

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ИСХОДОВ ОСТРОГО КОРОНАРНОГО СИНДРОМА

Ложкина Н. Г.¹, Максимов В. Н.^{1,2}, Орлов П. С.^{2,3}, Куимов А. Д.¹, Воевода М. И.^{2,3}

Цель. Оценить взаимосвязь 8 однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) с неблагоприятным отдаленным прогнозом острого коронарного синдрома.

Материалы и методы. В исследование было включено 280 больных острым коронарным синдромом (ОКС), у которых через один год были оценены «твердые конечные» точки заболевания (кардиоваскулярная смерть, госпитализация в связи с повторным ишемическим событием и повторная реваскуляризация).

Результаты. При анализе rs4804611 в группе с неблагоприятным прогнозом достоверно чаще встречался генотип GG (9,1% vs 1,8%), отношение шансов 5,57 (95% ДИ 1,35-22,96); достоверность различий сохранилась у мужчин ($p=0,021$). При анализе rs2549513 в группе с благоприятным прогнозом достоверно чаще встречался генотип AA (70,6% vs 53%), отношение шансов 0,47 (95% ДИ 0,26-0,85), а в группе с неблагоприятным прогнозом — генотип AC, отношение шансов 2,32 (95% ДИ 1,28-4,20; $p=0,007$). При разделении по полу достоверные различия наблюдались только у мужчин ($p=0,008$).

Заключение. Оценка генетических маркеров rs4804611 и rs2549513 может существенно повысить прогностическую ценность рискметрии исходов ОКС.

Российский кардиологический журнал 2014, 10 (114): 19–22

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2014-10-19-22>

Ключевые слова: прогноз, острый коронарный синдром, генетические маркеры.

¹ГБОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Новосибирск; ²ФГБУ Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины СО РАМН, Новосибирск; ³ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия.

Ложкина Н. Г.* — к.м.н., ассистент кафедры факультетской терапии, Максимов В. Н. — д.м.н., зав. лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, Орлов П. С. — м.н.с. лаборатории молекулярной генетики человека, Куимов А. Д. — д.м.н., профессор, зав. кафедрой факультетской терапии, Воевода М. И. — д.м.н., профессор, член-корреспондент РАМН, директор НИИ терапии.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
lozhkina.n@mail.ru

ОКС — острый коронарный синдром, ИМ — инфаркт миокарда, НС — нестабильная стенокардия, ОНП — однонуклеотидные полиморфизмы, GWAS — genome-wide association studies (международные полногеномные ассоциативные исследования).

Рукопись получена 10.02.2014
Рецензия получена 19.02.2014
Принята к публикации 26.02.2014

GENETIC MARKERS OF NEGATIVE OUTCOMES OF THE ACUTE CORONARY SYNDROME

Lozhkina N. G.¹, Maksimov V. N.^{1,2}, Orlov P. S.^{2,3}, Kuimov A. D.¹, Voevoda M. I.^{2,3}

Aim. To evaluate the relationship of 8 mononucleotide polymorphisms (MNP) with negative longterm prognosis of the acute coronary syndrome.

Material and methods. Totally 280 patients with acute coronary syndrome included (ACS), who during 1 year follow up were underwent the solid endpoints evaluation (cardiovascular death, hospitalization for recurrent ischemic event and repeated revascularization).

Results. In the analysis of rs4804611 in group with negative outcomes there is significantly more prevalent genotype GG (9,1% vs. 1,8%), chances relation 5,57 (95% CI 1,35-22,96); credibility of the differences kept in men ($p=0,021$). In the analysis rs2549513 in the group with positive prognosis the AA genotype was more prevalent (70,6% vs. 53%), hazard ratio 0,47 (95% CI 0,26-0,85), and in the group with negative prognosis genotype AC, chances relation 2,32 (95% CI 1,28-4,20; $p=0,007$). While separated by gender credible differences were shown only in men ($p=0,008$).

Conclusion. Evaluation of genetic markers rs4804611 and rs2549513 can significantly increase prognostic value in riskmetry of ACS outcomes.

Russ J Cardiol 2014, 10 (114): 19–22

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2014-10-19-22>

Key words: prognosis, acute coronary syndrome, genetic markers.

¹SBEI HPE Novosibirsk State Medical University of the MH RF, Novosibirsk; ²FSBI Scientific-Research Institute for Therapy and Prevention of the SD RAMS, Novosibirsk; ³FSBI Institute for Cytology and Genetics of SD RAMS, Novosibirsk, Russia.

Острый коронарный синдром (ОКС) лидирует в структуре кардиоваскулярных причин смертности в России. В связи с этим проблема моделирования возможных неблагоприятных исходов ОКС чрезвычайно актуальна. Определение пациентов к высокому, умеренному и низкому уровням риска влияет на выбор технологии лечения — первично инвазивной, фармакоинвазивной или неинвазивной (только медикаментозной).

Впервые о прогнозировании думал еще Гиппократ, но долгое время оценка возможного исхода заболевания носила субъективный характер. Затем появились математические методы прогнозирования [1]. Наиболее достоверные прогностические модели были получены в рамках регистров ОКС, основанных на сплош-

ном исследовании всех больных, госпитализированных с подозрением на инфаркт миокарда (ИМ) или нестабильную стенокардию (НС). Примером могут служить такие модели, как GRACE или TIMI, PURSUIT, PREDICT [2-4].

Из отдельных прогностических показателей, оцененных у больного с ОКС при поступлении в стационар, наиболее информативными оказались маркеры некроза миокарда, многососудистый характер поражения коронарного русла, стойкая элевация сегмента ST на ЭКГ, пожилой возраст, снижение функции левого желудочка, инфаркт миокарда в анамнезе, ожирение, сахарный диабет, показатели активности воспалительного ответа, сниженная функция почек [5-7].

Давно известно, что ишемическая болезнь сердца (ИБС) является мультифакторным заболеванием и наследственность играет довольно существенную роль в исходах заболевания. Однако конкретные генетические факторы стали активно изучаться лишь в последние 20–30 лет. Помимо идентификации отдельных генов-кандидатов получили распространение полногеномные ассоциативные исследования. Преимуществом этих исследований является равномерное покрытие маркерами всего генома, анализ больших выборок пациентов и соответствующих контрольных групп (несколько тысяч индивидов), обязательное реплицирование анализа ассоциаций на независимо обследованных выборках. Так, по результатам международных полногеномных ассоциативных исследований выявлены взаимосвязи целого ряда однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) с острым инфарктом миокарда. Впоследствии результаты GWAS по 8 ОНП были реплицированы на российской популяции. Следующим этапом должна быть проверка ассоциации этих ОНП с прогнозом для жизни пациентов с острым коронарным синдромом.

Целью исследования явилось изучение ассоциации ОНП с неблагоприятным отдаленным прогнозом острого коронарного синдрома.

Материал и методы

Исследование проводилось в рамках Программы совместных научно-исследовательских работ НИИ терапии и профилактической медицины СО РАМН и ГБОУ ВПО НГМУ. Проведение исследования было одобрено Этическим комитетом (протокол № 12 от 19.03.2009). Всеми пациентами заполнялась форма Информированного согласия на участие в исследовании. В исследование были включены 280 больных ОКС, поступивших в блок интенсивной терапии городской клинической больницы № 1 г. Новосибирска с 01 апреля 2009 по 30 марта 2010 года (средний возраст — $59,1 \pm 6,1$ года), в том числе с ОКС с подъемом сегмента ST 180 человек (117 мужчин и 63 женщины) и 100 человек с ОКС без подъема сегмента ST (58 мужчин и 42 женщины). Средний возраст мужчин был $56,2 \pm 5,2$ года, женщин — $62,1 \pm 5,3$ года. Диагноз ОКС устанавливался по совокупности критериев, разработанных Европейским обществом кардиологов и Американской коллегией кардиологов (2000), включающих: а) типичный болевой приступ, б) изменения ЭКГ в 2-х и более последовательных отведениях (высокоамплитудный Т, отрицательный Т, подъем сегмента ST, патологический Q, депрессия сегмента ST, наличие QR), в) динамические изменения в уровне ферментов (КФК, КК-МВ, ТнТ, ТнИ). При дифференциальной диагностике между инфарктом миокарда (ИМ) без подъема сегмента ST и нестабильной стенокардией (НС) ори-

ентировались на уровень кардиоспецифических маркеров. Q-позитивный ИМ диагностирован у 170 больных (61%), Q-негативный ИМ — у 31 больного (11%), НС — у 79 человек (28%). У мужчин Q-ИМ отмечался у 68,8% (80 человек), не Q-ИМ — у 10,3% (13 человек), НС — у 20,9% (24 человека). У женщин Q-ИМ отмечался у 33,9% (21 человек), не Q-ИМ — у 30,9% (20 человек), НС — у 35,2% (22 человека). В течение года велось наблюдение за этими пациентами. При анализе случаи повторных поступлений с острыми кардиоваскулярными событиями, смерть от сердечно-сосудистых причин или повторные реваскуляризации были отнесены в подгруппу неблагоприятного прогноза, остальные пациенты составили подгруппу с благоприятным прогнозом.

Геномную ДНК выделяли из венозной крови методом фенол-хлороформной экстракции. Генотипирование проводилось методом Real time PCR (зонды TaqMan, Applied Biosystems, USA) на приборе ABI 7900HT в соответствии с протоколом фирмы-производителя. В исследование были взяты следующие ОНП: rs499818 (хр. 6), rs619203 гена *ROS1*, rs10757278 и rs1333049 (хр. 9), rs1376251 гена *TAS2R50*, rs2549513 (хр. 16), rs4804611 гена *ZNF627* и rs17465637 гена *MIAF3*. Они были отобраны по результатам международных полногеномных ассоциативных исследований, подтвердивших ассоциацию этих ОНП с ИБС.

Статистический анализ проводился с использованием пакета программ SPSS 11.5. Ассоциация ОНП с неблагоприятным отдаленным прогнозом проверялась с помощью таблиц сопряженности с использованием критерия χ^2 по Пирсону. В случае четырехпольных таблиц сравнения выборок по частотам генотипов и аллелей применяли точный двусторонний критерий Фишера. Относительный риск формирования фенотипа по конкретному аллелю или генотипу вычисляли как отношение шансов.

Результаты и обсуждение

Как уже говорилось, в конце XX века и, особенно, в начале нынешнего, предпринимались попытки поиска генетических маркеров, ассоциированных с неблагоприятным отдаленным прогнозом, данные которых достаточно противоречивы. В генетической части исследования GRACE показана независимая связь rs579459 с неблагоприятным исходом после ОКС острого коронарного синдрома [8]. При изучении полиморфизма генов PAI-1 4G/5G выявлена их ассоциация с синдромом отсутствия реперфузии после тромболизиса у пациентов с ОКС с подъемом сегмента ST [9]. Российские ученые показали ассоциацию аллеля Т полиморфизма гена *C1444T* СРБ с неблагоприятным развитием событий после ОКС [10]. Аллель А полиморфизма A252G гена *LTA* также была связана с повышенным риском повторных фатальных и нефатальных ишемических эпизодов,

Таблица 1

Частоты генотипов rs4804611 в группах с благоприятным и неблагоприятным прогнозом

| Генотипы | Без разделения по полу | | | | p | Женщины | | | | p | Мужчины | | | | p |
|----------|------------------------|------|-----------------|------|-------|---------------|------|-----------------|------|-------|---------------|------|-----------------|------|-------|
| | Благоприятный | | Неблагоприятный | | | Благоприятный | | Неблагоприятный | | | Благоприятный | | Неблагоприятный | | |
| | n | % | n | % | | n | % | n | % | | n | % | n | % | |
| AA | 106 | 62,4 | 38 | 57,6 | 0,031 | 27 | 55,1 | 7 | 38,9 | 0,298 | 78 | 65,5 | 31 | 64,6 | 0,021 |
| AG | 61 | 35,9 | 22 | 33,3 | | 19 | 38,8 | 8 | 44,4 | | 41 | 34,5 | 14 | 29,2 | |
| GG | 3 | 1,8 | 6 | 9,1 | | 3 | 6,1 | 3 | 16,7 | | 0 | 0 | 3 | 6,2 | |

Таблица 2

Частоты генотипов rs2549513 в группах с благоприятным и неблагоприятным прогнозом

| Генотипы | Без разделения по полу | | | | p | Женщины | | | | p | Мужчины | | | | p |
|----------|------------------------|------|-----------------|------|-------|---------------|------|-----------------|------|-------|---------------|------|-----------------|----|-------|
| | Благоприятный | | Неблагоприятный | | | Благоприятный | | Неблагоприятный | | | Благоприятный | | Неблагоприятный | | |
| | n | % | n | % | | n | % | n | % | | n | % | n | % | |
| AA | 120 | 70,6 | 35 | 53,0 | 0,020 | 37 | 75,5 | 11 | 61,1 | 0,228 | 81 | 68,1 | 24 | 50 | 0,008 |
| AC | 43 | 25,3 | 29 | 43,9 | | 11 | 22,4 | 5 | 27,8 | | 32 | 26,9 | 24 | 50 | |
| CC | 7 | 4,1 | 2 | 3,0 | | 1 | 2,0 | 2 | 11,1 | | 6 | 5,0 | 0 | 0 | |

что также подтверждается и в японском исследовании. Американские исследователи не обнаружили связи rs1333049, rs2383206, rs10757278, rs10757274 с риском повторного ИМ, реваскуляризации и смерти после ОКС или АКШ [11]. У пожилых пациентов с низким уровнем ЛПНП носители аллеля С гена *Paraoxonase2 C311S* имели повышенный риск повторных ишемических событий через 1 год [12]. В другом исследовании не выявлено ассоциации полиморфизма гена активатора ингибитора плазминогена 4G/5G с уменьшением зоны некроза миокарда ни в одной из подгрупп лечения (тромболитической терапии и первичной ангиопластики) у пациентов с элевацией сегмента ST [13].

Для нашей работы в качестве генетических маркеров мы выбрали 8 ОНП: rs17465637, rs4804611, rs2549513, rs1376251, rs619203, rs499818, rs1333049, rs10757278, которые по данным международных полногеномных исследований были ассоциированы с ИМ [14].

Из таблицы 1 видно, что в результате исследования получены достоверные различия по частотам генотипов rs4804611 между группами с благоприятным и неблагоприятным прогнозом ($p=0,031$). В группе с неблагоприятным прогнозом достоверно чаще встречался генотип GG (9,1% vs 1,8%), отношение шансов 5,57 (95% ДИ 1,35-22,96). При разделе-

нии по полу достоверность различий сохранилась у мужчин ($p=0,021$). В группе женщин тенденция имеет ту же направленность (генотип GG 6,1% vs 16,7%), но достоверность отсутствует, вероятно, из-за относительно небольшого размера групп.

При анализе частот генотипов rs2549513 (табл. 2) выявлены достоверные различия между группами с благоприятным и неблагоприятным прогнозом ($p=0,02$). В группе с благоприятным прогнозом достоверно чаще встречался генотип AA (70,6% vs 53%), отношение шансов 0,47 (95% ДИ 0,26-0,85). В группе с неблагоприятным прогнозом достоверно чаще встречался гетерозиготный генотип AC, отношение шансов 2,32 (95% ДИ 1,28-4,20; $p=0,007$). При разделении по полу достоверность различий сохранилась только у мужчин ($p=0,008$).

Заключение

Впервые в российской популяции выявлены генетические маркеры — rs4804611 и rs2549513, ассоциированные с неблагоприятным отдаленным прогнозом у больных с острым коронарным синдромом. Дополнительное введение этих маркеров в прогностическую модель риска исходов ОКС может существенно повысить информативность модели, что в конечном итоге снизит смертность и число нефатальных серьезных осложнений ОКС.

Литература

- Bluzhas I, Buivydaite K, Domarkiene S, et al. Dynamics of acute myocardial infarction morbidity and risk of acute ischemic syndrome among population of Kaunas in 1986—2001. *Kardiologija* 2006; 46(4):52—3. Russian (Блужас И., Буйвидайте К., Домаркене С. и др. Динамика заболеваемости острым инфарктом миокарда и риска острого коронарного синдрома среди населения Каунаса в 1986—2001 гг. *Кардиология* 2006; 46(4):52—53).
- Raposeiras-Roubin S, Abu-Assi E, Cabanas-Grandio P, et al. Walking beyond the GRACE (Global Registry of Acute Coronary Events) model in the death risk stratification during hospitalization in patients with acute coronary syndrome: what do the AR-G (ACTION [Acute Coronary Treatment and Intervention Outcomes Network] Registry and GWTG [Get With the Guidelines] Database), NCDR (National Cardiovascular Data Registry), and EuroHeart Risk Scores Provide? *JACC Cardiovasc Interv* 2012; Nov; 5(11):1117—25.
- Carmo P, Ferreira J, Aguiar C, et al. Does continuous ST-segment monitoring add prognostic information to the TIMI, PURSUIT, and GRACE risk scores? *Ann Noninvasive Electrocardiol* 2011; Jul; 16(3):239—49.

4. Damman PWoudstra P, Kuijt WJ, et al. Short- and long-term prognostic value of the TIMI risk score after primary percutaneous coronary intervention for ST-segment elevation myocardial infarction. J Interv Cardiol 2013; Feb;26(1):8–13.
5. Schnur S. Mortality rates in acute myocardial infarction. The normal yearly variation, and the effect of hospital admission policy. Ann Intern Med 1953; Nov; 39(5):1014–7.
6. Fuente RL, Naesgaard PA, Nilsen ST, et al. B-type natriuretic peptide and high sensitive C-reactive protein predict 2-year all cause mortality in chest pain patients: a prospective observational study from Salta, Argentina. BMC Cardiovasc Disord 2011; 11: 57.
7. López-Cuenca A, Manzano-Fernandez S, Lip GY, et al. Interleukin-6 and High-sensitivity C-reactive Protein for the Prediction of Outcomes in non ST Segment Elevation Acute Coronary Syndromes. Rev Esp Cardiol 2012; Dec. 7.
8. Wauters E, Carruthers KF, Buysschaert I, et al. Influence of 23 coronary artery disease variants on recurrent myocardial infarction or cardiac death: the GRACE Genetics Study Eur Heart J 2013; Apr;34(13):993–1001.
9. Ozkan B, Cagliyan CE, Elbasan Z, et al. PAI-1 4G/5G gene polymorphism is associated with angiographic patency in ST-elevation myocardial infarction patients treated with thrombolytic therapy. Coron Artery Dis 2012; Sep;23(6):400–3.
10. Sukhinina TS, Shakhnovich RM, Barsova RM, et al. Value of allele gene polymorphism of the inflammation system for prognosis of patients with myocardial infarction. Kardiologia 2012; 52(3):15–21. Russian (Сухина Т.С., Шахнович Р.М., Барсова Р.М. и др. Значение аллеля полиморфизма гена системы воспаления для прогноза больных инфарктом миокарда. Кардиология 2012, 52(3):15–21).
11. Virani SS, Brautbar A, Lee VV, et al. Chromosome 9p21 single nucleotide polymorphisms are not associated with recurrent myocardial infarction in patients with established coronary artery disease. Circ J 2012; 76(4):950–6.
12. Marchegiani F, Spazzafumo L, Provinciali M, et al. Paraoxonase2 C311S polymorphism and low levels of HDL contribute to a higher mortality risk after acute myocardial infarction in elderly patients. Mol Genet Metab 2009; Nov;98(3):314–8.
13. Sibbing D, von Beckerath O, von Beckerath N, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism and efficacy of reperfusion therapy in acute myocardial infarction. Blood Coagul Fibrinolysis 2005; Oct;16(7):511–5.
14. Maksimov VN, Kulikov IV, Orlov PS, et al. Checking the relationship between the eight SNPs and myocardial infarction in the Siberian population. Bulletin of the Russian Academy of Medical Scientists 2012; 5: 24–29. Russian (Максимов В.Н., Куликов И.В., Орлов П.С. и др. Проверка взаимосвязи между восемью однонуклеотидными полиморфизмами и инфарктом миокарда на сибирской популяции. Вестник Российской академии медицинских наук 2012; 5: 24–29).

ИЩЕМ АВТОРОВ!

Ищем авторов для написания статей в журнал по определенной тематике.

Условия можно посмотреть на сайте <http://roscardio.ru/ru/recommendations-for-the-articles-rjc.html>

Подписка на 2015г через сайт издательства*

| Российский кардиологический журнал | | | |
|--|--|------------------|-------------|
| Электронная версия (скачивается с сайта в любом из трех предложенных форматов, в течение 2 месяцев после получения уведомительного письма) | 12 номеров (годовая подписка) | | 1050-00 руб |
| | 6 номеров (полугодовая подписка) | | 525-00 руб |
| Бумажная версия*** (присылается по почте) | 12 номеров (годовая подписка) | Для членов РКО** | 1440-00 руб |
| | 6 номеров (полугодовая подписка) | Для членов РКО** | 760-00 руб |
| | 12 номеров (годовая подписка) | | 2160-00 руб |
| | 6 номеров (полугодовая подписка) | | 1080-00 руб |
| Бумажная версия*** + Электронная версия | 12 номеров (годовая подписка) | Для членов РКО** | 1800-00 руб |
| | 6 номеров (полугодовая подписка) | Для членов РКО** | 1180-00 руб |
| | 12 номеров (годовая подписка) | | 2940-00 руб |
| | 6 номеров (полугодовая подписка) | | 1530-00 руб |
| Кардиоваскулярная терапия и профилактика | | | |
| Электронная версия (скачивается с сайта в любом из трех предложенных форматов, в течение 2 месяцев после получения уведомительного письма) | 6 номеров (годовая подписка) | | 600-00 руб |
| | 6 номеров (годовая подписка) | | 890-00 руб |
| Бумажная версия*** (присылается по почте) | 6 номеров (годовая подписка) | | 990-00 руб |
| Бумажная версия + Электронная версия | 6 номеров (годовая подписка) | | 990-00 руб |
| Полный комплект подписки на Российский кардиологический журнал (12 номеров), журнал Кардиоваскулярная терапия и профилактика (6 номеров) | | | |
| Электронная версия (скачивается с сайта в любом из трех предложенных форматов, в течение 2 месяцев после получения уведомительного письма) | 22 номера (годовая подписка) | Для членов РКО** | 1700-00 руб |
| | 11 номеров (полугодовая подписка) | Для членов РКО** | 850-00 руб |
| | 22 номера (годовая подписка) | | 1800-00 руб |
| | 11 номеров (полугодовая подписка) | | 950-00 руб |

* Стоимость подписки по прайсу издательства. Подписка осуществляется через сайт www.roscardio.ru. Оплата подписки осуществляется наличными в отделении Сбербанка (платежное поручение распечатывается через сайт) или электронным платежом через ROBOKASSA (Visa, Mastercard, мобильным телефоном – МТС, Мегафон, Билайн, всеми электронными валютами, наличными через сеть терминалов, через интернет-банки и другими способами).

** Российское кардиологическое общество. Официальный сайт – www.scardio.ru

***Оформление подписки на бумажную версию возможно только по адресу в Российской Федерации. Для подписчиков из стран СНГ и стран Евросоюза подписка осуществляется через подписные агентства.