Journal of Siberian Federal University. Biology 2 (2013 6) 175-184
~ ~ ~

УДК 616.13-004.6-055.1:575

Локус 9p21.3 – генетический предиктор тяжести коронарного атеросклероза у мужчин

П.А. Шестерня*, А.С. Сергеева, С.Ю. Никулина, В.А. Шульман
Красноярский государственный медицинский университет им. В.Ф. Войно-Ясенецкого
Россия 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1

Received 27.02.2013, received in revised form 03.03.2013, accepted 07.07.2013

Цель исследования – изучить взаимосвязь локуса 9p21.3 с тяжестью коронарного атеросклероза в сибирской популяции. В исследование включены 255 больных (211 мужчин, 44 женщины) с инфарктом миокарда (ИМ) европеоидной расы в возрасте ≤ 65 лет (52,56±7,98 лет). Геномную ДНК выделяли из венозной крови фенол-хлороформным методом. Полиморфизм генов тестировали с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени (зонды TaqMan, Applied Biosystems 7900HT). В исследовании изучались два однонуклеотидных полиморфизма (ОНП), расположенные в локусе 9p21.3 – rs10757278 и rs1333049. Оценка степени тяжести поражения коронарного русла производилась в заслепленном режиме в ходе стандартной полипроекционной коронарографии (Philips Allura Xper FD10), учитывались количество пораженных сегментов, интегральные индексы Gensini и SYNTAX. Впервые в сибирской популяции у мужчин доказана взаимосвязь генотипов GG rs10757278 и CC rs1333049 с тяжестью коронарного атеросклероза.

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

Введение

В течение длительного времени активный поиск молекулярных механизмов, объясняющих наследственную предрасположенность к ишемической болезни сердца (ИБС) и инфаркту миокарда (ИМ), оставался безуспешным. Переворот в изучении генетики ИБС произвело секвенирование полного генома и создание каталога однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) человека, стало возможным проведение крупных полногеномных ассоциативных исследований (Genome-Wide Association Study – GWAS). Начиная с 2007 года, когда впервые была идентифицирована роль локуса 9p21.3 в развитии ИМ у европейцев, эти данные были подтверждены в различных

© Siberian Federal University. All rights reserved
* Corresponding author E-mail address: shesternya75@mail.ru

популяциях, включая и Россию (Максимов и др., 2012; Шестерня и др., 2012). В последующем было выявлено несколько десятков новых ОНП, ассоциированных с развитием ИБС и ИМ (Deloukas et al., 2012; Prins et al., 2012). Однако наиболее строгим и достоверным генетическим предиктором ИБС и ИМ, известным к настоящему времени, остается небольшой участок генома (размером ~ 58kb), расположенный на коротком плече 9-й хромосомы (локус 9p21.3). Отсутствие в этом регионе генов, ответственных за синтез известных белков, существенно затрудняет интерпретацию взаимосвязи локуса 9p21.3 с ИБС. Установлено, что в локусе 9p21.3 содержится некодирующая регуляторная рибонуклеиновая кислота (нкРНК ANRIL). Высокий уровень экспрессии ANRIL выявлен в тканях и клетках, пораженных атеросклерозом (Broadbent et al., 2006). Существует предположение, что данный участок генома влияет на клеточную пролиферацию и может приводить к дестабилизации ИБС (Schunkert et al., 2010). Обсуждается также вопрос о влиянии локуса 9p21.3 на целостность атеросклеротической бляшки (Buysschaert et al., 2010). Однако механизм реализации феномена данного участка генома остается неизвестным до сих пор.

Научный поиск был направлен также на выявление ассоциации полиморфных вариантов локуса 9p21.3 с тяжестью и характером атеросклеротического поражения коронарного русла. Имеются данные о взаимосвязи аллеля риска G *rs10757278* с многососудистым и проксимальным типом поражения коронарных артерий (КА), стенозом ствола левой КА (Patel et al., 2010). В крупном канадском исследовании Ottawa Heart Genomics Study ассоциация с тяжестью поражения КА была выявлена для другого ОНП данного локуса *rs1333049* (Dandona et al., 2010). По данным ряда авторов, отмечено влияние локуса 9p21.3 не только на степень выраженности, но и на темпы прогрессирования коронарного атеросклероза (Patel et al., 2010; Adrissino et al., 2011; Chan et al., 2011). Определенный итог подведен в недавно опубликованном крупнейшем метаанализе, объединившем более 20 исследований, направленных на изучение роли локуса 9p21.3. При анализе клинических и ангиографических данных авторами сделан вывод об ассоциации локуса 9p21.3 именно с тяжестью коронарного атеросклероза, а не с развитием ИМ (Chan et al., 2013). В нашей стране опубликованных работ, посвященных изучению этого вопроса, нами не найдено.

Цель данной работы – изучить взаимосвязь ОНП *rs10757278* и *rs1333049* локуса 9p21.3 со степенью выраженности коронарного атеросклероза у больных ИМ.

Материалы и методы

В исследование включены 255 больных, госпитализированных с диагнозом ИМ в крупные кардиологические центры г. Красноярска: «Городская клиническая больница №20 им. И.С. Берзона» и «Краевая клиническая больница» с 01.01.2009 по 30.06.2010 гг. и удовлетворяющих критериям включения. Критериями включения являлись: 1) верифицированный диагноз ИМ; 2) мужчины и женщины в возрасте ≤ 65 лет; 3) европеоидная раса; 4) наличие подписанного информированного согласия пациента. Научное исследование одобрено Этическим комитетом Красноярского государственного медицинского университета. Возраст больных составлял от 22 до 65 лет (средний возраст 52,56±7,98 лет; квартили 25, 50, 75 % = 47,0/53,0/59,0). В исследуемой группе преобладали мужчины – 211 больных (82,7 %), женщин было 44 (17,3 %). Клиническая и демографическая характеристика больных приведена в табл. 1.

Таблица 1. Клиническая и демографическая характеристика больных ИМ

Характеристики	Количество больных, чел. (% от общего числа)
Демографические данные, факторы риска	
Возраст, лет, M±σ	52,56±7,98
Пол (мужской/женский)	211 (82,7) / 44 (17,3)
Сахарный диабет в анамнезе	25 (9,8)
Артериальная гипертензия в анамнезе	170 (66,7)
Гиперхолестеринемия (более 5,0 ммоль/л)	162 (63,5)
Курение	152 (59,6)
Избыточная масса тела (ИМТ ≥25)*	167 (65,5)
Ожирение (ИМТ ≥30)*	63 (24,7)
Характеристика ИМ	
ИМ с подъемом сегмента ST	199 (78,0)
ИМ без подъема сегмента ST	56 (22,0)
Передняя локализация ИМ	112 (43,9)
Непередний ИМ (включая нижний, боковой, задний)	118 (46,3)
Циркулярный ИМ	25 (9,8)
Q-волновой ИМ	180 (70,6)
Ангиографические данные	
Поражение коронарных артерий:	
- однососудистое	96 (37,7)
- двухсосудистое	84 (32,9)
- трехсосудистое	57 (22,4)
- отсутствие атеросклеротического поражения	18 (7)
Количество гемодинамически значимых стенозов, M±σ	2,20±1,38
Индекс GENSINI, M±σ	48,27±39,55
Индекс SYNTAX, M±σ	13,90±8,27

* ИМТ – индекс массы тела по Quetelet (масса(кг)/рост(м)^2).

Молекулярно-генетические исследования. Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов венозной крови фенол-хлороформным методом. Полиморфизм генов тестировали с помощью ПЦР в режиме реального времени в соответствии с протоколом фирмы-производителя на приборе AB 7900HT (зонды TaqMan, Applied Biosystems, США). В исследовании изучали два ОНП, расположенных в локусе 9p21.3 – *rs10757278* и *rs1333049.*

Ангиография коронарных артерий проводилась на аппарате Allura Xper FD10 (Philips, Голландия). Помимо стандартного протокола полипроекционной коронарографии всем больным в заслепленном режиме для оценки степени тяжести поражения коронарного русла производили подсчет количества пораженных сегментов КА и рассчитывали индексы Gensini и SYNTAX.

Подсчет количества стенозов основывался на суммировании гемодинамически значимых (>50 % просвета) стенозов в десяти сегментах коронарного русла (ствол левой КА, проксимальный, средний и дистальный сег-

менты каждой из магистральных артерий – огибающей ветви, передней межжелудочковой ветви левой КА и правой КА).

В индексе Gensini учитывали пятнадцать сегментов коронарного русла, к вышеперечисленным добавляли септальную, первую и вторую диагональные ветви передней нисходящей артерии, ветвь тупого края, задненисходящую артерию. Существенным преимуществом индекса Gensini является учет функциональной значимости каждого стеноза. Сужению просвета до 25 % присваивали 1 балл, 25-50 % – 2, 50-75 % – 4, 75-90 % – 8, 90-99 % – 16, полной окклюзии – 32 балла. Затем полученное значение умножали на коэффициент от 0,5 до 5 в зависимости от локализации данного стеноза. При наличии нескольких стенозов полученные значения для каждого из них суммировали (Montorsi et al., 2006).

Для расчета индекса SYNTAX использовались не только величина и локализация, но и протяженность стеноза, наличие кальциноза КА, мышечных мостиков и др. Другой отличительной особенностью шкалы SYNTAX является учет острой тромботической окклюзии без наличия атеросклеротических изменений в сосуде. Сумма баллов ≤22 отражает наименее тяжелое, 23-32 балла – среднее и ≥33 баллов – тяжелое поражение коронарного русла (Sianos et al., 2005).

Статистическая обработка полученных данных выполнялась при помощи программы SPSS, версия 19.0. Описательная статистика результатов исследования представлена для качественных признаков в виде процентных долей, для количественных – в виде средних арифметических (M) и стандартных отклонений (σ). 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 по количественным признакам проводили сравнение групп по непараметрическому ранговому критерию Манна-Уитни. Различия во всех случаях оценивали как статистически значимые при $p<0,05$. Для оценки степени риска по конкретному аллелю или генотипу производили оценку отношения шансов (ОШ) в таблицах сопряженности 2x2 с расчетом доверительных интервалов (ДИ).

Результаты и обсуждение

По тяжести поражения коронарного русла пациенты были разделены на имевших одно-, двух- и трехсосудистое поражение КА, у 10 (3,9 %) пациентов были выявлены интактные КА, в 8 (3,1 %) случаях найдена тромботическая окклюзия без атеросклеротических изменений в КА (табл. 1). Пациенты без атеросклеротических изменений КА были исключены из дальнейшего статистического учета. При наличии чрескожных коронарных вмешательств в анамнезе (14 (5,5 %) больных) расчет индексов не производили.

Генотипами риска исследуемых ОНП являлись генотип CC *rs1333049* и генотип GG *rs10757278*. Нами не выявлено статистически значимой ассоциации между вариантами генотипов локуса 9p21.3 и количеством пораженных сосудов. Тем не менее среди больных с трехсосудистым типом поражения генотип GG *rs10757278* выявлен у 32,0 против 21,0 % среди больных с одно- и двухсосудистым поражением и 33,3 против 23,3 % для генотипа CC *rs1333049* соответственно. Суммарное количество стенозов у гомозигот по аллелю риска *rs1333049* и *rs10757278* было выше в сравнении с другими генотипами, однако не имело статистической значимости. В наиболее тяжелой группе больных с наличием более трех стенозов достоверно преобладали

пациенты с генотипами CC *rs1333049* (42,2 % против 21,5 в группе 1-3 стенозов, p=0,005) и GG *rs10757278* (36,6, % против 20,7 в группе 1-3 стенозов, p=0,005). Носители генотипа CC *rs1333049* и генотипа GG *rs10757278* имели вдвое большую вероятность наличия более трех стенозов. Отдельного внимания заслуживает ассоциация ОНП локуса 9p21.3 с наиболее тяжелым поражением КА – стенозом ствола левой КА. Носители генотипов риска CC *rs1333049* и GG *rs10757278* имели втрое более высокий риск развития стеноза ствола левой КА (табл. 2).

Интегральным показателем тяжести поражения коронарного русла в данном случае можно считать индекс Gensini, учитывающий не только количество, но и гемодинамическую значимость различных стенозов. Носители генотипов CC *rs1333049* и GG *rs10757278* имели достоверно более высокие значения индекса Gensini в сравнении с пациентами, имевшими в генотипе лишь один аллель риска или не имевшими его вовсе. Значения индекса SYNTAX было выше у носителей генотипов риска обоих изучаемых ОНП, однако различия не были достоверными. Вероятной причиной этого является включение острого тромбоза без атеросклеротических изменений КА при расчете индекса SYNTAX, в то время как индекс Gensini рассчитывали только у пациентов с атеросклерозом КА. В отношении кальцификации, диффузного поражения КА существенных различий в распределении частот генотипов *rs10757278* и *rs1333049* нами не получено (табл. 2).

Подавляющее большинство работ, доказавших взаимосвязь локуса 9p21.3 с коронарным атеросклерозом, проведено в европейской и американской популяциях; в то же время исследования населения Японии и Кореи не выявили подобной ассоциации (Hinohara et al., 2008; Shen et al., 2008). Нами впервые в России подтверждены данные, полученные в ходе полногеномного анализа, об ассоциации ОНП локуса 9p21.3 с тяжестью атеросклеротического поражения коронарного русла у больных ИМ. Данное обстоятельство является принципиальным, если учесть высокую ассимиляцию российской и азиатской популяций.

В крупномасштабных исследованиях, выполненных, как правило, в рамках многоцентровых регистров, оценивались данные коронарографии, проведенной как по экстренным показаниям у больных с острым коронарным синдромом, так и при выполнении плановых чрескожных коронарных вмешательств. Вывод об отсутствии взаимосвязи с перенесенным ИМ производили постфактум (Dandona et al., 2010; Patel et al., 2010). Лишь часть из них была проведена по строгому протоколу у всех больных, поступавших в отделение неотложной помощи с диагнозом ИМ (Adrissino et al., 2011). Учитывая высокую летальность при данном заболевании, можно с уверенностью предполагать, что структура больных, перенесших ИМ и в последующем включенных в генетическое исследование, и больных ИМ при поступлении в отделение неотложной помощи могут весьма отличаться. Другим обстоятельством, способным оказать влияние на результаты, является искусственная выборка пациентов по критериям включения/исключения. В частности, наличие сопутствующей патологии, прежде всего сахарного диабета. Так, в Ottawa Heart Genomics Study пациенты, имевшие сахарный диабет, исключались из исследования (Dandona et al., 2010). В нашей работе больных ИМ включали в исследование сразу при поступлении в клинику, искусственная селекция больных по сопутствующей патологии не проводилась.

Учитывая ярко проявляющийся клинически в отношении атеросклероза половой

Таблица 2. Ассоциация полиморфных вариантов генотипа *rs1075728 и rs1333049* с ангиографическими характеристиками коронарного атеросклероза

	rs 1075728				rs 1333049			
	AA	AG	GG	p	GG	CG	CC	p
Поражение ствола левой КА, n (%)[&]	6 (27,3 %)	5 (22,7 %)	**да 11 (50,0 %) нет 44 (21,1 %)**	**0,002***	5 (23,8 %)	6 (27,3 %)	**да 11 (50,0 %) нет 51 (23,3 %)**	**0,004[#]**
ОШ (95 % ДИ)	3,75 (1,53-9,22)				3,16 (1,41-7,07)			
Суммарное количество стенозов, M± σ	2,08±1,34	2,19±1,24	2,38±1,50	0,238	2,00±1,41	2,17±1,27	2,44±1,55	0,105
Наличие более трех стенозов, n (%)	10 (24,4 %)	16 (39,0 %)	**да 15 (36,6 %)** нет 36 (20,7 %)	**0,031***	9 (20,0 %)	17 (37,8 %)	**да 19 (42,2 %) нет 38 (21,6 %)**	**0,005[#]**
ОШ (95 % ДИ)	2,21 (1,06-4,61)				2,10 (1,26-3,50)			
Индекс Gensini, M± σ	48,94±43,89	45,02±34,67	59,40±45,07	0,031	45,98±43,69	43,84±34,74	58,13±45,24	0,019
Значение индекса Gensini ≥ 70 баллов, n (%)	13 (20,3 %)	30 (46,9 %)	да 21 (32,8 %) **нет 31 (20,3 %)**	**0,048***	10 (15,4 %)	30 (46,1 %)	**да 25 (38,5 %) нет 33 (20,9 %)**	**0,006[#]**
ОШ (95 % ДИ)	1,38 (1,11-2,42)				1,78 (1,19-2,65)			
Индекс SYNTAX, M± σ	13,68±8,59	13,73±7,90	15,53±9,08	0,161	13,45±8,78	13,38±7,86	15,44±9,15	0,100
Трехсосудистое поражение КА, n (%)	8 (16,2 %)	26 (51,8 %)	да 16 (32,0 %) нет 35 (21,0 %)	0,111*	8 (14,8 %)	28 (51,9 %)	да 18 (33,3 %) нет 39 (23,2 %)	0,138[#]
Диффузное поражение КА, абс (%)	9 (17,0 %)	32 (60,4 %)	да 12 (22,6 %) нет 43 (24,2 %)	0,820*	9 (15,5 %)	36 (62,1 %)	да 13 (22,4 %) нет 49 (26,9 %)	0,494[#]
Кальцификация КА, n (%)	2 (14,3 %)	11 (78,6 %)	да 1 (7,1 %) нет 54 (25,2 %)	0,125*	2 (14,3 %)	11 (78,6 %)	да 1 (7,1 %) нет 61 (27,4 %)	0,095[#]

1. [&] n (%)- количество больных (% от общего числа).
2. * статистические различия по качественным признакам между носителями генотипа GG *rs1075728*.
   # статистические различия по качественным признакам между носителями генотипа CC *rs1333049*.
3. Для количественных признаков (суммарное количество стенозов, индекс Gensini, индекс SYNTAX) статические различия даны между носителями разных генотипов (AA, AG и GG для *rs1075728* либо GG, GC и CC для *rs 1333049*).
4. Статистически достоверные значения p и анализируемых признаков выделены жирным шрифтом.

Таблица 3. Гендерный анализ выявленных ассоциаций

	rs1075728						*rs1333049*					
	Женщины		p	Мужчины		p	Женщины		p	Мужчины		p
	аллель А	GG		аллель А	GG		аллель G	CC		аллель G	CC	
Поражение ствола левой КА, n (%)[&]	2 (66,7 %)	да 1 (33,3 %) нет 7 (20,0 %)	0,587*	9 (47,4 %)	**да 10 (52,6 %) нет 37 (21,3 %)**	**0,002***	2 (66,7 %)	да 1 (33,3 %) нет 10 (26,3 %)	0,792[#]	9 (47,4 %)	**да 10 (52,6 %) нет 41 (22,7 %)**	**0,002[#]**
ОШ (95 % ДИ)				4,11 (1,56-10,86)						3,67 (1,51-8,69)		
Суммарное количество стенозов, M±σ	2,00±1,34	2,00±1,03	1,000	2,16±1,29	2,45±1,53	0,213	2,07±1,34	2,36±1,80	0,570	2,11±1,37	2,45±1,51	0,128
Наличие более трех стенозов, n (%)	5 (71,4 %)	да 2 (28,6 %) нет 6 (21,4 %)	0,687*	21 (61,8 %)	**да 13 (38,2 %) нет 30 (20,5 %)**	**0,029***	5 (55,6 %)	да 4 (44,4 %) нет 6 (21,4 %)	0,176[#]	21 (58,3 %)	**да 15 (41,7 %) нет 32 (21,6 %)**	**0,013[#]**
ОШ (95 % ДИ)				2,39 (1,08-5,33)						2,08 (1,17-3,70)		
Индекс Gensini, M±σ	43,87±42,65	69,25±29,26	0,068	46,68±36,62	57,72±47,27	0,097	42,30±41,34	58,91±38,53	0,271	**44,83±35,96**	**57,96±46,90**	**0,040**

1. [&] n (%)- количество больных (% от общего числа).
2. * статистические различия по качественным признакам между носителями генотипа GG *rs1075728*
   # статистические различия по качественным признакам между носителями генотипа CC *rs1333049.*
3. Для количественных признаков (суммарное количество стенозов, индекс Gensini) статические различия даны между носителями разных генотипов (AA, AG, GG для *rs1075728* либо GG, GC, CC для *rs 1333049*).
4. Статистически достоверные значения p и анализируемых признаков выделены жирным шрифтом.

диморфизм, мы провели раздельный гендерный анализ установленных ассоциаций. Полученные данные отражают взаимосвязь генотипов риска ОНП локуса 9p21.3 с более тяжелым атеросклеротическим поражением КА исключительно у мужчин. Носители генотипа CC *rs1333049* и генотипа GG *rs10757278* имеют вдвое большую вероятность наличия более трех стенозов КА, в четыре раза выше риск поражения ствола левой КА. При этом интегральный индекс Gensini был статистически значимо выше только среди мужчин с генотипом CC *rs1333049* (табл. 3).

Представленные в табл. 2 и 3 данные отражают практически полное совпадение в распределении носителей генотипов риска (генотипа GG *rs1075728* и генотипа CC *rs1333049*) как по тяжести, так и по характеру атеросклеротического поражения коронарного русла. Изучаемые ОНП *rs1333049* и *rs10757278* расположены достаточно близко – на расстоянии 1025 нуклеотидных пар. Оба генотипа риска GG *rs1075728* и CC *rs1333049* являются мультиколлинеарными, с линейной зависимостью (r=0,949). Очевидно, что ОНП *rs1075728* и *rs1333049* в нашей популяции входят в один блок сцепления, что согласуется с имеющимися данными. По данным исследования INTERHEART, коэффициент корреляции между этими двумя ОНП локуса 9p21.3 составлял от 0,92 до 0,98 в большинстве крупных популяций (Do et al., 2011).

Заключение

Установлена статистически значимая ассоциация ОНП *rs1075728* и *rs1333049* локуса 9p21.3 с тяжестью атеросклеротического поражения коронарного русла у мужчин, больных ИМ. С клинической точки зрения основным смыслом использования геномной информации является прогнозирование риска и первичная профилактика, где, в свою очередь, уже используются стандартные факторы риска. Интеграция генетических предикторов в имеющиеся шкалы оценки риска и разработка клинико-генетических рискометров выступают перспективными направлениями в определении индивидуального риска развития заболевания. Выявленная в нашей работе взаимосвязь полиморфных вариантов локуса 9p21.3 с тяжестью коронарного атеросклероза может быть использована для определения мер первичной профилактики ИМ.

Список литературы

1. Максимов В.Н., Куликов И.В., Орлов П.С. Гафаров В.В., Малютина С.К., Ромащенко А.Г., Воевода М.И. (2012) Проверка взаимосвязи между девятью однонуклеотидными полиморфизмами и инфарктом миокарда на сибирской популяции. Вестник РАМН 5: 24-29.
2. Шестерня П.А., Шульман В.А., Никулина С.Ю. Мартынова Е. А., Демкина А. И., Орлов П. С., Максимов В. Н., Воевода М. И. (2012) Предикторная роль полиморфизмов хромосомы 9p21.3 и их взаимосвязь с отягощенной наследственностью в развитии инфаркта миокарда. Российский кардиологический журнал 6(98): 14-18.
3. Adrissino D., Berzuini C., Merlini P.A., Mannucci P.M., Surti A., Burtt N., Voight B., Tubaro M., Peyvandi F., Spreafico M., Celli P., Lina D., Notarangelo M.F., Ferrario M., Fetiveau R., Casari G., Galli M., Ribichini F., Rossi M.L., Bernardi F., Marziliano N., Zonzin P., Mauri F., Piazza A., Foco L., Bernardinelli L., Altshuler D., Kathiresan S. (2011) Influence of 9p21.3 genetic variants on clinical and angiographic outcomes in early-onset myocardial infarction. J. Am. Coll. Cardiol. 58(4): 426-434.

4. Broadbent H.M., Peden J.F., Lorkowski S., Goel A., Ongen H., Green F., Clarke R., Collins R., Franzosi M.G., Tognoni G., Seedorf U., Rust S., Eriksson P., Hamstein A., Farrall M., Watkins H. (2008) Susceptibility to coronary artery disease and diabetes is encoded by distinct, tightly linked SNPs in the ANRIL locus on chromosome 9p. Hum. Mol. Genet. 17: 806-814.
5. Buysschaert I., Carruthers K.F., Dunbar D.R., Peuteman G., Rietzschel E., Belmans A., Hedley A., Meyer T.D., Budaj A., Van de Werf F., Lambrechts D., Fox K.A.A. (2010) 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. 31: 1132–1141.
6. Chan K., Motterle A., Laxton R.C., Ye S. (2011) Common variant on chromosome 9p21 predict severity of coronary artery disease. J. Am. Coll. Cardiol. 57: 1497–1498.
7. Chan K., Patel R.S., Newcombe P., Nelson C.P., Qasim A., Epstein S.E., Burnett S., Vaccarino V.L., Zafari A.M., Shah S.H., Anderson J.L., Carlquist J.F., Hartiala J., Allayee H., Hinohara K., Lee B.S., Erl A., Ellis K. L., Goel A., Schaefer A.S., Mokhtari N.E.E., Goldstein B.A., Hlatky M.A., Go A.S., Shen G.Q., Gong Y., Pepine C., Laxton R.C., Whittaker J.C., Tang W.W.H., Johnson J.A., Wang Q.K., Assimes T.L., Nöthlings U., Farrall M., Watkins H., Richards A.M., Cameron V.A., Muendlein A., Drexel H., Koch W., Park J. E., Kimura A., Shen W., Simpson I.A., Hazen S.L., Horne B.D., Hauser E.R., Quyyumi A.A., Reilly M.P., Samani N.J., Ye S. (2013) Association between the chromosome 9p21 locus and angiographic coronary artery disease burden. A collaborative meta-analysis. J. Am. Coll. Cardiol. 61(4): 957-970.
8. Dandona S., Stewart A.F.R., Chen L., Williams K., So D., O'Brien E., Glover C., LeMay M., Assogba O., Vo L., Wang Y. Q., Labinaz M., Wells G.A., McPherson R., Roberts R. (2010) Gene dosage of the common variant 9p21 predicts severity of coronary artery disease. J. Am. Coll. Cardiol. 56: 479-486.
9. Deloukas P., Kanoni S., Willenborg C. et al. (2012) Large-scale association analysis identifies new risk loci for coronary artery disease. Nature Genetics 45(1): 25-33.
10. Do R., Xie C., Zhang X. et al. (2011) The Effect of chromosome 9p21 variants on cardiovascular disease may be modified by dietary intake: evidence from a case/control and a prospective study. PlosMed 8(10): e1001106.
11. Hinohara K., Nakajima T., Takahashi M., Hohda S., Sasaoka T., Nakahara K., Chida K., Sawabe M., Arimura T., Sato A., Lee B.S., Ban J.M., Yasunami M., Park J.E., Izumi T., Kimura A. (2008) Replication of the association between a chromosome 9p21 polymorphism and coronary artery disease in Japanese and Korean populations. J Hum Genet 53: 357-359.
12. Montorsi P., Ravagnani P.M., Galli S., Rotatori F., Veglia F., Briganti A., Salonia A., Deho F., Rigatti P., Montorsi F., Fiorentini C. (2006) Association between erectile dysfunction and coronary artery disease. Role of coronary clinical presentation and extent of coronary vessels involvement: the COBRA trial. Eur. Heart J. 27: 2632–2639.
13. Patel R.S., Su S., Neeland I.J., Ahuja A., Veledar E., Zhao J., Helgadottir A., Holm H., Gulcher J.R., Stefansson K., Waddy S., Vaccarino V., Zafari A.M., Quyyumi A.A. (2010) The chromosome 9p21 risk locus is associated with angiographic and progression of coronary artery disease. Eur Heart J. 31: 3017-3023.
14. Prins B.P., Lagou V., Asselbergs F.W., Fu J. (2012) Genetics of coronary artery disease: genome-wide association studies and beyond. Atherosclerosis 225(1): 1-10.

15. Schunkert H., Erdmann J., Samani N.J. (2010) Genetics of myocardial infarction: a progress report. Eur. Heart J. 31(8): 918-925.
16. Shen G.Q., Li L., Rao S., Abdullah K.G., Ban J.M., Lee B.S., Park J.E., Wang Q.K. (2008) Four SNPs on chromosome 9p21 in a South Korean population implicate a genetic locus that confers high cross-race risk for development of coronary artery disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol 28: 360-365.
17. Sianos G., Morel M.A., Kappetein A.P., Morice M.C., Colombo A., Dawkins K., Van den Brand M., Van Dyck N., Russell M.E., Mohr F.W., Serruys P.W. (2005) The SYNTAX score: an angiographic tool grading the complexity of coronary artery disease. EuroIntervention 1: 219–227.

Locus 9p21.3 – Genetic Predictor of Coronary Atherosclerosis Severity in Siberians

Pavel A. Shesternya, Anna S. Sergeeva, Svetlana Yu. Nikulina and Vladimir A. Shulman
Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky, 1 Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, 660022 Russia

The purpose of this study was to investigate association between 9p21.3 locus single nucleotide polymorphisms (SNP) and severity of coronary atheromatous burden. A total of 255 Caucasians (211 male, 44 female) with myocardial infarction younger 65 years old (mean 52,56±7,98 years) were enrolled. Genome DNA was extracted from venous blood using the phenol-chloroform extraction method. Two SNPs rs10757278 and rs1333049 (locus 9p21.3) were tested using real-time polymerase chain reaction (PCR) according to protocol (probes TaqMan, Applied Biosystems, 7900HT). The coronary angiograms were reviewed by independent angiographers who were blinded to the results of the genotype (Philips Allura Xper FD10). The total number of lesions, Gensini scores and SYNTAX score were derived. For the first time in males of Siberian population, genotype CC rs1333049 and genotype GG rs10757278 demonstrated a direct strong association with severity of coronary atheromatous burden.

Keywords: myocardial infarction, single nucleotide polymorphisms, rs10757278, rs1333049, locus 9p21.3, atherosclerosis.