

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РИСКА ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА И ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИТРОМБОТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Канд. мед. наук О. Е. ЗАПРОВАЛЬНАЯ

ГУ «Национальный институт терапии им. Л. Т. Малой НАМН Украины», Харьков, Украина

Исследована встречаемость мутантных аллелей полиморфизма С50Т гена PTGS1 и полиморфизма Т1565С гена ITGB3, а также их связь с аспиринорезистентностью и течением ишемической болезни сердца (ИБС). Показано, что наличие мутантных аллелей достоверно связано с патогенетическими факторами ИБС и повышает риск развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, аспиринорезистентность, полиморфизм генов.

Знание генетических факторов, предрасполагающих к развитию заболевания и его осложнений, может иметь важное прогностическое значение и использоваться как до появления каких-либо клинических или биохимических симптомов болезни, так и при выборе препаратов и методов лечения. При этом для каждого конкретного заболевания можно выделить группу так называемых генов-кандидатов, продукты которых могут быть прямо или косвенно вовлечены в патологический процесс. Исследование генетической составляющей многофакторных заболеваний включает поиск полиморфных маркеров в генах, способных вносить вклад в развитие болезни, и проявляется в достоверной разнице частоты определенного генотипа этого маркера у больных и здоровых лиц одной и той же популяции.

Установление связи гена с заболеванием и дальнейшая оценка индивидуального генетического риска имеют важное значение для разработки дифференцированного подхода к профилактике и лечению той или иной патологии в зависимости от наследственной предрасположенности конкретного пациента. Подобные исследования позволяют прогнозировать генетический риск развития заболевания и его течение. Среди таких генов-кандидатов особого внимания заслуживают гены системы гемостаза, которые играют значительную роль в возникновении и прогрессировании сердечно-сосудистых заболеваний [1–3].

Изучение аллельного полиморфизма генов системы гемостаза у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС), а также у здоровых лиц популяции в целом позволило найти аллели, которые в разной степени ассоциированы с предрасположенностью к развитию этого заболевания в различных этнических группах [2, 4–7]. Результаты недавних исследований подтверждают, что эффективность антитромботической терапии, в том числе вариабельность ответа на ацетилсалициловую

кислоту (АСК, аспирин), может зависеть от полиморфизмов генов тромбоцитарных гликопротеиновых рецепторов (GP) и циклооксигеназы-1 (ЦОГ-1) [7–10].

Особое внимание привлекает промоторный полиморфизм ЦОГ-1, непосредственно связанный с повышенным агрегационным ответом тромбоцитов на арахидоновую кислоту и высоким уровнем тромбоксана А2 на фоне приема АСК. Частота встречаемости данного полиморфизма, по данным литературы, варьирует от 17% у чувствительных к АСК больных до 60% у аспиринорезистентных пациентов [11].

Есть сведения о возможном участии в резистентности к АСК полиморфизма тромбоцитарных рецепторов GP IIIa [12–15], однако результаты этих исследований противоречивы и касаются других этнических групп, а потому вопрос о генетической составляющей тромботического риска в нашей популяции остается открытым.

Цель исследования — изучение частоты встречаемости вариантов полиморфизма С50Т гена ЦОГ-1 (PTGS1) и Т1565С гена тромбоцитарного рецептора IIIa (GPIIIa, ITGB3) у пациентов с ИБС, определение связи аллельного полиморфизма данных генов с патогенетическими факторами и течением данного заболевания.

Основную группу составили 173 пациента в возрасте от 35 до 75 лет (средний возраст — 58,2±0,7 года) с хроническими формами ИБС (стабильная стенокардия напряжения, постинфарктный кардиосклероз), получавшие стандартную терапию (ингибиторы АПФ, статины, бета-блокаторы) и АСК в дозе 75–100 мг. В группу контроля были включены 28 практически здоровых лиц, достоверно не отличавшихся по возрасту от больных основной группы. В соответствии с требованиями Хельсинской декларации все пациенты дали информированное согласие на участие в исследовании и определении полиморфизма указанных генов.

Таблица 1

Клиническая характеристика включенных пациентов основной группы

Показатель	Количество пациентов	
	абс. ч.	%
Мужчины	146	84,6
Женщины	27	15,4
Артериальная гипертензия	125	72,1
Инфаркт миокарда в анамнезе	102	59,1
Курение	44	25,5
Транскутанное вмешательство в анамнезе	17	9,6
Аортокоронарное шунтирование в анамнезе	16	9,1
Сахарный диабет 2-го типа	28	16,3
Ожирение (индекс массы тела > 30 кг/м ²)	15	8,7

При включении в исследование по клиническим характеристикам пациентов (табл. 1) определялись гематологические и биохимические параметры, липидный спектр крови, метаболические показатели, уровень эндотелиальной дисфункции (сывороточный уровень нитритов и нитратов (NO₂ + NO₃)) и оксидативного стресса (малоновый диальдегид (МДА) и сульфгидрильные группы (SH)). Агрегационная активность тромбоцитов оценивалась с помощью их индуцированной агрегации с использованием в качестве индукторов АДФ (1×10⁻⁵ моль/л) и арахидоновой кислоты (1 ммоль/л), а также по уровню метаболита тромбоксана (11-дегидро-тромбоксан В2) в моче.

Исследование аллельного полиморфизма С50Т гена PTGS1 (референтный SNP (*rs*) 3842787) и Т1565С гена тромбоцитарного рецептора ITGB3 (*rs* 5918) проводили методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом длины рестрикционных фрагментов. ДНК для молекулярно-генетических исследований выделяли из цельной крови при помощи набора реактивов GeneJet WholeBlood Genomic DNA Purification MiniKit (Fermentas, Литва). Амплификацию осуществляли с использованием наборов реактивов GenePak PCR Core (Neogene, Украина) и соответствующих каждому из полиморфизмов специфических праймеров (Fermentas, Литва). Для рестрикции амплификатов PTGS1 использовали эндонуклеазу Faul («СибЭнзим», РФ), для ITGB3 – MspI (Fermentas, Литва). Рестрикты разделяли методом горизонтального электрофореза в агарозном геле, окрашенном этидиумом бромидом, с последующей визуализацией в ультрафиолетовом свете и фотографиями.

Статистическая обработка полученных данных проведена при помощи пакета статистических

программ Statistica 8.0. При нормальном распределении для сравнения средних двух выборок использовали *t*-критерий Стьюдента, их отличия считали достоверными при $p < 0,05$. Для оценки возможного влияния изучаемых полиморфных маркеров на вероятность развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий рассчитывали отношение шансов (ОШ) с доверительным интервалом (ДИ) 95%.

Анализ полученных результатов в группе обследованных лиц, проживающих на территории Харьковского региона, установил, что частота встречаемости дикой (нормальной) и мутантной аллелей полиморфизма С50Т гена PTGS1 в целом составила 0,934 для С-аллели и 0,07 – для Т-аллели, распространенность Т- и С-аллелей полиморфизма Т1565С гена ITGB3 – 0,836 и 0,164 соответственно (табл. 2). Полученные данные свидетельствуют о равновесии Харди – Вайнберга и существенно не отличаются от средних показателей европейской популяции для каждого из полиморфизмов [7]. Ввиду незначительной распространенности среди обследованных лиц указанных полиморфизмов при последующем анализе носители гетерозиготного и мутантного гомозиготного генотипов были объединены в одну статистическую группу.

Количество мутантных генотипов в группе ИБС было выше, чем в группе контроля, в то же время эта разница не достигала достоверных значений, что можно объяснить небольшим числом наблюдений.

Для определения значимости полиморфизма указанных генов для развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий (НССС) нами оценивалось количество конечных сердечно-сосудистых случаев (сердечно-сосудистая смертность + нефатальный инфаркт миокарда / нестабильная стенокардия), произошедших в основной группе пациентов в течение периода наблюдения.

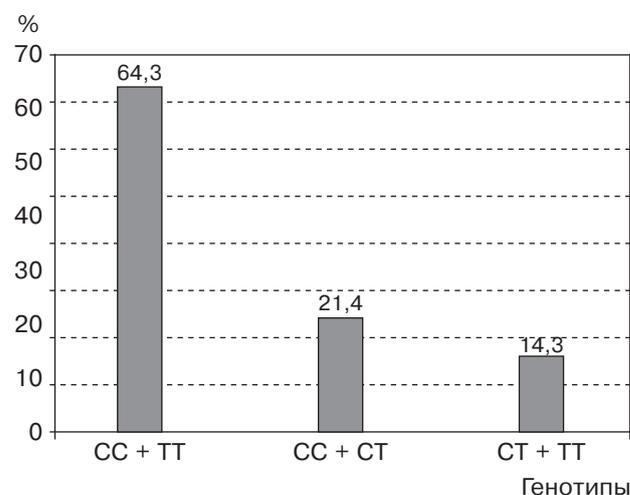


Рис. 1. Частота встречаемости сочетаний полиморфизмов ЦОГ-1 и GPIIIa в группе контроля

Частота встречаемости аллелей и генотипов ЦОГ-1 и GPIIa в основной и контрольной группах

Показатель	Контроль, n = 28		Основная группа, n = 173		ОШ [95% ДИ]	p-level
	абс. ч.	%	абс. ч.	%		
<i>ЦОГ-1</i>						
СС-генотип	24	85,7	150	86,7	0,92[0,28–2,54]	p = 0,87
(СТ + ТТ)-генотип	4	14,3	23	13,3	1,09 [0,39–3,52]	p = 0,88
С-аллель	52	92,9	321	92,8	1,01 [0,33–2,63]	p = 0,79
Т-аллель	4	7,1	25	7,2	0,99 [0,38–3,07]	p = 0,13
<i>GPIIa</i>						
ТТ-генотип	22	78,6	117	67,6	1,75 [0,66–4,21]	p = 0,35
(СТ + СС)-генотип	6	21,4	56	32,4	0,57 [0,24–1,52]	p = 0,34
Т-аллель	50	89,3	286	82,6	1,71 [0,68–3,81]	p = 0,31
С-аллель	6	10,7	60	17,3	0,58 [0,26–1,47]	p = 0,32

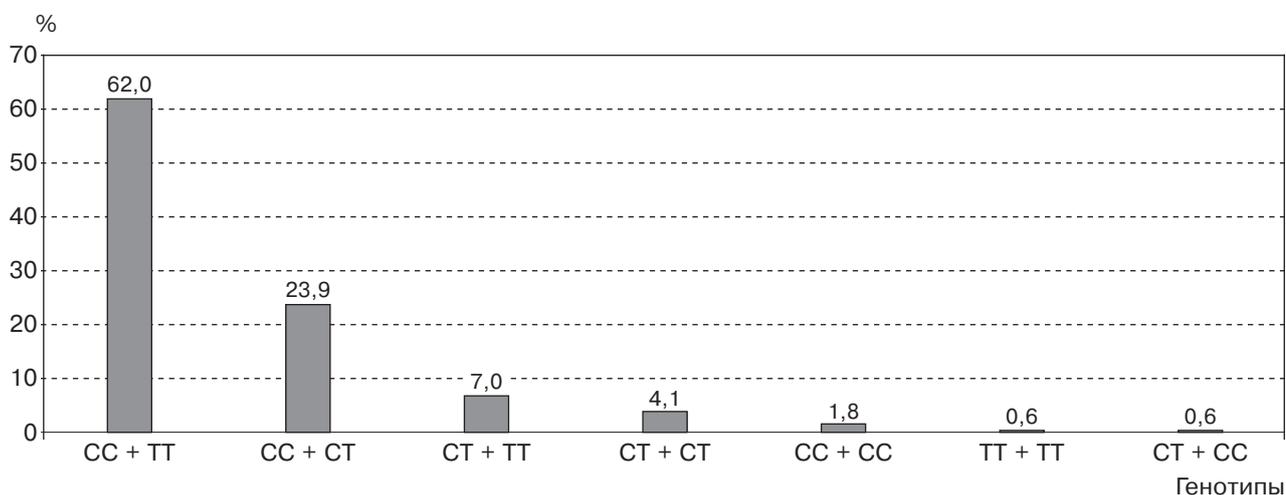


Рис. 2. Частота встречаемости сочетаний полиморфизмов ЦОГ-1 и GPIIa в основной группе

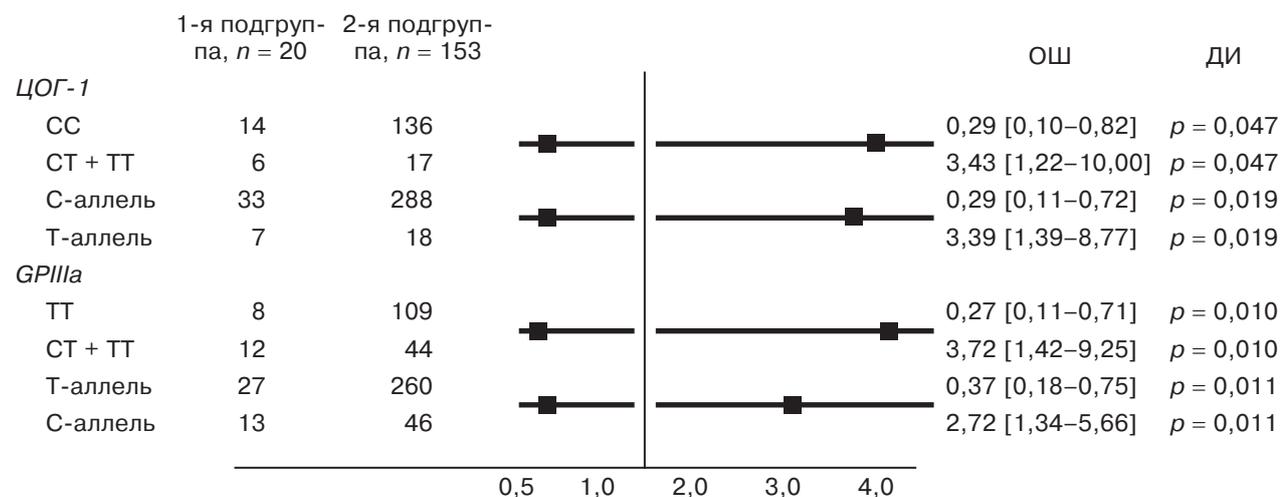


Рис. 3. Вероятность развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у пациентов с различными типами генотипов

Всего за $34,52 \pm 1,16$ мес НССС были зафиксированы у 20 пациентов, составивших 1-ю подгруппу. У 153 пациентов (2-я подгруппа – без НССС) заболевание протекало без осложнений.

При проведении анализа распределения генотипов в зависимости от наличия НССС между этими двумя подгруппами были выявлены достоверные различия (рис. 3). Установлено, что вероятность развития НССС у носителей мутантной Т-аллели полиморфизма С50Т гена *PTGS1* была в 3,39 раза выше (ДИ [1,39–8,77], $p = 0,019$), чем у носителей С-аллели. При наличии мутантной аллели С полиморфизма Т1565С гена *ITGB3* вероятность развития НССС также была выше, чем у носителей дикого генотипа (ОШ = 2,72; ДИ [1,34–5,66], $p = 0,011$).

Таким образом, наличие мутантных аллелей полиморфизма С50Т гена *PTGS1* и полиморфизма Т1565С гена *ITGB3* было связано с более тяжелым течением ИБС и повышало риск развития НССС.

Для изучения механизма влияния полиморфизма генов-кандидатов на течение ИБС был проведен пошаговый регрессионный анализ. Установлена достоверная связь мутантной Т-аллели полиморфизма С50Т гена *ЦОГ-1* с индексом арахидонатиндуцированной агрегации тромбоцитов ($p = 0,0007$), с содержанием МДА в крови ($p = 0,024$), а также с уровнем холестерина липопротеидов низкой плотности ($p = 0,049$). Наличие мутантной С-аллели полиморфизма Т1565С гена *ITGB3* было достоверно связано с уровнем холестерина липопротеидов низкой плотности ($p = 0,008$), содержанием метаболита тромбоксана 11-дегидро-ТxB2 в моче ($p = 0,05$) и уровнем нитратов-нитритов ($p = 0,04$).

Таким образом, наличие мутантных аллелей полиморфизма С50Т гена *PTGS1* и полиморфизма Т1565С гена *ITGB3* было достоверно связано с патогенетическими факторами ИБС, что может способствовать более тяжелому ее течению и повышает риск развития НССС.

Список литературы

1. *Beitelshees A. L.* Personalized antiplatelet and anticoagulation therapy: applications and significance of pharmacogenomics / A. L. Beitelshees, D. Voora, J. P. Lewis // *Pharmacogenomics Pers. Med.*— 2015.— Vol. 8.— P. 43–61. doi: 10.2147/PGPM.S52900.
2. *Coccheri S.* Antiplatelet therapy: controversial aspects / S. Coccheri // *Thromb. Res.*— 2012.— Vol. 129.— P. 225–229. doi: 10.1016/j.thromres.2011.10.036.
3. The genetics of antiplatelet drug resistance / G. Feher, A. Feher, G. Pusch [et al.] // *Clin. Genet.*— 2009.— Vol. 75.— P. 1–18.
4. *Fabre J. E.* Limitations of current therapies to prevent thrombosis: a need for novel strategies / J. E. Fabre, M. E. Gurney // *Mol. Biosyst.*— 2010.— Vol. 6 (2)— P. 305–315.
5. Effect of platelet receptor gene polymorphisms on outcomes in ST-elevation myocardial infarction patients after percutaneous coronary intervention / J. H. Zhang, J. Wang, X. F. Tang [et al.] // *Platelets.*— 2015.— Vol. 19.— P. 1–5.
6. Aspirin resistance and risk of cardiovascular morbidity: systematic review and meta-analysis / G. Krasopoulos, S. J. Brister, W. S. Beattie [et al.] // *Brit. Med. J.*— 2008.— Vol. 10.— P. 1136.
7. Association of the platelet GPIIb/IIIa polymorphism with atherosclerotic plaque morphology: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study / A. M. Kucharska-Newton, K. L. Monda, S. Campbell [et al.] // *Atherosclerosis.*— 2011.— Vol. 216 (1)— P. 151–156. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2011.01.038.
8. Frequency, risk factors, prognosis, and genetic polymorphism of the cyclooxygenase-1 gene for aspirin resistance in elderly Chinese patients with cardiovascular disease / L. Fan, J. Cao, L. Liu [et al.] // *Gerontology.*— 2013.— Vol. 59 (2)— P. 122–131. doi: 10.1159/000342489.
9. Polymorphisms associated with in vitro aspirin resistance are not associated with clinical outcomes in patients with coronary artery disease who report regular aspirin use / D. Voora, J. Horton, S. H. Shah [et al.] // *Am. Heart J.*— 2011.— Vol. 162 (1)— P. 166–172. doi: 10.1016/j.ahj.2011.03.026.
10. Value of platelet pharmacogenetics in common clinical practice of patients with ST-segment elevation myocardial infarction / J. J. Verschuren, H. Boden, J. A. Wessels [et al.] // *Int. J. Cardiol.*— 2012.— Vol. 29.— P. 1217–1219.
11. *Goodman T.* Pharmacogenetics of aspirin resistance: a comprehensive systematic review / T. Goodman, A. Ferro, P. Sharma // *Br. J. Clin. Pharmacol.*— 2008.— Vol. 66 (2)— P. 222–232.
12. *Бондарь Т. Н.* Полиморфизм гена оксигеназы-1 и аспиринорезистентность / Т. Н. Бондарь, Н. Кравченко // *Цитология и генетика.*— 2012.— Т. 46, № 4.— С. 66–72.
13. Impact of COX-2 rs5275 and rs20417 and GPIIIa rs5918 polymorphisms on 90-day ischemic stroke functional outcome: a novel finding / J. Maguire, A. Thakkestian, C. Levi [et al.] // *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.*— 2011.— Vol. 20 (2)— P. 134–144. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2009.10.011.
14. Dose-Related Efficacy of Aspirin After Coronary Surgery in Patients With P1A2 Polymorphism / E. Lim, S. Carballo, J. Cornelissen [et al.] // *Ann. Thorac. Surg.*— 2007.— Vol. 83.— P. 134–139.
15. Aspirin exposure reveals novel genes associated with platelet function and cardiovascular events / D. Voora, D. Cyr, J. Lucas [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.*— 2013.— Vol. 62 (14)— P. 1267–1276. doi: 10.1016/j.jacc.2013.05.073.

**ГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ РИЗИКУ ШЕМІЧНОЇ ХВОРОБИ СЕРЦЯ
ТА ЕФЕКТИВНОСТІ АНТИТРОМБОТИЧНОЇ ТЕРАПІЇ**

О. Є. ЗАПРОВАЛЬНА

Досліджено частоту мутантних алелів поліморфізму С50Т гена PTGS1 і поліморфізму Т1565С гена ITGB3, а також їх зв'язок із аспіринорезистентністю та перебігом ішемічної хвороби серця (ІХС). Показано, що наявність мутантних алелів достовірно пов'язана з патогенетичними факторами ІХС та підвищує ризик розвитку несприятливих серцево-судинних подій.

Ключові слова: ішемічна хвороба серця, аспіринорезистентність, поліморфізм генів.

**GENETIC ASPECTS OF CORONARY ARTERY DISEASE RISK
AND THE EFFICACY OF ANTITHROMBOTIC THERAPY**

O. Ye. ZAPROVALNA

The incidence of mutant allele polymorphism C50T gene polymorphism T1565S and PTGS1 ITGB3 gene and their relationship with aspirin resistance (AR) and coronary artery disease (CAD) were investigated. It is shown that mutant T allele in the PTGS1 gene and ITGB3 genes is associated with pathogenetic factors of CAD and increases the risk of unfavorable cardiovascular events.

Key words: coronary artery disease, aspirin resistance, gene polymorphism.

Поступила 30.06.2016