

Полиморфизмы в генах *F2*, *F7*, *PAI1* у мужчин с нестабильными атеросклеротическими бляшками в коронарных артерияхСтрюкова Е. В.¹, Максимов В. Н.¹, Рагино Ю. И.¹, Полонская Я. В.¹, Мурашов И. С.², Волков А. М.², Кургузов А. В.², Чернявский А. М.², Каштанова Е. В.¹**Цель.** Изучение ассоциаций полиморфизмов генов *F2*, *F7*, *PAI1*, с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек (НАСБ) в коронарных артериях (КА), с концентрацией белков, кодируемых этими генами, в плазме крови.**Материал и методы.** В исследование включен 101 мужчина 40-70 лет с коронароангиографически верифицированным коронарным атеросклерозом, которым в ходе операции коронарного шунтирования была проведена эндартеректомия из КА. По результатам гистологического анализа атеросклеротических бляшек мужчины были разделены на 2 группы: 40 мужчин (39,6%) со стабильными атеросклеротическими бляшками (сАСБ), 61 мужчина (60,4%) с НАСБ в КА. Биохимические исследования проводились методом иммуноферментного анализа с использованием стандартных тест систем ELISAs. Генотипирование rs1799963 и rs6046 выполнено методом RT-PCR, rs1799889 — полимеразной цепной реакции. Полученные результаты были статистически обработаны с помощью пакета программ SPSS 16.0.**Результаты.** У пациентов со сАСБ в КА аллель А полиморфизма rs6046 гена *F7* встречается в 2,9 раз чаще (95% доверительный интервал (ДИ) 1,20-7,20, $p=0,021$), чем у мужчин с НАСБ. Отношение шансов обнаружить носительство генотипа GA в 4,03 раза больше среди пациентов со сАСБ в КА по сравнению с пациентами с НАСБ (95% ДИ 1,49-10,93, $p=0,006$). Отношение шансов обнаружить носительство генотипа 5G4G среди пациентов со сАСБ в КА в 2,47 раза больше по сравнению с пациентами с НАСБ (95% ДИ 1,08-5,62, $p=0,039$). Тогда как носительство генотипа 4G4G значительно чаще встречается в группе мужчин с НАСБ (ОШ=5,85, 95% ДИ 1,61-21,34, $p=0,003$).**Заключение.** Полиморфизмы rs1799889 гена *PAI1* и rs6046 гена *F7* ассоциированы с наличием НАСБ в КА у мужчин с верифицированным коронарным атеросклерозом. Не выявлено различий между группами по частотам генотипов и аллелей полиморфизма rs1799963 гена *F2*. Также не обнаружено статистически значимых различий в уровнях PAI-1 и фактора VII в плазме крови в группах с различными генотипами.**Ключевые слова:** гемостаз, фактор II, фактор VII, *PAI1*, стабильные и нестабильные атеросклеротические бляшки в коронарных артериях, однонуклеотидный полиморфизм, rs6046, rs1799889, rs1799963.**Отношения и деятельность.** Исследование выполнено в рамках бюджетной темы государственного задания № АААА-А17-117112850280-2, в рамках бюджетной темы по поддержке биоресурсных коллекций по государственному заданию № 0324-2017-0048 и при финансовой поддержке гранта РФФИ № 19-015-00055а.¹Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины — филиал ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Институтцитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск; ²ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр им. акад. Е. Н. Мешалкина Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Стрюкова Е. В.* — аспирант, м.н.с. лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, ORCID: 0000-0001-5316-4664, Максимов В. Н. — профессор, д.м.н., зав. лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, ORCID: 0000-0002-7165-4496, Рагино Ю. И. — д.м.н., член-корр. РАН, руководитель лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, ORCID: 0000-0002-4936-8362, Полонская Я. В. — к.б.н., с.н.с. лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, ORCID: 0000-0001-9697-7091, Кургузов А. В. — м.н.с. Центра хирургии аорты, коронарных и периферических артерий, ORCID: 0000-0003-1345-2199, Чернявский А. М. — д.м.н., профессор, руководитель Центра хирургии аорты, коронарных и периферических артерий, ORCID: 0000-0001-9818-8678, Каштанова Е. В. — д.б.н., с.н.с. лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, ORCID: 0000-0003-2268-4186.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
stryukova.j@mail.ru

АСБ — атеросклеротическая бляшка, ДИ — доверительный интервал, ИБС — ишемическая болезнь сердца, ИМ — инфаркт миокарда, КА — коронарная артерия, ЛП(а) — липопротеин(а), НАСБ — нестабильная атеросклеротическая бляшка, ОШ — отношение шансов, ПЦР — полимеразная цепная реакция, сАСБ — стабильная атеросклеротическая бляшка, PAI-1 — ингибитор активатора плазминогена 1 типа.

Рукопись получена 21.01.2020**Рецензия получена** 29.02.2020**Принята к публикации** 13.03.2020**Для цитирования:** Стрюкова Е. В., Максимов В. Н., Рагино Ю. И., Полонская Я. В., Мурашов И. С., Волков А. М., Кургузов А. В., Чернявский А. М., Каштанова Е. В. Полиморфизмы в генах *F2*, *F7*, *PAI1* у мужчин с нестабильными атеросклеротическими бляшками в коронарных артериях. *Российский кардиологический журнал*. 2020;25(10):3721. doi:10.15829/1560-4071-2020-3721**Polymorphisms in *F2*, *F7*, and *PAI1* genes in men with coronary atherosclerosis**Stryukova E. V.¹, Maksimov V. N.¹, Ragino Yu. I.¹, Polonskaya Ya. V.¹, Murashov I. S.², Volkov A. M.², Kurguzov A. V.², Chernyavsky A. M.², Kashtanova E. V.¹**Aim.** To study the associations of polymorphisms in *F2*, *F7*, and *PAI1* genes with the presence of vulnerable plaque in coronary arteries (CA) and the blood concentration of proteins encoded by these genes.**Material and methods.** The study included 101 men 40-70 years old with documented coronary atherosclerosis, who underwent coronary artery bypass grafting. According

to the histological analysis of atherosclerotic plaques, men were divided into 2 groups: 40 men (39,6%) with stable plaque; 61 men (60,4%) with vulnerable plaques in CA. Genotyping of rs1799963 and rs6046 was performed by reverse transcription polymerase chain reaction, rs1799889 — by polymerase chain reaction. Statistical processing was performed using the SPSS 16.0 software package.

Results. In patients with stable plaques, allele A of rs6046 polymorphism in the *F7* gene was observed in 2,9 times more often (95% confidence interval (CI), 1,20-7,20, $p=0,021$) than in men with vulnerable plaques. The odds ratio of the GA genotype carriage is 4,03 times higher among patients with stable plaques in CA compared with vulnerable plaques (95% CI, 1,49-10,93, $p=0,006$). The odds ratio of the 5G/4G genotype carriage among patients with stable plaques in CA is 2,47 times higher than in patients with vulnerable plaques (95% CI, 1,08-5,62, $p=0,039$). The 4G/4G genotype carriage is 5,85 times much more common in men with stable plaques (95% CI, 1,61-21,34, $p=0,003$).

Conclusion. Polymorphism in the *PAI1* (rs1799889) and *F7* (rs6046) genes are associated with the presence of vulnerable plaques in CA in men with verified coronary atherosclerosis. There were no differences between the groups in the frequencies of genotypes and alleles of the rs1799963 polymorphism of the *F2* gene. Also, no significant differences were found in the blood levels of PAI-1 and factor VII in groups with different genotypes.

Key words: hemostasis, factor II, factor VII, *PAI1*, stable and vulnerable atherosclerotic plaques in coronary arteries, single-nucleotide polymorphism, rs6046, rs1799889, rs1799963.

Relationships and Activities. The study was carried out within the state assignments № АААА-А17-117112850280-2 and № 0324-2017-0048 and with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research grant № 19-015-00055a.

¹Research Institute of Internal and Preventive Medicine, Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk; ²Meshalkin National Medical Research Center, Novosibirsk, Russia.

Stryukova E.V.* ORCID: 0000-0001-5316-4664, Maksimov V.N. ORCID: 0000-0002-7165-4496, Ragino Yu.I. ORCID: 0000-0002-4936-8362, Polonskaya Ya.V. ORCID: 0000-0002-3538-0280, Murashov I.S. ORCID: 0000-0002-3712-1258, Volkov A.M. ORCID: 0000-0001-9697-7091, Kurguzov A.V. ORCID: 0000-0003-1345-2199, Chernyavsky A.M. ORCID: 0000-0001-9818-8678, Kashtanova E.V. ORCID: 0000-0003-2268-4186.

*Corresponding author:
stryukova.j@mail.ru

Received: 21.01.2020 **Revision Received:** 29.02.2020 **Accepted:** 13.03.2020

For citation: Stryukova E.V., Maksimov V.N., Ragino Yu.I., Polonskaya Ya.V., Murashov I.S., Volkov A.M., Kurguzov A.V., Chernyavsky A.M., Kashtanova E.V. Polymorphisms in *F2*, *F7*, and *PAI1* genes in men with coronary atherosclerosis. *Russian Journal of Cardiology*. 2020;25(10):3721. (In Russ.) doi:10.15829/1560-4071-2020-3721

Генетическая предрасположенность является важным фактором риска развития атеросклероза, приводящего к ишемической болезни сердца (ИБС), ишемии и инфаркту миокарда (ИМ). В настоящее время ведутся исследования, направленные на изучение ассоциаций между однонуклеотидными полиморфизмами и клиническим развитием атеросклероза коронарных артерий (КА) [1-3]. Изучены гены-кандидаты, участвующие в инициации и прогрессировании ИБС, в т.ч. связанные с липидным обменом, коагуляцией и воспалением [2, 4, 5]. Несмотря на это, понимание атеротромботических процессов, протекающих в КА, остается неполным, что ограничивает возможности прогнозирования и профилактики сердечно-сосудистых событий, особенно, в молодом возрасте, когда традиционные факторы риска недостаточно выражены [5, 6].

Среди компонентов системы свертывания крови повышенный уровень фактора VII, фактора II и ингибитора активатора плазминогена I ассоциируется с атеротромботическими нарушениями. Полиморфизм генов, кодирующих эти циркулирующие белки, может влиять на их структуру, концентрацию или функцию и тем самым приводить к нарушениям в системе гемостаза.

Поэтому целью нашего исследования было изучение полиморфизмов генов *PAI1* (rs1799889, -675insG, 4G/5G), *F2* (rs1799963, G20210A), *F7* (rs6046, R353Q), поиск их ассоциаций с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек (НАСБ) в КА и с уровнем белков, кодируемых этими генами, у мужчин с коронарным атеросклерозом.

Материал и методы

Дизайн исследования построен по принципу “случай-контроль”. Исследование проведено в рамках Программы совместных научно-исследовательских работ НИИТПМ — филиал ИЦиГ СО РАН (научный руководитель работы — д.м.н., член-корр. РАН Рагино Ю.И.) и ФГБУ “НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина” Минздрава России (научный руководитель работы — д.м.н., профессор Чернявский А.М.). Проведение исследования было одобрено Локальными Этическими Комитетами обоих учреждений. До включения в исследование у всех участников было получено письменное информированное согласие.

В исследование был включен 101 мужчина 40-70 лет с коронароангиографически верифицированным коронарным атеросклерозом, без острого коронарного синдрома со стабильной стенокардией напряжения II-III функционального класса. Пациенты поступали в клинику ФГБУ “НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина” Минздрава России на операцию коронарного шунтирования, в ходе операции по интраоперационным показаниям была проведена эндартериектомия из КА. Материал эндартериектомии был поперечно разделен на фрагменты, содержащие атеросклеротические бляшки (АСБ), для проведения гистологических исследований. Гистологический анализ фрагментов интимы-меди КА после стандартной окраски гематоксилин-эозином и Ван Гизон проводился на бинокулярном микроскопе AxioStar Plus (C. Zeiss) с цифровым фотовыходом. Стабильные АСБ (сАСБ) и НАСБ были дифференцированы согласно критериям Waksman R [7]. Согласно гистологическому за-

ключению, все мужчины были разделены на 2 группы: у 40 мужчин (39,6%) были сАСБ в КА, а у 61 мужчины (60,4%) наряду со сАСБ были также и нАСБ в КА.

Критериями исключения пациентов из исследования были ИМ давностью <6 мес., острые воспалительные заболевания, обострение хронических воспалительных заболеваний, активные заболевания печени, почечная недостаточность, онкологические заболевания.

Для проведения биохимических исследований методом иммуноферментного анализа с использованием стандартных тест систем ELISAs на анализаторе Multiscan EX (Финляндия) до операции коронарного шунтирования у всех мужчин однократно утром натощак проводился забор крови из вены для получения плазмы и сыворотки. В плазме крови определяли следующие факторы свертывания крови: фактор II, фактор VII, ингибитор активатора плазминогена-1 (PAI-1), тест-системы AssayPro, липопротеин(а) (ЛП(а)) (AssayPro), фактор XII (AssayPro).

ДНК выделена методом фенол-хлороформной экстракции из венозной крови пациентов.

Для генотипирования rs179963 (*F2*) и rs6046 (*F7*) использовались наборы производителя “ДНК-технология” для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени.

Генотипирование rs1799889 (*SERPINE1* или *PAI1*) проведено методом ПЦР с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов. Для амплификации использовали праймеры: прямой 5'-cacagagagtctggccacgt-3' и обратный 5'-ccaacagaggactctgtct-3'. Смесь для ПЦР

объемом 25 мкл включала: Трис-HCl (pH 9,0) 75 мМ, (NH₄)₂SO₄ 20 мМ, Tween-20,01%, 2,5 мМ MgCl₂, по 1,0 мкл каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 0,4 единицы Taq-полимеразы, вода до объема 25 мкл. Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 35 циклов, включающих денатурацию 95° С 30 сек, отжиг праймеров 55° С 30 сек и элонгацию 72° С 30 сек. Рестрикцию проводили с 10 единицами активности рестриктазы Bsc4I (ООО СибЭнзим, Россия). Размер продукта амплификации 98 п.н. После проведения рестрикции при наличии аллеля 4G детектировался продукт 98 п.н., при наличии аллеля 5G — продукты 77 п.н. и 22 п.н.

Полученные результаты статистически обработаны с помощью пакета программ SPSS 16.0, определены частоты генотипов и аллелей изучаемых однонуклеотидных полиморфизмов, в группах у мужчин со сАСБ и нАСБ. Сравнение групп по частотам генотипов и аллелей выполнялось с помощью таблиц сопряженности с использованием критерия хи-квадрат по Пирсону. В случае четырёхпольных таблиц применяли точный двусторонний критерий Фишера с поправкой Йетса на непрерывность. В качестве уровня значимости использовали p<0,05.

Нормальность распределения биохимических параметров проверяли с использованием теста Колмогорова-Смирнова. В случае отклонения от нормального распределения использовали тест Крускалла-Уоллиса и тест Манна-Уитни. В случае номинальной и порядковой шкалы данных использовались таблицы сопряженности и тест хи-квадрат по Пирсону с поправкой на правдоподобие. В качестве уровня значимости также использовали p<0,05.

Таблица 1

Частоты генотипов и аллелей однонуклеотидных полиморфизмов генов в группах мужчин со сАСБ и нАСБ

Однонуклеотидный полиморфизм	Генотип/ аллель	Группа со сАСБ		Группа с нАСБ	
		n	%	n	%
rs179963 (<i>F2</i>)	GA	0	0	1	1,6
	GG	37	100	60	98,4
	G	100		99	
	A	0		1	
rs6046 (<i>F7</i>)	GG	23	62,2	53	86,9
	GA	14	37,8	7	11,5
	AA	0	0	1	1,6
	G	81,1		92,6	
	A	18,9		7,4	
rs1799889 (<i>PAI1</i>)	5G5G	14	35,9	20	32,8
	5G4G	22	56,4	21	34,4
	4G4G	3	7,7	20	32,8
	5G	64,1		50	
	4G	35,9		50	

Сокращения: нАСБ — нестабильная атеросклеротическая бляшка, сАСБ — стабильная атеросклеротическая бляшка.

Результаты

Выявлены статистически значимые различия между группами со сАСБ и нАСБ по частотам генотипов полиморфизма rs6046 гена *F7* (p=0,007), аллель G vs A отношение шансов (ОШ) =2,93, что означает у пациентов со сАСБ в КА аллель А встречается в 2,9 раз чаще (95% доверительный интервал (ДИ) 1,20-7,20, p=0,021), чем у мужчин с нАСБ. ОШ обнаружить носительство генотипа GA в 4,03 раза больше среди пациентов со сАСБ в КА по сравнению с пациентами с нАСБ (95% ДИ 1,49-10,93, p=0,006).

Также получены статистически значимые различия между группами со сАСБ и нАСБ по частотам генотипов полиморфизма rs1799889 гена *PAI1* (p=0,010). При этом по частотам аллелей 4G и 5G достоверной разницы не получено (p=0,058). ОШ обнаружить носительство генотипа 5G4G в 2,47 раза больше среди пациентов со сАСБ в КА по сравнению с пациентами с нАСБ (95% ДИ 1,08-5,62, p=0,039). Тогда как носительство генотипа 4G4G значительно чаще встречается в группе мужчин с нАСБ (ОШ=5,85, 95% ДИ 1,61-21,34, p=0,003).

Таблица 2

Уровни биохимических факторов в крови в зависимости от генотипа у мужчин со сАСБ и нАСБ

Биохимический маркер	Генотип	Общая группа	Группа со сАСБ	Группа с нАСБ
		Медиана [квартили]	Медиана [квартили]	Медиана [квартили]
Фактор VII, нг/мл	GA	279,28 [172,41; 530,95]	297,30 [226,83; 595,26]	216,09 [133,92; 873,08]
	GG	284,92 [218,35; 430,75]	302,93 [234,38; 423,23]	284,54 [209,32; 459,78]
PAI-1, нг/мл	5G5G	397,14 [322,07; 528,08]	330,41 [327,778]	399,99 [304,95; 568,58]
	5G4G	387,37 [349,45; 445,16]	391,21 [350,60; 450,70]	383,53 [348,74; 432,70]
	4G4G	412,73 [317,68; 468,48]	447,95 [265,38; 545,48]	382,65 [327,89; 454,66]

Сокращения: нАСБ — нестабильная атеросклеротическая бляшка, сАСБ — стабильная атеросклеротическая бляшка.

Таблица 3

Уровни ЛП(а) в крови в зависимости от генотипа *F7*, *PAI1* у мужчин со сАСБ и нАСБ

Биохимический маркер	Генотип	Общая группа	Группа со сАСБ	Группа с нАСБ
		Медиана [квартили]	Медиана [квартили]	Медиана [квартили]
ЛП(а), мг/дл	GA (<i>F7</i>)	17,13 [6,44; 22,38]	20,62 [6,44]	16,56 [7,82; 21,06]
	GG (<i>F7</i>)	18,46 [13,91; 34,12]	17,51 [14,94; 26,20]	19,42 [13,26; 42,48]
ЛП(а), мг/дл	5G5G (<i>PAI1</i>)	17,33 [8,09; 29,15]	-	17,33 [8,09; 29,15]
	5G4G (<i>PAI1</i>)	15,47 [12,27; 19,75]	15,78 [10,68; 19,74]	15,11 [12,98; 29,59]
	4G4G (<i>PAI1</i>)	26,13 [19,76; 37,70]	22,61 [20,88; 28,21]	37,00 [17,1; 46,56]

Сокращения: нАСБ — нестабильная атеросклеротическая бляшка, сАСБ — стабильная атеросклеротическая бляшка.

Таблица 4

Уровни фактора XII в крови в зависимости от генотипа *F7*, *PAI1* у мужчин со сАСБ и нАСБ

Биохимический маркер	Генотип	Общая группа	Группа со сАСБ	Группа с нАСБ
		Медиана [квартили]	Медиана [квартили]	Медиана [квартили]
Фактор XII, мкг/мл	GA (<i>F7</i>)	71,34 [27,51; 122,91]	45,31 [25,77; 94,47]	119,64 [36,82; 152,84]
	GG (<i>F7</i>)	91,33 [49,11; 147,24]	59,66 [37,96; 130,34]	126,67 [76,67; 152,12]
Фактор XII, мкг/мл	5G5G (<i>PAI1</i>)	70,67 [33,61; 106,82]	30,40 [25,71]	74,00 [42,00; 124,37]
	5G4G (<i>PAI1</i>)	76,00 [39,38; 144,89]	48,33 [35,85; 83,17]	133,13 [49,11; 152,12]
	4G4G (<i>PAI1</i>)	129,51 [81,76; 166,00]	89,35 [43,40; 159,34]	139,91 [110,30; 176,26]

Сокращения: нАСБ — нестабильная атеросклеротическая бляшка, сАСБ — стабильная атеросклеротическая бляшка.

В группе со сАСБ не найдено носителей редкого аллеля А полиморфизма rs1799963 гена *F2*. Не выявлено статистически значимых различий между группами по частотам генотипов и аллелей полиморфизма rs1799963 гена *F2* (табл. 1).

Статистически значимой разницы между уровнями биохимических показателей в группах с разными генотипами получено не было ($p > 0,05$) (табл. 2).

С учётом плейотропности действия генов и недостаточной изученности тонких механизмов регуляции гемостаза, был выполнен анализ дополнительных биохимических показателей: липопротеина(а) и фактора XII у пациентов с различными генотипами *PAI1*, *F7* (табл. 3).

Выявлены различия уровня ЛП(а) у пациентов с разными генотипами *PAI1*, при этом различия получены как в общей группе ($p = 0,019$), так и в группе пациентов со сАСБ ($p = 0,02$). Различий в группе пациентов с нАСБ получено не было.

Также не выявлено различий по уровню ЛП(а) в зависимости от генотипов *F7* (табл. 4).

Выявлены различия между уровнями фактора XII в зависимости от генотипов *F7* в общей группе ($p = 0,039$), также были выявлены различия между пациентами со сАСБ и нАСБ в группе с генотипом GG ($p = 0,031$).

Были выявлены различия между уровнями фактора XII в зависимости от генотипов *PAI1* в общей группе ($p = 0,01$), в группе пациентов со сАСБ ($p = 0,02$). Различаются уровни фактора XII между пациентами со сАСБ и нАСБ в двух группах: с генотипом 5G4G ($p = 0,036$), с генотипом 4G4G ($p = 0,025$).

Обсуждение

F7. Повреждение сосудов, вызванное деструкцией эндотелия, стимулирует выброс тканевого фактора и, соответственно, его связывание с циркулирующим фактором VII, который обладает к нему высокой

афинностью и специфичностью [8]. Фактор VII затем быстро превращается в фактор VIIa, связывает фактор X, что приводит к его превращению в фактор Xa. Все это впоследствии приводит к активации тромбина и формированию тромба. Таким образом, активация внешнего пути свертывания крови играет важнейшую роль в эндотелиальной дисфункции и развитии атеросклероза [9, 10].

Когортные исследования, например, исследование Martinelli N, et al., сообщают о том, что плазменная концентрация FVIIa-тканевого фактора является маркером риска общей и сердечно-сосудистой смертности у пациентов с клинически стабильной ИБС [11]. Существуют некоторые клинические исследования, рассматривающие роль комплекса тканевой фактор-фактор VIIa в прогрессировании атеросклероза. Уровень данного комплекса прямо пропорционально связан с повышенной толщиной интимы-меди каротидных сосудов как у молодых здоровых взрослых, так и у пациентов с заболеваниями периферических артерий [12].

Ген, отвечающий за фактор свертывания крови VII, находится на хромосоме 13q34 [13]. Сообщалось о противоречивой связи между полиморфизмами гена фактора свертывания крови VII и ИБС в различных популяциях [14]. Rs6046 *F7* был связан с распространенностью ишемического инсульта в популяционном эпидемиологическом генетическом исследовании Olson NC, et al. [15]. Однако в некоторых исследованиях сообщается о снижении риска ИБС при наличии редкого аллеля, например, метаанализ Mo X, et al., включавший 9151 случай ИБС и 14099 человек в контрольной группе [16].

В теории, фактор VII способствует развитию атеросклероза через образование тромбина и фибрина. Развитие коагуляции в стенке сосуда может привести к продукции тромбина и активации тромбоцитов, что приводит к высвобождению различных цитокинов и пролиферации гладкомышечных клеток в стенке сосуда. Таким образом, у лиц с более низким уровнем фактора VIIc может быть меньше шансов на развитие ИБС, при этом в проспективном обсервационном когортном исследовании Zakai NA, et al., включавшем американских мужчин и женщин старше 65 лет для оценки факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний, редкий аллель был ассоциирован со сниженными уровнями фактора VII в крови [17, 18]. В работе Vaigova TA, et al., где исследовались российские подростки в возрасте 15,7 лет с гипертонической болезнью и контрольная группа, обладатели аллеля G имели значительно более высокую активность фактора свертывания крови *F7* чем обладатели аллеля A [19]. Таким образом, редкий аллель связан со снижением уровня фактора VII в крови у различных групп пациентов в широком возрастном диапазоне.

Следовательно, полиморфизм *F7* может быть ассоциирован со снижением риска сердечно-сосудистых событий сам по себе, при этом, по нашим данным, у пациентов только со сАСБ аллель A встречался чаще, что также может свидетельствовать о снижении риска развития нАСБ в КА. Точная биологическая роль конкретного полиморфизма еще не определена. Есть данные, что ген *F7* кодирует белок проконвертин или конвертин, который участвует в образовании тканевой протромбиназы и превращении протромбина в тромбин. Носительство аллеля A приводит к понижению уровня конвертина в крови на 30% [20].

PAII. Система урокиназного активатора плазминогена/рецептора урокиназного активатора плазминогена (u-PAR) играет ключевую роль в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний. Уровень урокиназного активатора плазминогена в крови повышен у пациентов с нестабильной стенокардией, а система урокиназы связана с признаками нестабильности АСБ [21].

Также важным фактором в активации эндогенного фибринолиза является PAI-1, который угнетает как тканевой активатор плазминогена (t-PA), так и урокиназный активатор плазминогена (uPA). Высокая активность PAI-1 вызывает снижение активации плазминогена и, как следствие, ухудшение фибринолиза, т.о. увеличивая риск тромботических событий, таких как сердечно-сосудистые и цереброваскулярные заболевания, потеря беременности и преэклампсия [22]. У многих исследователей отмечено, что PAI-1 находится в избытке в АСБ у людей [23].

Ген *SERPINE1* находится на хромосоме 7q22 [24]. При этом редкий аллель 4G связан с большей экспрессией PAI-1, что было показано в исследованиях Ding J, et al., включавших мужчин и женщин в возрасте от 70 до 79 лет (белых и афроамериканцев) [25], а также было подтверждено в обзоре Tsantes AE, et al. [26]. В метаанализе Nikolopoulos GK, et al., основанном на 53 исследованиях, показано, что аллель 4G полиморфизма rs1799889 гена *SERPINE1* связан с повышенным риском ИМ посредством изменения уровня PAI-1 плазмы [27]. Также в метаанализе Liu Y, et al. 2018г, включавшем 99 исследований, полиморфизм rs1799889 был в значительной степени связан с риском ИМ и ишемического инсульта. Кроме того, полиморфизм rs1799889 значительно коррелировал с риском развития атеросклероза как в азиатской популяции, так и у европеоидов [28].

В нашем исследовании выявлено различие между группами со сАСБ и нАСБ по частотам генотипов rs1799889 гена *PAII*, при этом у пациентов с нАСБ генотип 4G4G встречался чаще, а 5G4G наоборот реже, по сравнению с мужчинами со сАСБ. Не было выявлено различия между уровнями PAI-1 в крови в группах с разными генотипами, однако в тест-системах ELISAs верхняя граница диапазона нормальных

значений определена как 100 нг/мл. По нашим данным, большая часть значений PAI-1 была выше данной границы, вероятнее всего, в связи с наличием у всех пациентов ИБС, поэтому разницы в уровнях PAI-1 получено не было.

Ограничения исследования. Данное исследование является пилотным и ограничено небольшой выборкой мужчин с верифицированным коронарным атеросклерозом, т.к. 97% пациентов, поступивших на операцию коронарного шунтирования, были мужчинами. Набор женщин требует много времени, поэтому анализ будет выполнен в будущем.

Заключение

Полиморфизмы rs1799889 гена *PAI1* и rs6046 гена *F7* ассоциированы с наличием НАСБ в КА у мужчин с верифицированным коронарным атеросклерозом.

Литература/References

- Kalayi Nia S, Ziaee S, Boroumand MA, et al. The impact of vascular endothelial growth factor +405 C/G polymorphism on long-term outcome and severity of coronary artery disease. *J Clin Lab Anal.* 2017;31(4):e22066. doi:10.1002/jcla.22066.
- Abraham G, Havulinna AS, Bhalala OG, et al. Genomic prediction of coronary heart disease. *Eur Heart J.* 2016;37:3267-78. doi:10.1093/eurheartj/ehw450.
- de Vries MA, Trompet S, Mooijart SP, et al. Complement receptor 1 gene polymorphisms are associated with cardiovascular risk. *Atherosclerosis.* 2017;257:16-21. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2016.12.017.
- Sayin Kocakap DB, Dogru MT, Simsek V, et al. The association of paraoxonase 1 gene L55M polymorphism with the extent and severity of coronary artery disease in the Turkish population and its dependence on gender. *Anatol J Cardiol.* 2016;16(3):175-82. doi:10.5152/akd.2015.6010.
- Li L, Pan Y, Dai L, et al. Association of genetic polymorphisms on vascular endothelial growth factor and its receptor genes with susceptibility to coronary heart disease. *Med Sci Monit.* 2016;22:31-40. doi:10.12659/MSM.895163.
- Li JF, Peng DY, Ling M, Yin Y. Evaluation of adenosine triphosphate-binding cassette transporter A1 (ABCA1) R219K and C-reactive protein gene (CRP) +1059G/C gene polymorphisms in susceptibility to coronary heart disease. *Med Sci Monit.* 2016;22:2999-3008. doi:10.12659/MSM.897104.
- Waksman R, Seruys PW. *Handbook of the Vulnerable Plaque.* London, 2004. p. 48. ISBN: 0-203-48989-6.
- Bochenek ML, Schutz E, Schafer K. Endothelial cell senescence and thrombosis: ageing clots. *Thrombosis research.* 2016;147:36-45. doi:10.1016/j.thromres.2016.09.019.
- Yuan HQ, Hao YM, Ren Z, et al. Tissue factor pathway inhibitor in atherosclerosis. *Clin Chim Acta.* 2019;491:97-102. doi:10.1016/j.cca.2019.01.024.
- Cimmino G, Ciccarelli G, Golino P. Role of Tissue Factor in the Coagulation Network. *Semin Thromb Hemost.* 2015;41(7):708-17. doi:10.1055/s-0035-1564045.
- Martinelli N, Girelli D, Baroni M, et al. Activated factor VII-antithrombin complex predicts mortality in patients with stable coronary artery disease: a cohort study. *J Thromb Haemost.* 2016;14(4):655-66. doi:10.1111/jth.13274.
- Green D, Foiles N, Chan C, et al. An association between clotting factor VII and carotid intima-media thickness: the CARDIA study. *Stroke.* 2010;41(7):1417-22. doi:10.1161/STROKEAHA.110.580100.
- DB Gene. *F7 coagulation factor VII [Homo sapiens (human)]* — NCBI. (n.d.). Retrieved September 07, 2020, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2155>.
- Huang H, Long W, Zhao W, et al. Polymorphism of R353Q (rs6046) in factor VII and the risk of myocardial infarction: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2018;97(39):e12566. doi:10.1097/MD.00000000000012566.
- Olson NC, Raffield LM, Lange LA, et al. Associations of activated coagulation factor VII and factor VIII-antithrombin levels with genome-wide polymorphisms and cardiovascular disease risk. *J Thromb Haemost.* 2018;16(1):19-30. doi:10.1111/jth.13899.
- Mo X, Hao Y, Yang X, et al. Association between polymorphisms in the coagulation factor VII gene and coronary heart disease risk in different ethnicities: a meta-analysis. *BMC Med Genet.* 2011;12:107. doi:10.1186/1471-2350-12-107.
- Zakai NA, Lange L, Longstreth WT Jr, et al. Association of coagulation-related and inflammation-related genes and factor VIIc levels with stroke: the Cardiovascular Health Study. *J Thromb Haemost.* 2011;9(2):267-74. doi:10.1111/j.1538-7836.2010.04149.x.
- Ken-Dror G, Drenos F, Humphries SE, et al. Haplotype and genotype effects of the F7 gene on circulating factor VII, coagulation activation markers and incident coronary heart disease in UK men. *J Thromb Haemost.* 2010;8(11):2394-403. doi:10.1111/j.1538-7836.2010.04035.x.
- Bairova TA, Gommellya MV, Dolgich VV, et al. Polymorphism (353)R>Q of gene of blood clotting factor VII and plasma hemostasis. *Russ J Genet.* 2016;52(2):214-9. doi:10.1134/S1022795415120030.
- Mathilde H, Arnaldo A, Stanislaw L, et al. The Arg353Gln Polymorphism Reduces the Level of Coagulation Factor VII. In *Vivo and in Vitro Studies. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* 1997;17:2825-9. doi:10.1161/01.ATV.17.11.2825.
- Zhang Y, Chen W, Chen LF, et al. Increased Urokinase-Type Plasminogen Activator Receptor Expression on Circulating Monocytes Is Correlated with Clinical Instability and Long-Term Adverse Cardiac Events in Patients with Coronary Artery Disease. *Cardiology.* 2016;135(2):98-107. doi:10.1159/000446392.
- Liguori R, Quaranta S, Di Fiore R, et al. A novel polymorphism in the PAI-1 gene promoter enhances gene expression. A novel pro-thrombotic risk factor? *Thromb Res.* 2014;134(6):1229-33. doi:10.1016/j.thromres.2014.09.021.
- Mani V, Woodward M, Samber D, et al. Predictors of change in carotid atherosclerotic plaque inflammation and burden as measured by 18-FDG-PET and MRI, respectively, in the dal-PLAQUE study. *Int J Cardiovasc Imaging.* 2014;30(3):571-82. doi:10.1007/s10554-014-0370-7.
- DB SERPINE1 serpin family E member 1 [Homo sapiens (human)] — Gene — NCBI. (n.d.). Retrieved September 07, 2020. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5054>.
- Ding J, Nicklas BJ, Fallin MD, et al. Plasminogen activator inhibitor type 1 gene polymorphisms and haplotypes are associated with plasma plasminogen activator inhibitor type 1 levels but not with myocardial infarction or stroke. *Am Heart J.* 2006;152(6):1109-15. doi:10.1016/j.ahj.2006.06.021.
- Tsantes AE, Nikolopoulos GK, Bagos PG, et al. The effect of the plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism on the thrombotic risk. *Thromb Res.* 2008;122(6):736-42. doi:10.1016/j.thromres.2007.09.005.
- Nikolopoulos GK, Bagos PG, Tsangaris I, et al. The association between plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1) levels, PAI-1 4G/5G polymorphism, and myocardial infarction: a Mendelian randomization meta-analysis. *Clin Chem Lab Med.* 2014;52(7):937-50. doi:10.1515/ccclm-2013-1124.
- Liu Y, Cheng J, Guo X, et al. The roles of PAI-1 gene polymorphisms in atherosclerotic diseases: A systematic review and meta-analysis involving 149,908 subjects. *Gene.* 2018;673:167-73. doi:10.1016/j.gene.2018.06.040.

Не выявлено различий между группами по частотам генотипов и аллелей rs1799963 гена *F2*. Также не обнаружено статистически значимых различий в уровнях PAI-1 и фактора VII в плазме крови в группах с различными генотипами. Выявлены различия между уровнями фактора XII в плазме крови в зависимости от генотипов полиморфизмов rs1799889 гена *PAI1* и rs6046 гена *F7*. Выявлены различия уровня ЛП(а) в плазме крови у пациентов с разными генотипами полиморфизма rs1799889 гена *PAI1*.

Отношения и деятельность. Исследование выполнено в рамках бюджетной темы государственного задания № АААА-А17-117112850280-2, в рамках бюджетной темы по поддержке биоресурсных коллекций по государственному заданию № 0324-2017-0048 и при финансовой поддержке гранта РФФИ № 19-015-00055а.