

© ШЕСТЕРНЯ П. А.

УДК 575.174:616.132.2-089.5:611.778:616-089.17

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ ИНФАРКТА МИОКАРДА: ВЗАИМОСВЯЗЬ С ЭЛЕКТРОКАРДИОГРАФИЧЕСКИМИ И КЛИНИЧЕСКИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

П. А. Шестерня

ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого
Министерства здравоохранения РФ, ректор — д. м. н., проф. И. П. Артюхов; кафедра внутренних болезней № 1,
зав. — д. м. н., проф. С. Ю. Никулина.

Резюме. Проведен анализ взаимосвязи однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) rs1333049 и rs10757278 локуса 9p21.3 с развитием и клиническими характеристиками инфаркта миокарда (ИМ). Выявлена статистически значимая ассоциация генотипов/аллелей риска rs1333049 и rs10757278 с ИМ. Отношение шансов (ОШ) развития инфаркта миокарда у носителей одного или двух аллелей риска rs1333049 составило 1,84 [95 % ДИ: 1,37-2,48] и 1,57 [95 % ДИ: 1,18-2,11] соответственно. Не выявлено ассоциации генетических предикторов с такими характеристиками инфаркта миокарда как наличие подъема сегмента ST, патологического зубца Q и локализацией инфаркта миокарда. В то же время, среди больных ИМ с подъемом сегмента ST гомозиготный генотип CC rs1333049 статистически значимо ассоциировался с тяжестью состояния больных при поступлении, оцененной по шкале GRACE. Так, ОШ высокого и умеренного риска летального исхода в стационаре у носителей генотипа CC rs1333049 было равным 1,79 [95 % ДИ: 1,12-2,86].

Ключевые слова: инфаркт миокарда, локус 9p21.3, однонуклеотидный полиморфизм, rs10757278, rs1333049, GRACE.

Актуальность сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), обусловленная не только высоким уровнем смертности, но и огромными социально-экономическими потерями, не вызывает сомнений [2, 5]. Развитие медицинской науки, базирующейся на основе превентивного, профилактического и персонализированного подхода, невозможно без учета характеристик генотипа человека [3, 4].

Идентификация роли небольшого участка генома на коротком плече 9 хромосомы (локус 9p21.3) в развитии ишемической болезни сердца (ИБС) и инфаркта миокарда (ИМ) стала возможной в результате секвенирования генома человека. На сегодняшний день несомненны независимость и универсальность этой «горячей точки» генома в развитии ИБС, доказанные в различных популяциях [10, 13, 14]. При этом механизм реализации данного генетического феномена до сих пор не определен и активно изучается. Содержащаяся в локусе 9p21.3 некодирующая регуляторная рибонуклеиновая кислота (нкРНК) не входит в состав ни одного из известных генов. Однако в большинстве опубликованных работ приводится взаимосвязь локуса 9p21.3 с тяжестью и темпами прогрессирования атеросклероза различной локализации [1, 6, 7, 12]. В мета-анализе, посвященном изучению взаимосвязи локуса 9p21.3 с клиническими и ангиографическими данными у больных ИБС, авторами сделан вывод об ассоциации локуса 9p21.3 именно с тяжестью коронарного атеросклероза [9].

Логическим продолжением научного поиска является изучение прогностической роли локуса 9p21.3 на течение и исходы ИМ [8, 15]. Учитывая имеющуюся взаимосвязь с тяжестью атеросклеротического поражения

коронарного русла, гипотетически можно предполагать наличие взаимосвязи между генетическими данными и клинической оценкой тяжести состояния. Поскольку ключевым вопросом в настоящее время остается клиническое применение генетической информации, нами была поставлена цель работы: изучить взаимосвязь однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) rs10757278 и rs1333049 локуса 9p21.3 с клиническими характеристиками ИМ.

Материалы и методы

Исследование проводилось на базе двух крупнейших кардиологических клиник г. Красноярск: Краевая клиническая больница и Городская клиническая больница №20 имени И. С. Берзона. За период с 01.01.2009 по 30.06.2010 гг. в исследование было включено 500 больных ИМ европеоидной расы в возрасте от 22 до 65 лет [Me 54,0; Q₂₅ 48,0; Q₇₅ 59,0], в том числе 411 (82,2%) мужчин и 89 (17,8%) женщин. Научная работа одобрена локальным этическим комитетом Красноярского государственного медицинского университета (протокол № 21 от 30.03.2009 года) и проводится в рамках комплексной темы «Клинико-генетические аспекты мультифакториальных сердечно-сосудистых заболеваний».

Контрольная группа была сформирована на основе случайной выборки двух крупномасштабных эпидемиологических исследований по изучению тенденций заболеваемости и смертности от ССЗ и определяющих их факторов MONICA и HAPIEE, выполненных в НИИ терапии СО РАМН (г. Новосибирск). Объем выборки из генеральной совокупности определялся протоколами программ и составил около 11000 человек. Из общей когорты участников

программы была сформирована группа контроля, включавшая 530 человек без ИБС. Для исключения ИБС использовался стандартный вопросник Rose. Группа контроля состояла из 423 (79,1%) мужчин и 112 (20,9%) женщин в возрасте до 65 лет [Me 55,0; Q₂₅ 48,0; Q₇₅ 61,0]. Группа контроля и группа больных ИМ были сопоставимы по возрасту ($p=0,351$) и полу ($p=0,239$).

После подписания формы информированного согласия всем больным производился забор 10 мл венозной крови для последующего выделения ДНК методом фенол-хлороформной экстракции. Генотипирование ОНП rs1333049 и rs10757278 локуса 9p21.3 проводилось с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени в соответствии с протоколом фирмы производителя (зонды и праймеры TaqMan, Applied Biosystems) на приборе AB 7900HT. Количество валидных результатов генотипирования rs1333049 в исследуемой группе составило 486 (97,2%), в т.ч. у мужчин – 400 (97,3%), у женщин – 86 (96,6%); в группе контроля – 526 (98,3%), 414 (97,9%) и 112 (100%) соответственно. Результаты генотипирования rs10757278 подлежали оценке у 473 (94,6%) больных ИМ, в т.ч. у 391 (95,1%) мужчины и 82 (92,1%) женщин; в группе контроля – 446 (83,4%), 335 (79,2%) и 111 (99,1%) соответственно.

Статистическая обработка полученных данных выполнялась при помощи программы SPSS v. 20.0. Описательная статистика результатов исследования представлена для качественных признаков в виде процентных долей и их стандартных ошибок (m), для количественных – в виде средних арифметических (M) и стандартных отклонений (σ), медианы (Me) и квартилей (Q). Проверка нормальности распределения значений переменных в группах наблюдения проводилась с использованием критерия Колмогорова-Смирнова. Значимость различий качественных признаков в группах наблюдения оценивали при помощи непараметрического критерия χ^2 Пирсона с поправкой на

непрерывность. При частоте встречаемости признака 5 и менее использовался точный критерий Фишера. Для оценки значимости статистических различий количественных признаков использовался ранговый критерий Манна-Уитни. Различия во всех случаях оценивали как статистически значимые при $p<0,05$. Корреляционный анализ проводился с помощью непараметрического критерия Спирмена. Для оценки риска развития ИМ по конкретному аллелю или генотипу производили расчет отношения шансов (ОШ) в таблицах сопряженности 2x2 и определением доверительных интервалов (ДИ).

Результаты и обсуждение

В результате исследования выявлена ассоциация ОНП rs1333049 и rs10757278 с развитием ИМ. Частота носителей гомозиготного генотипа CC rs1333049 была статистически значимо выше в группе больных ИМ – 29,4% в сравнении с группой контроля – 18,4% ($p<0,001$). Отношение шансов у носителей гомозиготного генотипа CC rs1333049 составило 1,84 [95% ДИ: 1,37-2,48]. У носителей гетерозиготного и гомозиготного генотипа риска rs1333049 увеличивало вероятность развития ИМ в меньшей степени – ОШ 1,57 [95% ДИ: 1,18-2,11]. В отношении ОНП rs10757278 предикторное значение выявлено только для гомозиготного генотипа риска GG – ОШ 1,75 [95% ДИ: 1,28-2,40]. Статистическая значимость сохранялась при разделении больных по полу, при этом у женщин различия между больными ИМ и группой контроля были более существенными. Данные представлены в табл. 1.

Электрокардиографическими критериями, имеющими наибольшее клиническое значение при ИМ, были выбраны: наличие подъема сегмента ST, появление патологического зубца Q, локализация некроза в сердечной мышце. Данные ЭКГ подлежали анализу у 496 больных (у 3 больных была полная блокада левой ножки пучка Гиса, у 1 пациента имплантирован постоянный кардиостимулятор), у 482 из них получены успешные результаты генотипирования. Таким

Таблица 1

Ассоциация генотипов риска rs1333049 и rs1075728 локуса 9p21.3 с инфарктом миокарда

ОНП, генотип / аллель	Мужчины			Женщины			Общая группа		
	ИМ, абс. (%±m)	Контроль, абс. (%±m)	p*	ИМ, абс. (%±m)	Контроль, абс. (%±m)	p*	ИМ, абс. (%±m)	Контроль, абс. (%±m)	p*
rs1333049									
генотип СС ОШ [95% ДИ]	114 (28,5±2,3)	77 (18,6±1,9)	0,001	29 (33,7±5,1)	20 (17,9±3,6)	0,010	143 (29,4±2,1)	97 (18,4±1,7)	<0,001
	1,75 [1,26 – 2,43]			2,34 [1,21 – 4,52]			1,84 [1,37 – 2,48]		
аллель С ОШ [95% ДИ]	319 (79,8±2,0)	302 (72,9±2,2)	0,023	71 (82,6±4,1)	77 (68,8±4,4)	0,027	390 (80,2±1,8)	379 (72,1±2,0)	0,002
	1,46 [1,05 – 2,02]			2,15 [1,08 – 4,27]			1,57 [1,18 – 2,11]		
rs1075728									
генотип GG ОШ [95% ДИ]	103 (26,3±2,2)	60 (17,9±2,1)	0,007	28 (34,1±5,2)	20 (18,0±3,6)	0,010	131 (27,7±2,1)	80 (17,9±1,8)	<0,001
	1,64 [1,15 – 2,35]			2,36 [1,21 – 4,59]			1,75 [1,28 – 2,40]		
аллель G	303 (77,5±2,1)	246 (73,4±2,4)	0,204	66 (80,5±4,4)	77 (69,4±4,4)	0,081	369 (78,0±1,9)	323 (72,4±2,1)	0,050

Примечание: * – коэффициент статистической значимости по χ^2 между исследуемой (ИМ) и группой контроля.

Таблица 2

**Ассоциация генотипов риска rs1333049 и rs1075728 локуса 9p21.3
с характеристиками инфаркта миокарда**

ОНП, генотип / аллель	Подъем сегмента ST			Локализация				Патологический зубец Q		
	Да	Нет	p*	Передняя	Нижняя	Циркулярный	p*	Да	Нет	p*
rs1333049										
генотип CC абс. (%±m)	116 (28,0±2,2)	26 (38,8±6,0)	0,071	63 (29,7±3,1)	73 (30,1±3,0)	8 (21,6±6,8)	0,565	98 (29,9±2,5)	44 (28,6±3,6)	0,769
аллель C абс. (%±m)	333 (80,2±2,0)	53 (79,1±5,0)	0,829	169 (79,9±2,8)	189 (80,1±2,6)	31 (83,8±6,1)	0,847	263 (80,2±2,2)	123 (79,9±3,2)	0,936
rs1075728										
генотип GG абс. (%±m)	105 (26,1±2,2)	25 (37,3±5,9)	0,056	58 (27,9±3,1)	64 (27,8±3,0)	8 (23,5±7,3)	0,862	90 (28,4±2,5)	40 (26,1±3,6)	0,610
аллель G абс. (%±m)	312 (77,4±2,1)	54 (80,6±4,8)	0,562	160 (76,9±2,9)	180 (78,3±2,7)	28 (82,4±6,5)	0,769	245 (77,3±2,4)	121 (79,1±3,3)	0,660

Примечание: * – коэффициент статистической значимости по χ^2 между группами больных ИМ с наличием либо отсутствием вышеуказанных признаков.

Таблица 3

Риск летального исхода в стационаре (GRACE) у носителей различных генотипов rs 1333049

Генотип/ аллель риска	ИМ с подъемом ST				ИМ без подъема ST			
	<125 баллов	126-154 баллов	>154 баллов	p*	<109 баллов	109-140 баллов	>140 баллов	p*
генотип CC, абс (%±m)	45 (20,4±2,7)	40 (32,3±4,2)	10 (28,6±7,6)	0,044	12 (35,3±8,2)	8 (47,1±12,1)	5 (35,7±12,8)	0,698
	45 (20,4±2,7)	50 (31,4±3,7)		0,014	12 (35,3±8,2)	13 (41,9±8,9)		0,583
ОШ [95% ДИ]	1,79 [1,12 – 2,86]				-			
аллель C, абс (%±m)	172 (77,8±2,8)	100 (80,6±3,6)	30 (85,5±5,9)	0,520	28 (82,4±6,5)	12 (70,6±11,0)	12 (85,7±9,4)	0,511
	172 (77,8±2,8)	130 (81,8±3,1)		0,349	28 (82,4±6,5)	24 (77,4±7,5)		0,619

Примечание: * – коэффициент статистической значимости по χ^2 между группами больных ИМ, разделенным по степени риска летального исхода (GRACE).

образом, статистической обработке ассоциации полиморфных вариантов с ЭКГ-характеристиками ИМ были подвергнуты данные 482 больных. Абсолютное большинство пациентов имели подъем сегмента ST на ЭКГ – 415 (86,1%), количество больных без подъема сегмента ST составило 67 (13,9%). Две трети пациентов имели Q-волновой ИМ – 328 (68,0%), без зубца Q – 154 (32,0%). В исследуемой группе практически с равной частотой встречались ИМ передней, включая передне-боковую, локализации – 212 (43,7%) и нижней, включая нижне-боковую и заднюю, локализации – 236 (48,7%); циркулярный ИМ диагностирован у 37 (7,6%) больных.

Нами не выявлено статистически значимой взаимосвязи генотипов/аллелей риска обоих исследуемых ОНП с вышеперечисленными показателями. Данные представлены в табл. 2.

Для оценки риска летального исхода в стационаре использовался общепризнанный калькулятор GRACE (Global Registry of Acute Coronary Events), учитывающий возраст, частоту сердечных сокращений, систолическое артериальное давление, уровень креатинина сыворотки, повышение кардиоспецифических маркеров, наличие острой сердечной недостаточности и остановки сердца при поступлении [11]. Подсчет индекса производился

вручную, на основании суммы баллов пациент включался в соответствующую группу риска. При наличии подъема сегмента ST индекс GRACE в группу низкого риска включались пациенты, имевшие менее 125 баллов, умеренного риска – от 126 до 154 баллов, высокого риска – 155 баллов и более. У пациентов с ИМ без подъема сегмента ST категории риска были иными: низкий риск (менее 109 баллов), умеренный риск (109-140 баллов), высокий риск (более 140 баллов).

Учитывая прямую корреляционную зависимость между исследуемыми ОНП (для гомозиготных генотипов риска $r=0,940$, для носителей одного аллеля риска $r=0,959$), дальнейший анализ проводился только для ОНП, имевшего наибольшее предикторное значение – rs1333049.

Установлено, что больные ИМ с подъемом сегмента ST, имевшие гомозиготный генотип риска CC значительно чаще имели умеренный и высокий риск неблагоприятного исхода, в сравнении с носителями аллеля G в генотипе rs1333049. Носителей генотипа CC rs1333049 в группе низкого риска было 20,4%, а в группе среднего и высокого риска – 31,4% ($p=0,014$), ОШ = 1,79 [95% ДИ: 1,12-2,86]. Для больных ИМ без подъема сегмента ST взаимосвязи между генетическими данными и степенью тяжести по шкале GRACE выявлено не было. Результаты представлены в табл. 3.

Таким образом, у больных ИМ с подъемом сегмента ST выявлена взаимосвязь между ОНП rs1333049 локуса 9p21.3 и тяжестью состояния при поступлении, оцененной по шкале GRACE. Полученные данные могут быть использованы для стратификации риска летального исхода и развития повторного ИМ.

GENETIC PREDICTORS OF MYOCARDIAL INFARCTION: RELATIONSHIP WITH ELECTROCARDIOGRAPHIC AND CLINICAL CHARACTERISTICS OF THE DISEASE

P. A. Shesternya

Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V. F. Voino-Yasenetsky

Abstract. Has been done the analysis of the relationship of single nucleotide polymorphisms (SNPs) rs1333049 and rs10757278 locus 9p21.3 to the development and clinical features of myocardial infarction (MI). It was revealed statistically significant association of genotypes/ risk alleles rs1333049 and rs10757278 with MI. The odds ratio (OR) for myocardial infarction in carriers of one or two risk alleles rs1333049 was 1.84 [95 % CI: 1,37-2,48] and 1.57 [95 % CI: 1,18-2,11] respectively. There were no associations of genetic predictors with such myocardial infarction characteristics as the presence of segment ST elevation, pathological Q and localization of myocardial infarction. At the same time, among patients with myocardial infarction with ST-segment elevation homozygous genotype CC rs1333049 was significantly associated with the severity of the patients condition on admission, assessed on a scale of GRACE. Thus, the odds ratio of high and moderate risk of death in a hospital in carriers of rs1333049 CC genotype was equal to 1.79 [95 % CI: 1,12-2,86].

Key words: myocardial infarction, locus 9p21.3, single nucleotide polymorphism, rs10757278, rs1333049, GRACE.

Литература

1. Назаренко М.С., Марков А.В., Пузырев В.П. и др. Статус метилирования гена CDNK2A (P16 INK4A и P14 ARF) в тканях сонных артерий у больных атеросклерозом // Медицинская генетика. — 2012. — Т. 11, № 2. — С. 34-37.
2. Оганов Р.Г., Концевая А.В., Калинина А.М. Экономический ущерб от сердечно-сосудистых заболеваний в Российской Федерации // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. — 2011. — Т. 10, № 4. — С. 4-9.
3. Постановление Президиума РАМН. Развитие научных исследований и научной инфраструктуры в рамках задач платформы «Сердечно-сосудистые заболевания» // Вестник РАМН. — 2012. — № 5. — С. 14-15.

4. Стратегия развития медицинской науки в Российской Федерации на период до 2025 года [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://www.gosminzdrav.ru/health/79/0>.

5. Шальнова С.А., Конради А.О., Карпов Ю.А. и др. Анализ смертности от сердечно-сосудистых заболеваний в 12 регионах Российской Федерации, участвующих в исследовании «Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний в различных регионах России» // Российский кардиологический журнал. — 2012. — Т. 97, № 5. — С. 6-11.

6. Шестерня П.А., Сергеева А.С., Шульман В.А. и др. Лocus 9p21.3 — генетический предиктор тяжести атеросклероза коронарных артерий // Атеросклероз и дислипидемии. — 2013. — Т. 11, № 2 — С. 46-51.

7. Adrissino D., Berzuini C., Merlini P.A. et al. Influence of 9p21.3 genetic variants on clinical and angiographic outcomes in early-onset myocardial infarction // J. Am. Coll. Cardiol. — 2011. — Vol. 58, № 4. — P. 426-434.

8. Buyschaert I., Carruthers K.F., Dunbar D.R. et al. A variant at chromosome 9p21 is associated with recurrent myocardial infarction and cardiac death after acute coronary syndrome: The GRACE Genetics Study // Eur. Heart. J. — 2010. — Vol. 31, № 9. — P. 1132-1141.

9. Chan K., Patel R.S., Newcombe P. et al. Association between the chromosome 9p21 locus and angiographic coronary artery disease burden. A collaborative meta-analysis // J. Am. Coll. Cardiol. — 2013. — Vol. 61, № 4. — P. 957-970.

10. Deloukas P., Kanoni S., Willenborg C. et al. Large-scale association analysis identifies new risk loci for coronary artery disease // Nature Genetics. — 2012. — Vol. 45, № 1. — P. 25-33.

11. Global Registry of Acute Coronary Event score [Электронный ресурс] // Режим доступа: <http://www.outcomes-umassmed.org/GRACE/resources>.

12. Holdt L.M., Teupser D. Recent studies of the human chromosome 9p21 locus, which is associated with atherosclerosis in human populations // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. — 2012. — Vol. 32, № 2. — P. 196-206.

13. Prins B.P., Lagou V., Asselbergs F.W. et al. Genetics of coronary artery disease: genome-wide association studies and beyond // Atherosclerosis. — 2012. — Vol. 225, № 1. — P. 1-10.

14. Roberts R., Stewart A.F. Genetics of coronary artery disease in the 21st century // Clin. Cardiol. — 2012. — Vol. 35, № 9. — P. 536-540.

15. Wauters E., Carruthers K.F., Buyschaert 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. — Vol. 34, № 13. — P. 993-1001.

Сведения об авторах

Шестерня Павел Анатольевич — кандидат медицинских наук, доцент кафедры внутренних болезней № 1 ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ.

Адрес: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, г. 1; тел. 8(391) 2646134; e-mail: shesternya75@mail.ru.