$ ; ОШ=0,412; 95% ДИ: 0,173-0,979).

Из сопутствующих заболеваний для риска АР имели значение заболевания печени. Так, гепатиты различной этиологии были установлено в группе с низкой

агрегацией в 20% случаев, в то время как в группе с высокой агрегацией - в 80% случаев ( $p = 0,001$ ; ОШ=0,123; 95% ДИ: 0,032-0,471).

Большое значение имела доза назначенного в стационаре антиагреганта. В группе пациентов с низкой агрегацией тромбоцитов в 100% случаев доза АСК составила 125 мг/сут ( $n=60$ ), в то время как в группе без должного снижения агрегации тромбоцитов 70% лиц получали 125 мг/сут ( $n=28$ ), 30% - 100 мг/сут ( $n=12$ ) ( $p < 0,001$ ; ОШ=0,318; 95% ДИ: 0,234-0,432).

Показатели липидного спектра не были ассоциированы с риском развития АР. В группе больных с низкой агрегацией тромбоцитов уровни холестерина (ХС=4,80 [3,80; 5,70]), липопротеидов низкой (LDL=3,17 [2,31; 1,06]) и высокой плотности (HDL=1,10 [0,86; 1,32]) были статистически значимо выше, чем в группе с нормальной и высокой агрегацией ( $p = 0,010$ ;  $p = 0,034$ ;  $p = 0,021$  соответственно).

В результате генотипирования было выявлено, что при исследовании распределения аллелей и генотипов гена *GPIIIa* полиморфизма rs2317676 в группе больных 11% были носителями мутантного аллеля G, 89% – аллеля A. Генотип A/G был выявлен у 14 больных (14%), G/G – 4 (4%), A/A – 82 (82%). Среди лиц азиатской этнической группы аллель G наблюдался в 13,8% случаев, у европеоидов – в 4,8%. Встречаемость аллеля A среди азиатов составила 86,2%, среди европеоидов – 95,2%. Пациенты азиатской этнической группы в 5,8% случаев были гомозиготами по мутантному аллелю G, среди европеоидов данный генотип не встречался.

При исследовании распределения аллелей и генотипов полиморфизма rs11871251 гена *GPIIIa* в группе больных установлено, что 23% из них были носителями мутантного аллеля A, 77% - аллеля G. Генотип G/A был выявлен у 38 пациентов (38%), A/A – 4 (4%), G/G – 58 (58%). Среди лиц азиатской этнической группы доля носителей мутантного аллеля A составила 29,7% и 8,1% у европеоидов. Носительство аллеля G среди азиатов составило 70,3%, среди европеоидов – 91,9%. Пациенты азиатской этнической группы были в 5,8% случаев гомозиготами по мутантному аллелю A, среди европеоидов данный генотип не

встречался. Таким образом, гомозиготами по мутантным аллелям обоих полиморфизмов гена *GP IIIa* оказывались лица азиатской этнической группы.

В группе контроля ( $n=100$ ) при исследовании распределения аллелей и генотипов гена *GP IIIa* полиморфизма rs2317676 установлено, что 14,5% пациентов были носителями мутантного аллеля G, 85,5% - аллеля A. Генотип A/G был выявлен у 5 человек (5%), G/G – 12 (12%), A/A – 83 (83%). Среди лиц азиатской этнической группы мутантный аллель G наблюдался в 15,6% случаев, у европеоидов – в 12,8%. Встречаемость аллеля A среди азиатов составила 84,4%, среди европеоидов – 87,2%. Пациенты азиатской этнической группы в 11,5% случаев были гомозиготами по мутантному аллелю G, среди европеоидов – в 12,8%.

При исследовании распределения аллелей и генотипов полиморфизма rs11871251 гена *GP IIIa* в группе контроля установлено, что 24,5% человек были носителями мутантного аллеля A, 75,5% – аллеля G. Генотип G/A был выявлен у 41 исследуемого (41%), A/A – 4 (4%), G/G – 55 (55%). Среди лиц азиатской этнической группы доля носителей аллеля A составила 27% против 20,5% у европеоидов. Пациенты азиатской этнической группы были в 4,9% случаев гомозиготами по аллелю A, европеоиды – в 2,6%.

Таким образом, в группе контроля гомозиготами по мутантному аллелю G полиморфизма rs2317676 гена *GP IIIa* чаще оказывались лица европеоидной этнической группы (12,8%). Что касается полиморфизма rs11871251, то в этом случае гомозиготами по мутантному аллелю A чаще оказывались лица азиатской этнической группы (4,9%).

Сравнительный анализ распределения частот носительства генотипов полиморфизма rs2317676 (A>G) гена *GP IIIa* у группы больных и лиц контрольной группы в зависимости от этнической принадлежности не выявил статистически значимых различий: A/G ( $p = 0,065$ ), G/G ( $p = 0,743$ ), A/A ( $p = 0,097$ ).

Развитие АР ассоциировано с носительством полиморфного варианта rs2317676 гена *GP IIIa*. Частота носительства генотипа A/G полиморфизма rs2317676 гена *GP IIIa* статистически значимо ниже среди лиц с низкой агрегацией

тромбоцитов в сравнении с лицами с высокой агрегацией тромбоцитов ( $p = 0,023$ ; ОШ=0,33; 95% ДИ: 0,13-0,89). Частоты генотипов G/G ( $p = 0,083$ ) и A/A ( $p = 0,606$ ) не имели значимых различий между группами с низкой и высокой агрегацией тромбоцитов. Таким образом, частота носительства генотипа A/G полиморфизма rs2317676 гена *GP IIIa* статистически значимо ниже среди лиц с низкой агрегацией тромбоцитов в сравнении с лицами с высокой агрегацией тромбоцитов.

В настоящее исследование также было включено 100 пациентов с кардиоэмболическим вариантом ишемического инсульта, в том числе 54 мужчины (54%) и 46 женщин (46%). Средний возраст обследованных мужчин составил  $64,2 \pm 9,6$  лет, женщин –  $72,5 \pm 12$  лет ( $p < 0,001$ ). Распределение по этнической группе было следующим: представители европеоидной этнической группы – 46 человек (46%), азиатской – 54 (54%) человека. Средний возраст представителей азиатской этнической группы составил  $66,6 \pm 12,3$  лет, европеоидной –  $69,7 \pm 10,5$  лет ( $p=0,185$ ).

Наиболее частым показанием к приему варфарина явилась фибрилляция предсердий (ФП) (86%), на втором месте – сочетание ФП и протезированных клапанов сердца (ПКС) (10%), на третьем – ПКС (4%). При этом у лиц азиатской этнической группы чаще были клапанные пороки сердца ( $p=0,033$ ).

Постоянная форма ФП диагностирована у 78 человек (78%), персистирующая – 10 (10%), пароксизмальная – 8 (8%). Впервые выявленная и длительно персистирующая формы не диагностированы. В зависимости от варианта ФП выделены следующие формы: тахисистолический – у 61 больных (61%), нормосистолический – у 34 больного (34%), брадисистолический – у 1 (1%).

До заболевания инсультом 40 пациентов принимали варфарин (40%), 21 человек (21%) принимал АСК, 13 человек (13%) принимали ПОАК ( rivaroxaban, dabigatran), 26 человек (26%) не принимали антитромботическую терапию.

При исследовании распределения аллелей и генотипов гена *CYP2C9* установлено, что 84% пациентов были носителями аллеля *CYP2C9\*1*, 7,5% — аллеля *CYP2C9\*2*, 8,5% — *CYP2C9\*3*. Генотип *CYP2C9\*1/\*1* был выявлен у 69 (69%) пациентов, *CYP2C9\*1/\*2* (13%), *CYP2C9\*1/\*3* (17%), *CYP2C9\*2/\*2* (1%). Генотипы *CYP2C9\*2/\*3*, *CYP2C9\*3/\*3* в данном исследовании не встречались.

Среди лиц азиатской этнической группы аллель *CYP2C9\*1* наблюдался статистически значимо чаще ( $p=0,006$ ). Соответственно в этой группе доля гомозигот по данному аллелю была статистически значимо выше, чем среди европеоидов ( $p=0,009$ ).

В целом, в группе носителями аллеля А гена *VKORC1* являются 70% пациентов. Генотип AA установлен у 48% пациентов, AG – у 44%, GG – 8% соответственно.

Среди лиц азиатской этнической группы доля носителей аллеля А составила 85,2% против 52,2% у европеоидов ( $p <0,001$ ). Пациенты азиатской этнической группы были в 75,9% случаев гомозиготами по аллелю А, доля гетерозигот составила 18,5%, гомозигот по аллелю G - 5,6%. Среди пациентов европеоидной этнической группы аналогичные показатели составили 15,2%; 73,9%; 10,9% соответственно ( $p <0,001$ ).

На фоне терапии варфарином при ФП показатель МНО достиг целевого уровня (2,0-3,0) у 16 человек из 100 (16%). Среди пациентов с ФП, у которых в ходе применения варфарина был достигнут терапевтический диапазон МНО, наиболее быстро (менее 7 суток) данный показатель был получен у представителей азиатской этнической группы. У всех пациентов, имевших показатель МНО более 2,0 в период до 7 суток, определено носительство 1 или 2 аллелей А полиморфизма G3673A гена *VKORC1*. В отношении гена *CYP2C9* такой закономерности не выявлено. У пациентов с протезированными клапанами сердца терапевтический уровень МНО достигался в основном не ранее 5 суток терапии варфарином.

Кроме того, были изучены факторы риска геморрагической трансформации при кардиоэмболическом варианте ишемического инсульта. Пациентам была назначена или продолжена антикоагулянтная терапия варфарином ( $n=44$ , 44%), препаратами ПОАК –  $n=54$  (54%), антиагрегантами –  $n=2$  (2%). В соответствии с этим распределением все пациенты были разделены на 2 группы (группа варфарина и группа, получавшая другие препараты). Медианное значение МНО при поступлении в этих группах не различалось и составило 1,0 (1,0-1,4),  $p = 0,596$ . Средняя доза варфарина в обследуемой группе составила  $3,5 \pm 1,1$  мг.

Нейровизуализация в динамике (магнитно-резонансная томография (МРТ) головного мозга) была проведена в 75 случаях. Из них в 17 случаях выявлена геморрагическая трансформация (ГТ), в том числе в виде микрокровоизлияний в 7 случаях, внутримозговых гематом – в 10 .

Среди пациентов, получавших варфарин в стационаре (n=44), МРТ проведено у 30, ГТ была диагностирована в 8 случаях (26,7%). В группе пациентов, не получавших варфарин (n=56), в 9 из 45 (20%) проведенных МРТ была обнаружена ГТ. Статистически значимых различий в частоте ГТ между данными группами пациентов выявлено не было ( $p=0,499$ ).

Исходная оценка по шкале NIHSS в группах не различалась, хотя в группе с ГТ наблюдалась тенденция более высоких значений баллов, соответствующих верхнему квартилю распределения. Доля пациентов с оценкой 20 баллов и более составила 35,3% в группе ГТ против 8,6% у пациентов без ГТ ( $p=0,002$ ). При выписке в группе с ГТ доля пациентов с оценкой 11 и более баллов по шкале NIHSS составила 33,4% против 16,3% в группе без ГТ, но различия не достигали уровня статистически значимых из-за малого размера группы с ГТ.

По шкале Glasgow распределение баллов в группах не различалось, но при выписке доля пациентов с оценкой 14 и менее баллов составила 33,3% против 14,5% в группе без ГТ. Таким образом, в дебюте заболевания среди пациентов с ГТ доля лиц с высокими баллами по шкале NIHSS была больше, чем в группе без ГТ.

Не установлено статистически значимых различий в распределении аллелей и генотипов полиморфных маркеров гена *CYP2C9* между группами ( $p>0,05$ ). В группе с ГТ доля носителей аллеля G полиморфных маркеров G3673A гена *VKORC1* была статистически значимо выше ( $p=0,003$ ), как и носительство генотипа G3673A GG ( $p=0,001$ ).

Далее рассматривалась группа лиц, получавших варфарин в стационаре. Из 30 лиц с проведенной нейровизуализацией (МРТ) ГТ была выявлена у 8. При сравнении групп с ГТ и без ГТ, получавших варфарин в стационаре, установлено, что среди лиц с ГТ доля носителей аллелей *CYP2C9\*1* и *CYP2C9\*2* была выше, чем среди пациентов без ГТ. Соответственно в этой группе была больше доля лиц с

генотипами *CYP2C9\*1/\*1*, *CYP2C9\*1/\*2* ( $p=0,043$ ). Следует учитывать малые размеры групп, которые могут привести к неустойчивости результатов статистической оценки.

Пациенты с ГТ чаще были носителями аллеля G гена *VKORC1* ( $p=0,004$ ), а также генотипа G3673A GG ( $p=0,002$ ). Из числа 44 лиц, получавших варфарин в стационаре, МНО достигло «терапевтического уровня» у 26 пациентов (тМНО). Среди этих пациентов – среднее время достижения тМНО –  $8,46 \pm 4,02$  суток. У 2 пациентов уровень МНО был на должном уровне со дня поступления. У 16 не удалось достигнуть «терапевтического уровня». Не выявлено зависимости ГТ от уровня МНО в дебюте заболевания ( $p=0,709$ ).

Сравнительный анализ частоты ГТ между группами нормальной чувствительностью (НЧ) и патологической чувствительностью (ПЧ) показал, что в группе с ПЧ частота ГТ была меньше, чем в группе с НЧ (14,9% против 43,5%,  $p=0,015$ ). Не выявлено зависимости ГТ от уровня МНО в дебюте заболевания ( $p=0,709$ ). ГТ возникала вне зависимости от уровня МНО, но у пациентов с более тяжелым течением заболевания, с обширной зоной ишемии.

На основе полученных данных разработаны алгоритмы вторичной профилактики ишемического инсульта (рисунки 1 и 2).



Рисунок 1 – Алгоритм ведения пациентов с атеротромботическим вариантом ишемического инсульта

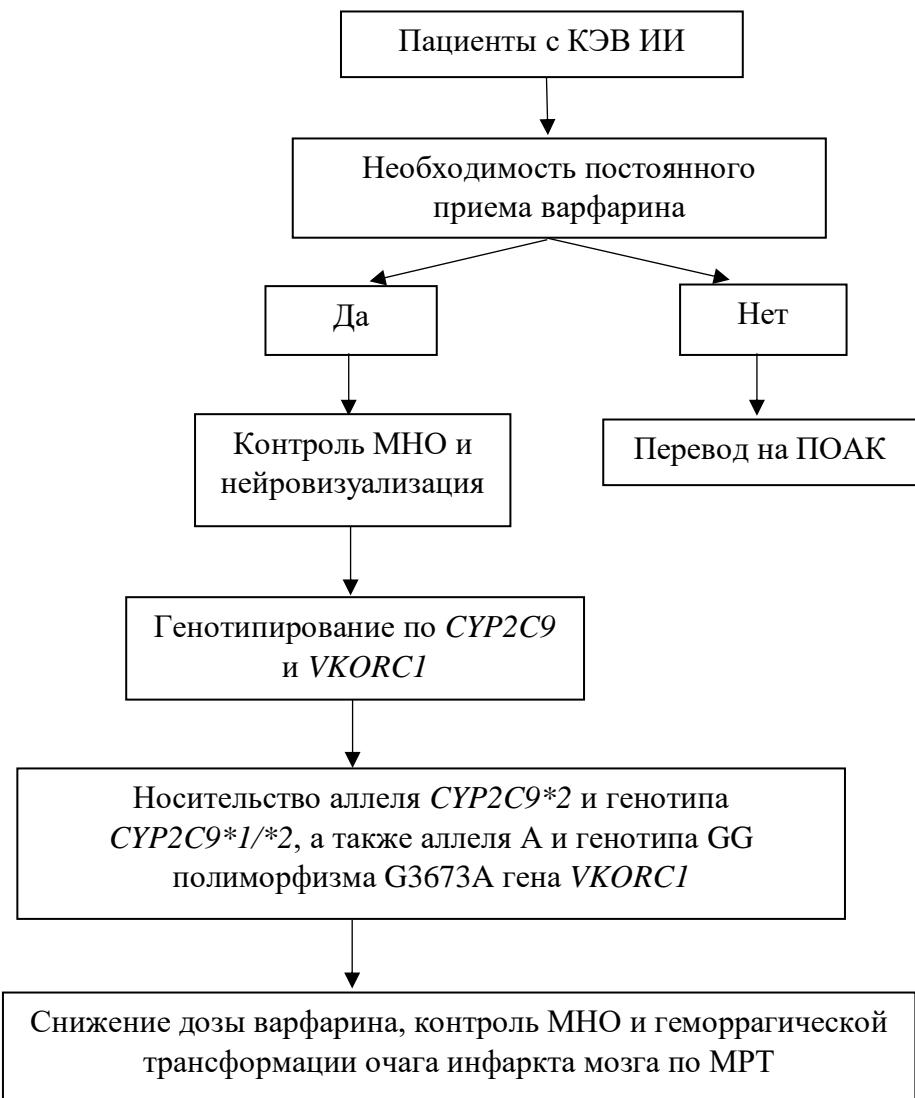


Рисунок 2 – Алгоритм ведения пациентов с кардиоэмболическим вариантом ишемического инсульта

## ВЫВОДЫ

1. Тяжесть клинических проявлений при инсульте в данном исследовании была обусловлена гендерными различиями. Так, в дебюте заболевания при атеротромботическом ишемическом инсульте у женщин были выше показатели по NIHSS ( $p=0,012$ ). Кроме того, имели значение такие факторы, как отсутствие приема антиагрегантов до заболевания ( $p<0,001$ ), а также наличие сопутствующей патологии ( $p<0,001$ ).
2. Не выявлено зависимости между развитием аспиринорезистентности и этнической принадлежностью. Пациенты европеоидной и азиатской этнических групп имеют одинаковый риск развития аспиринорезистентности ( $p=0,052$ ).

Предикторами аспиринорезистентности являются заболевания печени ( $p=0,001$ ), наличие сахарного диабета ( $p=0,042$ ), а также меньшая доза назначаемого антиагреганта ( $p < 0,001$ ).

3. Развитие аспиринорезистентности в группе пациентов с атеротромботическим инсультом ассоциировано с носительством генотипа A/G полиморфного варианта rs2317676 гена *GPIIIa* ( $p = 0,024$ ; ОШ=0,33; 95% ДИ: 0,13-0,89).

4. У пациентов с кардиоэмболическим инсультом терапевтический уровень гипокоагуляции на фоне терапии варфарином достигался в более ранние сроки у представителей азиатской этнической группы ( $n=20$ ) в сравнении с европеоидной ( $n=6$ ).

5. При кардиоэмболическом варианте ишемического инсульта носительство аллеля *CYP2C9\*2* и генотипа *CYP2C9\*1/\*2* ( $p=0,043$ ), а также генотипа GG полиморфизма G3673A гена *VKORC1* ( $p=0,002$ ) ассоциировано с риском ранней геморрагической трансформации кардиоэмболического инсульта.

6. Носительство аллеля A полиморфизма G3673A гена *VKORC1* ассоциировано с быстрой динамикой показателей гипокоагуляции. Подбор препаратов для антикоагулянтной и антиагрегантной терапии должен быть персонализирован с учетом данных фармакогенетических исследований.

### **Практические рекомендации**

1. Врачам первичного звена здравоохранения необходимо проводить измерение агрегации тромбоцитов у пациентов при назначении препаратов ацетилсалициловой кислоты. При выявлении высоких результатов агрегометрии необходимо проводить замену препаратов ацетилсалициловой кислоты на антиагреганты с другим механизмом действия.

2. Врачам первичного звена здравоохранения рекомендуется проводить фармакогенетическое исследование всем пациентам с ФП и ПКС, а также сочетанием того и другого в анамнезе, нуждающихся в пожизненной терапии Варфарином, для эффективной вторичной профилактики и предупреждения геморрагических осложнений. В случае выявления патологических аллелей

пациентам должно быть пересмотрено лечение, в частности, коррекция дозы препарата терапевтами или кардиологами.

3. Пациентам, перенесшим ишемический инсульт – носителям патологических аллелей генов *CYP2C9* и *VKORC1* – в период инициации терапии Варфарином необходимо учитывать этническую принадлежность пациента, а также проводить контроль МРТ в динамике для выявления осложнений в виде геморрагической трансформации ишемического очага головного мозга.

4. В практике врачей стационаров необходимо использовать алгоритм вторичной профилактики тромбоэмболических осложнений у пациентов с ишемическим инсультом (кардиоэмболическим и атеротромботическим вариантами) с учетом носительства полиморфизмов генов *CYP2C9*, *VKORC1* и *GPIIIa*.

### **Перспективы дальнейшей разработки темы исследования**

В связи с полученными данными о частой встречаемости аспиринорезистентности у лиц, находящихся на терапии антиагрегантными препаратами, представляется перспективным более углубленное изучение данного феномена. Особый интерес вызывают популяционные исследования полиморфных аллельных вариантов A842G (rs10306114) и C50T (rs3842787) гена *COX-1*, а также полиморфного варианта PIAl/A2 гена *GPIIIa*.

### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Эверстова, Т. Е. Фармакогенетические аспекты вторичной антикоагулянтной профилактики кардиоэмболического инсульта в зависимости от расовой принадлежности / Т. Е. Эверстова // Ломоносов-2015: материалы международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных. – Москва, 2015. – С. 1-2.
2. Эверстова, Т. Е. Фармакогенетические аспекты терапии варфарином у больных кардиоэмболическим инсультом в разных этнических группах / Т. Е. Эверстова // Санкт-Петербургские научные чтения – 2015: сборник тезисов VI международного молодёжного медицинского конгресса. – Санкт-Петербург, 2015. – С. 211.

3. Эверстова, Т. Е. Сравнительный анализ прогностической значимости носительства вариантов генов CYP2C9 и VKORC1 для антикоагулянтной терапии кардиоэмболического инсульта / Т. Е. Эверстова // Ломоносов-2016: материалы международного молодежного научного форума. – Москва, 2016. – С. 2.
4. Этнические особенности носительства сочетаний генотипов CYP2C9 и VKORC1 среди пациентов с кардиоэмболическим ишемическим инсультом / Т. Е. Эверстова, Т. Я. Николаева, С. А. Чугунова [и др.] // Consilium Medicum. – Москва, 2020. – Т. 22, № 2. – С. 10-13. – DOI: 10.26442/20751753.2020.2.200033.
5. Эверстова, Т. Е. Проблемы резистентности к ацетилсалициловой кислоте в профилактике ишемического инсульта (обзор литературы) / Т. Е. Эверстова, Т. Я. Николаева // Сибирское медицинское обозрение. – 2020. – № 3. – С. 47-53. – DOI: 10.20333/2500136-2020-3-47-53.
6. Эверстова, Т. Е. Предикторы аспиринорезистентности у пациентов с ишемическим инсультом / Т. Е. Эверстова, Т. Я. Николаева, С. А. Чугунова // Забайкальский медицинский вестник. – 2022. – № 2. – С. 24-33. – DOI: 10.52485/19986173\_2022\_2\_24.
7. Эверстова, Т. Е. Генетические механизмы аспиринорезистентности у пациентов с атеротромботическим вариантом ишемического инсульта / Т. Е. Эверстова, Т. Я. Николаева, С. А. Чугунова // Практическая медицина. – 2022. – Т. 20, № 5. – С. 103-108. – DOI: 10.32000/2072-1757-2022-5-103-108.

#### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АР – аспиринорезистентность

АСК – ацетилсалициловая кислота

АТВ – атеротромботический вариант

ВАК – Высшая аттестационная комиссия

ГАУ РС(Я) «РКБ №3» - Государственное автономное учреждение Республики Саха (Якутия) «Республиканская клиническая больница №3»

ГБУ РС(Я) «РБ №2-ЦЭМП» – Государственное бюджетное учреждение Республики Саха (Якутия) «Республиканская больница №2 – Центр экстренной медицинской помощи»

ГТ – геморрагическая трансформация

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИИ – ишемический инсульт

КЭВ – кардиоэмболический вариант

МНО – международное нормализованное отношение

МРТ – магнитно-резонансная томография

НПВП – нестериоидные противовоспалительные препараты

НЧ – нормальная чувствительность

ОНМК – острые нарушения мозгового кровообращения

ПКС – протезированные клапаны сердца

ПОАК – прямые оральные антикоагулянты

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ПЧ – патологическая чувствительность

РСЦ – региональный сосудистый центр

РФ – Российская Федерация

СД – сахарный диабет

ФП – фибрилляция предсердий

ХС – холестерин

HDL – high-density lipoprotein (липопротеин высокой плотности)

LDL – low-density lipoprotein (липопротеин низкой плотности)