

На правах рукописи

ГАРАЕВА ЛИЛИЯ АЙРАТОВНА

**КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ РАЗЛИЧНЫХ
ВАРИАНТОВ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ
КОРОНАРНЫХ
И ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ СОСУДОВ**

14.01.05 – кардиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Казань – 2018

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук профессор **Маянская Светлана Дмитриевна**

Официальные оппоненты:

Шилов Сергей Николаевич – доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доцент кафедры патологической физиологии и клинической патофизиологии

Затейщиков Дмитрий Александрович - доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение дополнительного профессионального образования «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации, заведующий кафедрой терапии, кардиологии и функциональной диагностики с курсом нефрологии

Ведущая организация: «Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины» — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».

Защита состоится « ____ » _____ 2018 г. в ____ часов на заседании совета по защите докторских и кандидатских диссертаций Д 208.034.03 на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (420012, г. Казань, ул. Бутлерова, д. 49).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России (420012, г. Казань, ул. Бутлерова, 49) и на сайте www.kazangmu.ru.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2018 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, доцент

Г.Р. Хасанова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) и, лежащий в их основе, патогенетический процесс - атеросклеротическое поражение сосудов продолжают оставаться главной причиной смертности во всем мире (Lopez et al. 2006).

Традиционные маркеры, позволяющие оценить риск возникновения патологии в ближайшем будущем, не дают полностью оценить картину течения атеросклеротического процесса у каждого конкретного больного. Так, известно, что треть пациентов с острой сердечно-сосудистой патологией практически не имеют факторов риска, а встречаемость маркеров среди пациентов, не имеющих атеросклероза, также крайне высока (Khot et al. 2003), (Greenland 2003). Кроме того, некоторые аспекты течения атеросклероза, в частности значительное стенозирование сосудов, приводящее к выраженной ишемии органов и тканей, в настоящее время практически не поддается прогнозированию у пациентов, впервые обратившихся по поводу минимальных проявлений (Budoff et al. 2008).

Генетика мультигенных заболеваний, таких как атеросклероз, которые во многом реализуются во взаимодействии с негенетическими факторами, представляет из себя огромный объем информации, который требует сложных путей изучения и анализа.

В многочисленных исследованиях неоспоримо доказывается влияние конкретных генетических полиморфизмов на риск возникновения атеросклероза в различных популяциях, а также рассматривается вклад генов, ответственных за воспалительные процессы, нарушения липидного обмена и тромбообразование (Катина М. Н., 2011), (Weber et al. 2011), (Lusis 2012).

Изучение генетических полиморфизмов позволяет оценить не только предрасположенность к развитию того или иного патологического состояния, но и также произвести оценку риска прогрессирования атеросклероза, что, является приоритетным в плане профилактики сердечно-сосудистых заболеваний, поскольку позволяет внедрить оценку индивиду-

ального генетического риска даже на этапе проявления первых симптомов болезни (Conde et al. 2011), (Bennett et al. 2009)

Цель исследования: У пациентов с разными вариантами атеросклеротического поражения коронарных и периферических сосудов определить ассоциации полиморфизмов генов-кандидатов, кодирующих гемостаз, цитокины и обмен липидов для персонификации подхода к диагностике и прогнозу сердечно-сосудистых заболеваний.

Задачи исследования:

1. Выявить генетические детерминанты, связанные с гемостазом (*FGB* rs1800788, *ITGB3* rs5918), цитокинами (*IL1B* rs16944, *TNF* rs1800629 и *TGFB1* rs1800469) и обменом липидов (*LPL* rs328), которые могут быть ассоциированы с различными вариантами атеросклеротического поражения сосудов.

2. В группе пациентов с наличием хотя бы одной атеросклеротической окклюзии периферических артерий проанализировать ассоциации полиморфизмов исследуемых генов.

3. При стенотическом атеросклерозе более 70% двух и более коронарных и периферических артерий определить ассоциацию аллелей и генотипов по полиморфизмам исследуемых генов.

4. В группе пациентов с впервые возникшим и повторным инфарктом миокарда выявить ассоциации полиморфизмов исследуемых генов-кандидатов.

Научная новизна. Впервые, с позиции оценки полиморфизмов генов-кандидатов, ответственных за прогрессирование атеросклероза, рассмотрена выборка пациентов с различными вариантами атеросклеротического поражения сосудов, связанных со стенозами более 70% и/или окклюзией коронарных и периферических артерий, острым или перенесенным первичным, а также повторным инфарктом миокарда. Впервые в данной выборке пациентов были проанализированы аллели и генотипы генов, кодирующих гемостаз (*FGB* rs1800788, *ITGB3* rs5918), цитокины (*IL1B*

rs16944, *TNF* rs1800629 и *TGFBI* rs1800469) и обмен липидов (*LPL* rs328). Выявлена ассоциация стенозирующего и/или окклюзирующего атеросклероза коронарных и периферических артерий с полиморфизмами генов фибриногена (*FGB* rs1800788), гликопротеиновых IIIa рецепторов (*ITGB3* rs5918), интерлейкина 1 β (*IL1B* rs16944), фактора некроза опухоли (*TNF* rs1800629), трансформирующего фактора роста (*TGFBI* rs1800469) и фермента липопротенлипазы (*LPL* rs328). Обнаружено, что у пациентов со стенозирующим атеросклерозом более 70%, двух и более коронарных и/или периферических артерий чаще наблюдались гетерозиготные и мутантные гомозиготные генотипы гена *IL1B* rs16944. Впервые представлены данные о том, что наличие у пациентов хотя бы одного окклюзированного участка коронарных и периферических артерий, а также в комбинации с тяжелыми стенозами ассоциировано с мутантными аллелями генов *FGB* rs1800788 и *ITGB3* rs5918 и нормальными гомозиготными генотипами генов *TNF* rs1800629 и *TGFBI* rs1800469. Показано, что полиморфные гетерозиготные генотипы генов *TNF* rs1800629 и *TGFBI* rs1800469 связаны с отсутствием окклюзии в сосудах. Выявлено, что полиморфизм генов *LPL* rs328 и *ITGB3* rs5918 ассоциирован с наиболее тяжелыми сочетаниями стенозов с окклюзиями коронарных и периферических артерий. Обнаружено, что присутствие нормального генотипа гена *FGB* rs1800788 является протективным фактором в отношении развития первичного и повторного инфаркта миокарда, а его мутантный генотип ассоциирован со статистически значимым увеличением протромбинового индекса. Впервые найдена ассоциация повторного инфаркта миокарда с полиморфизмом генов *FGB* rs1800788, *LPL* rs328, *ITGB3* rs5918, и *TGFBI* rs1800469. При этом, наличие мутантного генотипа гена *TNF* rs1800629 является протективным фактором в отношении развития повторного инфаркта миокарда.

Теоретическая и практическая значимость. На основании полученных результатов появляется возможность использовать генотипирование генов фактора некроза опухоли (rs1800629), трансформирующего фак-

тора роста (rs1800469), интерлейкина-1 β (rs16944), липопротеинлипазы (rs328), фибриногена (rs1800788) и тромбоцитарного гликопротеина 3a (rs5918) для индивидуального прогноза и оценки тяжести течения атеросклероза, учитывать полиморфизм генов в качестве критерия при формировании групп повышенного риска развития различных поражений коронарных и периферических сосудов.

Полученная ассоциация полиморфизмов генов *FGB* rs1800788, *LPL* rs328, *ITGB3* rs5918 и нормальных гомозигот генов *TNF* rs1800629 и *TGFBI* rs1800469 с тяжестью стенозов и наличием окклюзий коронарных и периферических артерий имеет прогностическую ценность.

Выделенные протективные факторы в виде нормального генотипа гена *FGB* rs1800788 и полиморфного генотипа гена *TNF* rs1800629 в отношении развития первичного и повторного инфаркта миокарда позволяют формировать группы пациентов по тяжести течения заболевания и способствуют персонифицированной стратегии их дальнейшего лечения и профилактики осложнений.

Положения, выносимые на защиту:

1. Различные варианты атеросклеротического поражения сосудов ассоциированы с полиморфизмом генов, кодирующих гемостаз (*FGB* rs1800788, *ITGB3* rs5918), цитокины (*IL1B* rs16944, *TNF* rs1800629 и *TGFBI* rs1800469) и обмен липидов (*LPL* rs328).

2. Стенозы и/или окклюзии коронарных и периферических артерий ассоциированы с полиморфными аллелями генов *FGB* rs1800788, *ITGB3* rs5918, *LPL* rs328, *IL1B* rs16944 и наличием нормальных гомозиготных генотипов генов, кодирующих *TNF* rs1800629 и *TGFBI* rs1800469.

3. Присутствие нормального генотипа *FGB* rs1800788 и полиморфного аллеля гена *TNF* rs1800629 является протективным фактором по отношению к развитию инфаркта миокарда. При этом на частоту развития повторного инфаркта миокарда дополнительно влияет наличие полиморфизма генов *LPL* rs328, *ITGB3* rs5918, и *TGFBI*.

Степень достоверности и апробация результатов Степень достоверности результатов проведенного исследования определяется соответствием его дизайна критериям доказательной медицины, достаточным объемом выборок обследованных пациентов и выполненным наблюдениям с использованием разноплановых методов исследования, применением статистических методов, адекватных поставленным задачам.

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на: Российском национальном конгрессе кардиологов (Москва, 2013); III Всероссийской конференции «Противоречия современной кардиологии: спорные и нерешенные вопросы» (Самара, 2014); XXII Российского национального конгресса «Человек и лекарство» (Москва, 2015); IV Всероссийской конференции «Противоречия современной кардиологии: спорные и нерешенные вопросы» (Самара, 2015); X национальном конгрессе терапевтов (Москва, 2015); Российском национальном конгрессе кардиологов (Москва, 2015 - стендовый доклад); научно-практической конференции «Фундаментальная и клиническая электрофизиология сердца. Актуальные вопросы аритмологии» (Казань, 2017); научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Белые цветы» (Казань, 2017).

Публикации: по материалам диссертации опубликовано 11 печатных работ, в том числе 3 статьи в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки РФ.

Внедрение результатов работы.

Научно-практические разработки диссертационной работы внедрены в практическую деятельность врачей отделения сосудистой хирургии № 1 ГАУЗ «Республиканская клиническая больница» г. Казани, учебный процесс кафедры госпитальной терапии ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России.

Личный вклад автора

Весь объем клинических наблюдений и выбор методов исследования осуществлен при непосредственном личном участии диссертанта. Автором

определены цель и задачи, разработан дизайн, выбраны методы, спланировано проведение исследования по всем разделам диссертации, проведен обзор отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме. Самостоятельно проведен анализ, статистическая обработка и интерпретация полученных данных. Формулировка выводов, практических рекомендаций, положений, выносимых на защиту, принадлежат лично автору.

Объем и структура диссертации Диссертация изложена на 174 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, перспективы дальнейшей разработки, списка литературы, включающего в себя 368 источников (44 отечественных, 324 зарубежных) и списка иллюстративного материала, включающего в себя 43 таблицы и 17 рисунков.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

На базе сосудистого отделения №1 ГАУЗ «Республиканская клиническая больница» МЗ РТ, а также кардиологических отделений №1, №2 и №3 ГАУЗ Городская клиническая больница №7 г. Казани в период с 2012 по 2015 гг. было обследовано 319 человек с атеросклерозом коронарных и периферических артерий, из них 199 мужчин и 120 женщин в возрасте от 44 до 85 лет (средний возраст $66 \pm 10,7$ лет). В исследование вошли пациенты с верифицированным атеросклеротическим поражением сосудов различной локализации имевшие: стенозы сосудов различной степени по данным ангиографии; электрокардиографические и/или эхокардиографические подтверждения острого или перенесенного инфаркта миокарда; биохимические маркеры острого инфаркта миокарда; ультразвуковые подтверждения атеросклероза сосудов шеи и/или нижних конечностей; атеро-

склеротические поражения сосудов, подтвержденные по результатам аутопсии (таблица 1).

Таблица 1 - Встречаемость атеросклеротических поражений различной локализации у пациентов по бассейнам

Локализация поражений	Количество человек, <i>n</i> (%)
Коронарный атеросклероз	282 (78,1)
из них:	164 (50,3)
наличие инфаркта миокарда с подъемом сегмента ST и/или Q-позитивного ИМ	39 (12,2)
наличие повторного инфаркта миокарда	
Периферический атеросклероз	187 (58,6)
из них:	121 (37,9)
атеросклероз сосудов шеи и верхних конечностей	92 (28,8)
атеросклероз артерий брюшной части аорты	104 (32,6)
атеросклероз артерий нижних конечностей	
Всего	319 (100)

У всех пациентов был взят образец венозной крови для генотипирования однонуклеотидных полиморфных локусов (ОНП) генов *бета цепи фибриногена* rs1800788 (FGB), *липопротеинлипазы* rs328 (LPL), *гликопротеина 3 альфа* rs5918 (ITGB3), *трансформирующего фактора роста бета* rs1800469 (TGFB1-b), *фактора некроза опухоли альфа* rs1800629 (TNF α) и *интерлейкина 1 бета* rs16944 (IL1B).

По данным ангиографии, ультразвукового исследования, электрокардиографии и биохимического анализа крови все пациенты делились на группы сравнения по тяжести течения атеросклеротического процесса, изучалось распределение ОНП по группам и оценивалась частота встречаемости редкого или мутантного аллеля.

В первом случае все пациенты делились на группы сравнения по тяжести течения атеросклероза, исходя из наличия или отсутствия хотя бы одного окклюзированного участка любого бассейна. В первую группу (198 человек) входили пациенты, имеющие одну и более окклюзию по данным ангиографии. Во вторую группу (121 человек) вошли пациенты, не имевшие подобной патологии. Во втором случае пациенты были разделены по наличию или отсутствию двух и более значимых стенозов более 70% (пер-

вая группа -191 человек, вторая группа -128 человек). В третьем случае тяжелое течение заболевания определялось при наличии или отсутствии сочетания хотя бы одной окклюзии, и, хотя бы одного стеноза более 70% (первая группа – 98 человек, вторая группа - 221 человек). В четвертом случае группы сравнения были сформированы в зависимости от наличия или отсутствия первичного инфаркта миокарда (ИМ) с подъемом сегмента ST и/или наличием зубца «Q» (первая группа – 164 человека, вторая группа – 155 человек). В пятом случае эти же пациенты были разделены на группы сравнения в зависимости от наличия или отсутствия повторного ИМ (первая группа – 39 человек, вторая группа - 270 человек). Количественные показатели распределения вариантов тяжести течения атеросклеротического процесса исходя из данных лабораторных и инструментальных методов исследований представлены в таблице 2.

Для корректировки подсчета ассоциации полиморфизма генов с вариантами течения заболевания у пациентов определялись расовая принадлежность и факторы риска (пол, возраст, курение, наличие наследственной отягощенности, наличие артериальной гипертензии, дислипидемия, ожирение).

Таблица 2 - Распределение пациентов по наличию и локализации поражений сосудов

Параметр	Количество человек, n (%)
≤1 стенозов со степенью поражения более 70%	219 (77,4)
≤2 стенозов со степенью поражения более 70%	182 (78,1)
≤1 окклюзии периферического сосуда	118 (36,9)
≤1 окклюзии коронарного сосуда (ИМ)	164 (51,4)
Окклюзия 2-х и более коронарных сосудов (первичный ИМ или 2 и более перенесенных ИМ)	39 (12,3)
Всего	319 (100)

Исследование генов проводилось в лаборатории фармакогеномики института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН. Генотипирование однонуклеотидных полиморфных локусов проводили с помощью реакции преципитации (ПЦР) в режиме ре-

ального времени с использованием конкурирующих TaqMan-зондов. Достоверность генотипирования подтверждалась секвенированием.

Статистическая обработка. Для статистической обработки использованы пакеты статистики Genetics и HardyWeinberg программного обеспечения R-project (www.r-project.org). Наличие ассоциации генотипа с вариантами тяжести течения заболевания проводили с помощью логистического регрессионного анализа, на основании результатов которого вычисляли OR (odds ratios), его доверительный интервал (95%С.І.) и уровень значимости полученных результатов (p-value). Отношение шансов вычисляли с поправкой на пол, наличие гипертензии и принадлежность как расе. Критический уровень значимости принимали равным 0,05. Для выбора наилучшей из нескольких конкурирующих моделей при описании результатов в зависимости от критерия описания полиморфизма – с учетом наличия хотя бы одного полиморфного аллеля или по генотипам, был использован информационный критерий Акаике (AIC).

Результаты собственных исследований и их обсуждение

У всех пациентов проводилось изучение некоторых показателей крови и их зависимость от генов, участвующих в метаболизме этих показателей с помощью рангового анализа Краскелла-Уоллиса. Так, изучалась зависимость показателей коагулограммы ПТИ и активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) от генов *ITGB3* rs5918 и *FGB* rs1800788, а также значения общего холестерина от генов липопротеинлипазы *LPL* rs328, и интерлейкина 1 бета *IL1 β* rs16944. Однако, достоверная ассоциация при увеличении ПТИ на 3,3 пункта была получена только у полиморфизма гена *FGB* rs1800788 (p=0,005). Все остальные лабораторные показатели не были ассоциированы с полиморфизмом исследуемых генов.

Полиморфизм исследуемых генов у пациентов, разделенных по наличию окклюзии одного или более сосуда

Изучение полиморфизма генов во всех случаях происходило при учете двух вариантов наличия полиморфизма: хотя бы одного полиморфного аллеля и соответствующих генотипов.

Как видно из таблицы 3, значимая ассоциация окклюзии одного или более сосуда обнаружилась у пациентов с наличием полиморфного аллеля генов *FGB* rs1800788, *TNF* rs1800629 и *TGFB1* rs1800469. Патологический T аллель гена *FGB* rs1800788 и его гетерозиготный генотип оказались значимо ассоциированы с наличием патологии. В то же время в случае гена *TNF* rs1800629 полиморфный A аллель и гетерозиготная форма значимо чаще встречались во второй группе пациентов, что, вероятно, свидетельствует о протективном влиянии данного аллеля на частоту развития окклюзий. Гетерозиготный генотип гена *TGFB1* rs1800469 также показал протективное влияние в отношении частоты встречаемости развития окклюзий.

Таблица 3 – Ассоциация полиморфизма генов *FGB* rs1800788, *LPL* rs328, *ITGB3* rs5918, *IL1B* rs16944, *TNF* rs1800629 и *TGFB1* rs1800469 у пациентов в зависимости от наличия окклюзии сосудов

ОМП	Первая группа (n=198)	Вторая группа (n=121)	Полиморфный аллель OR 95%С.I. P-value	Гетерозиготный генотип OR 95%С.I. P-value	Гомозиготный генотип OR 95%С.I. P-value
LPL	CC-174 CG+GG 22+2	CC-101 CG+GG 20+0	0.79 [0.43-1.45] 0.44	-	-
ITGB3	TT-145 CT + CC 46+7	TT-99 CT + CC 22+0	1.74 [1.03-2.92] 0.04	-	-
FGB	CC-80 CT + TT 99+19	CC-75 CT + TT 36+10	1.83 [1.27-2.67] 0.002	CT: 2.68 [1.62-4.43] 0.0001	TT: 1.90 [0.82-4.40] 0.14
TGFB1	CC-102 CT + TT 78+18	CC-47 CT+TT 64+10	0.74 [0.51-1.05] 0.09	CT: 0.55 [0.34-0.90] 0.02	TT: 0.79 [0.34-1.88] 0.60
IL1B	CC-82 CT+TT 90+26	CC-61 CT+TT 46+14	1.34 [0.95-1.88] 0.10	CT: 1.51 [0.92-2.46] 0.10	TT: 1.60 [0.75-3.39] 0.22
TNF α	GG-175 GA +AA 21+2	GG-82 GA +AA 37+2	0.31 [0.18-0.54] 0.00004	GA: 0.25 [0.14-0.46] 0.000009	AA: 0.46 [0.06-3.51] 0.45

Полиморфизм исследуемых генов у пациентов, разделенных по наличию двух и более 70% стенозов

Как видно из таблицы 4, для развития таких поражений, как 70% стеноз двух и более сосудов наиболее значимым оказалось наличие полиморфных аллелей Т и А генов цитокинов *IL1B* rs16944 и *TNF* rs1800629 соответственно.

Таблица 4 – Ассоциация полиморфизма генов *FGB* rs1800788, *LPL* rs328, *ITGB3* rs5918, *IL1B* rs16944, *TNF* rs1800629 и *TGFBI* rs1800469 у пациентов со стенозами более 70% двух и более сосудов

ОНП	Первая группа (N=231)	Вторая группа (N=88)	Полиморфный аллель OR 95%С.И. P-value	Гетерозиготный генотип OR 95%С.И. P-value	Гомозиготный генотип OR 95%С.И. P-value
LPL	CC- 200 CG + GG 29+2	CC - 75 CG + GG 13+0	1.00 [0.50-2.01] 0.99	-	-
ITGB3	ТТ- 171 СТ + СС 53+7	ТТ- 73 СТ + СС 15+0	1.79 [0.97-3.30] 0.06	-	-
FGB	CC- 104 СТ + ТТ 106+21	CC- 51 СТ + ТТ 29+8	1.45 [0.96-2.19] 0.07	СТ: 1.80 [1.04-3.13] p=0.03	ТТ: 1.51 [0.60-3.84] p=0.38
TGFBI	CC- 116 СТ + ТТ 97+18	CC - 33 СТ+ТТ 45+10	0.62 [0.42-0.92] 0.018	СТ: 0.56 [0.32-0.97] p=0.039	ТТ: 0.42 [0.17-1.03] p=0.06
IL1B	CC -95 СТ+ТТ 104+32	CC- 48 СТ+ТТ 32+8	1.79 [1.19-2.68] 0.005	СТ: 1.87 [0.71-4.89] p=0.03	ТТ: 2.99 [1.15-7.84] p=0.03
TNFa	GG- 196 GA + AA 31+4	GG- 61 GA +AA 27+0	0.46 [0.27-0.80] 0.006	-	-

При этом А аллель гена *TNF* rs1800629 ассоциировалась с более легкими, в то время как мутантная Т аллель *IL1B* rs16944 чаще встречалась у пациентов с более тяжелыми стенозами артерий. Полиморфный Т аллель гена *TGFBI* rs1800469 проявлял значимую ассоциацию с более легкими стенозами. Кроме того, обращает на себя внимание наличие слабой ассоциации гомозиготного ТТ аллеля *IL1B* rs16944 с более тяжелыми стенозами сосудов. Необходимо отметить, что наличие стенозов - единственный параметр, с ко-

торым оказался ассоциирован полиморфизм гена *IL1B* rs16944. При этом в данном случае прослеживается выраженная ассоциация, как с наличием полиморфного аллеля, так и с двумя формами генотипов – гетерозиготой и мутантной гомозиготой. Это вполне согласуется с данными литературы, обнаруживающими основной эффект полиморфизма именно в отношении избыточного роста атеросклеротических бляшек, по-видимому возникающий за счет гиперпродукции составляющих экстрацеллюлярного матрикса (Alexander et al. 2012), (Johnson et al. 2005), (Oda et al. 2006).

Полиморфизм исследуемых генов у пациентов, разделенных по наличию сочетания окклюзии и тяжелых стенозов

Ассоциация в данном случае прослеживалась только для двух полиморфизмов - *LPL* rs328 и *ITGB3* rs5918. Причем в обоих случаях удалось изучить только вклад полиморфного аллеля, поскольку мутантных гомозиготных генотипов оказалось недостаточно для проведения анализа.

Как видно из рисунка 1, так же, как и в случае с делением пациентов по наличию только одной окклюзии значимым для степени тяжести оказался полиморфизм гена *ITGB3* rs5918. При этом наличие полиморфного С аллеля данного гена было связано с более тяжелым вариантом атеросклероза.

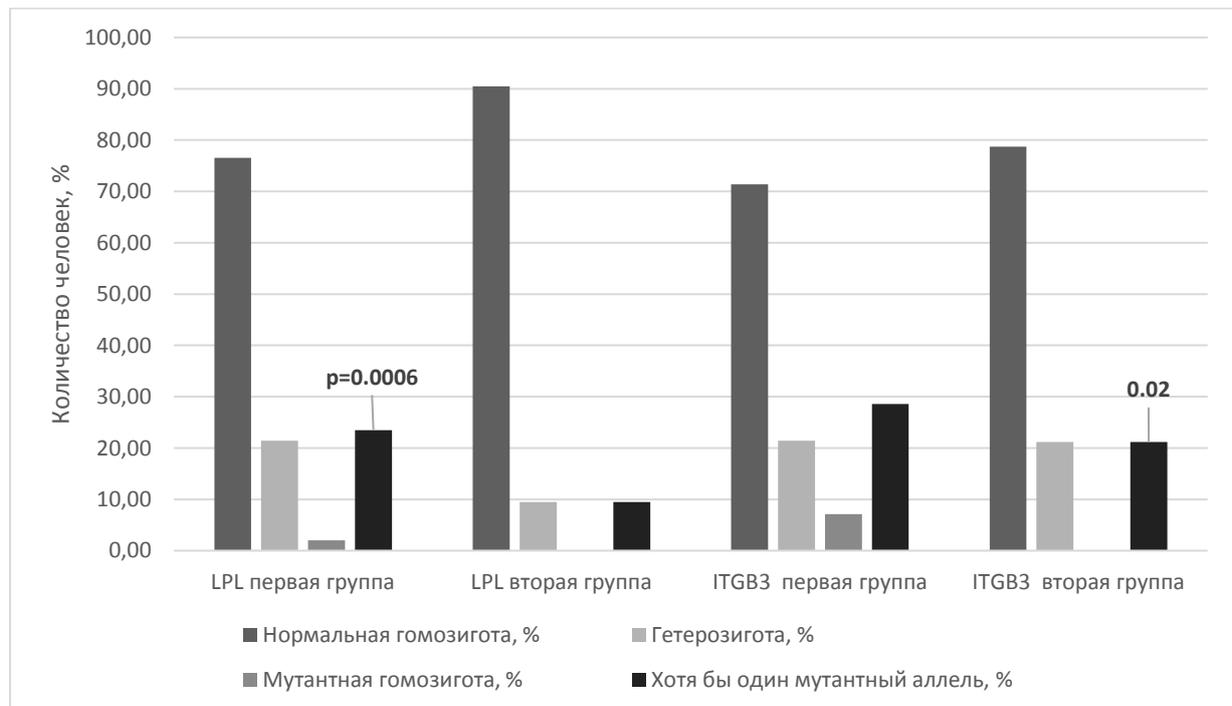


Рисунок 1 - Распределение генотипов генов *LPL* rs 328 и *ITGB3* rs5918 в зависимости от наличия окклюзий и тяжелых стенозов

Помимо этого, окклюзии сосудов совместно с тяжелыми стенозами были ассоциированы с наличием полиморфизма гена *LPL*. При этом наличие мутантного G аллеля в гомо- или гетерозиготном варианте связано с более тяжелым поражением сосудов.

Полиморфизм исследуемых генов у пациентов, разделенных по наличию первичного инфаркта миокарда

При данном варианте деления пациентов выраженную ассоциацию также проявили только два гена - *FGB* rs1800788 и *TNF* rs1800629.

Как видно из рисунка 2 для гена *TNF* rs1800629 наличие хотя бы одного мутантного аллеля наряду с гетерозиготной формой гена наиболее часто встречался у лиц, не имеющих и не переносивших ИМ. В то время как нормальный гомозиготный генотип чаще наблюдался у лиц, однократно переносивших ИМ. При этом для гена *FGB* rs1800788 разница прослеживалась только для гетерозиготной и нормальной гомозиготной форм.

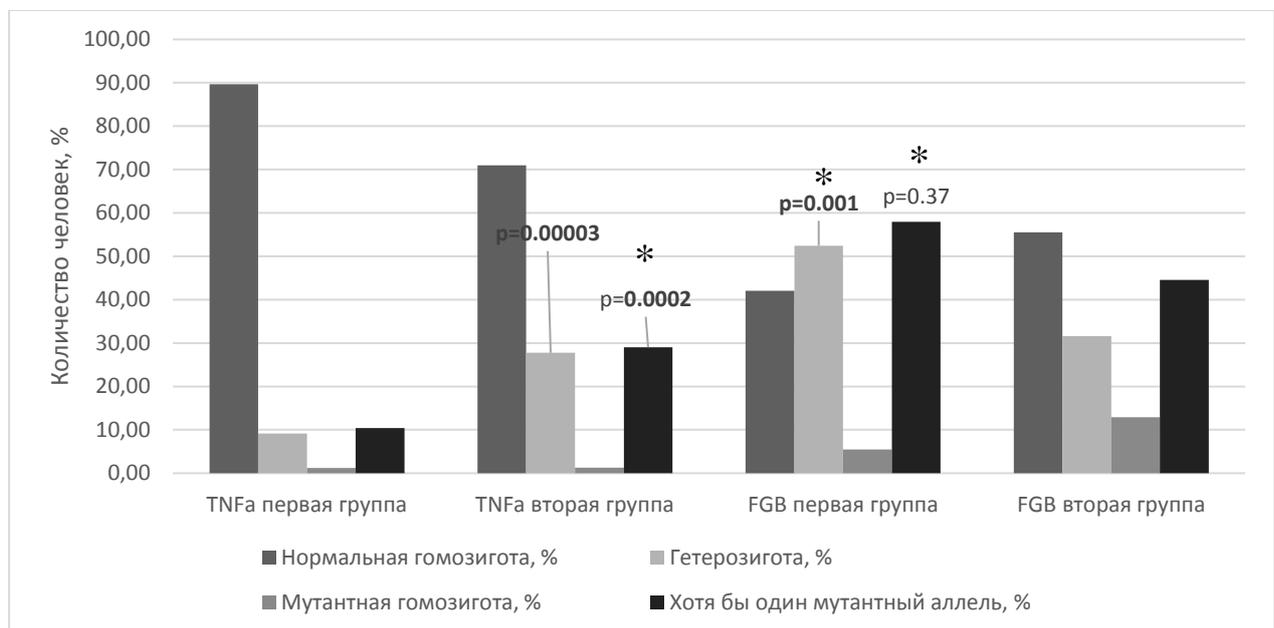


Рисунок 2 - Распределение генотипов генов *FGB* rs1800788 и *TNF* rs1800629 в зависимости от наличия ИМ

Пациенты, не переносившие ИМ, наиболее часто имели нормальный генотип, а гетерозиготный генотип значимо ассоциировался с наличием заболевания.

Полиморфизм исследуемых генов у пациентов, разделенных по наличию повторного инфаркта миокарда

С повторным ИМ были ассоциированы гены *FGB* rs1800788, *LPL* rs328, *ITGB3* rs5918, *TNF* rs1800629 и *TGFBI* rs1800469. Так, наличие хотя бы одного мутантного G аллеля гена *LPL*, так же, как и присутствие полиморфного T аллеля генов *FGB* и *TGFBI* с вероятностью более 99% приводил к увеличению частоты повторных инфарктов, в то время как у гена *ITGB3* связь обнаруживалась только при рассмотрении гомозиготного по мутантному аллелю генотипа. В то же время присутствие мутантного A аллеля гена *TNFA* с вероятностью более 95% оказывал протективный эффект в отношении развития повторных ИМ. Таким образом, различные полиморфизмы генов ассоциируются с различными вариантами атеросклеротического поражения. На рисунке 3 представлены наиболее существенные для практического применения ассоциации с полиморфизмом генов.

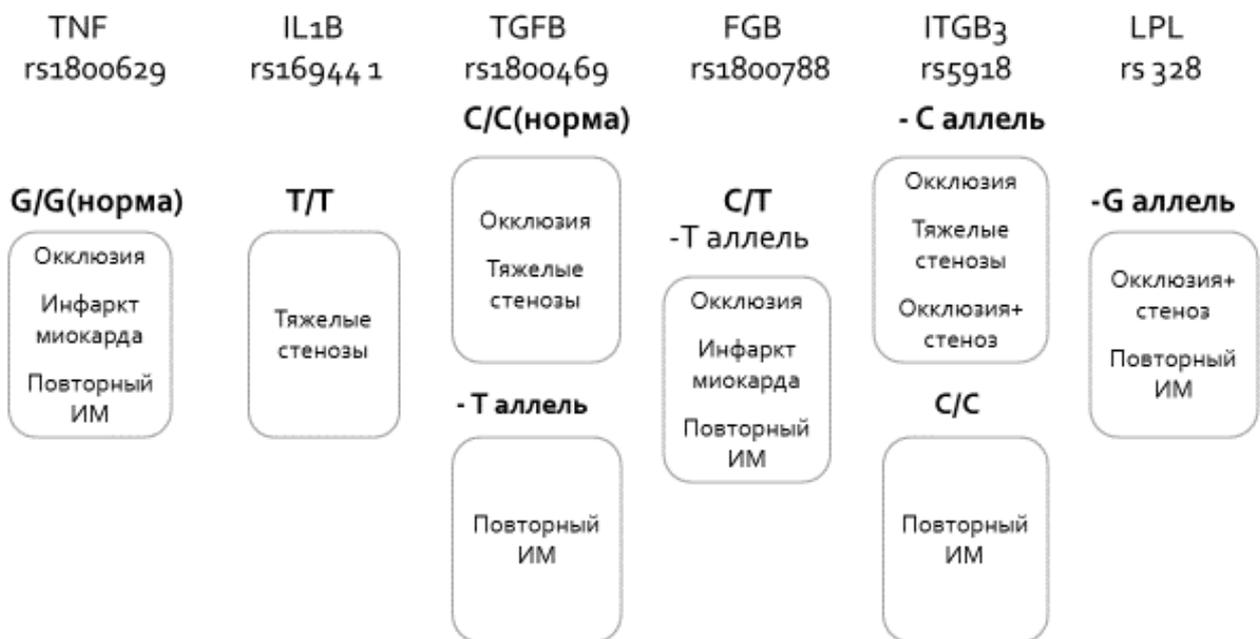


Рисунок 3 - Ассоциация полиморфизма генов *FGB* rs1800788, *LPL* rs328, *ITGB3* rs5918, *IL1B* rs16944, *TNF* rs1800629 и *TGFBI* rs1800469 у пациентов с различными вариантами течения атеросклероза

Комбинации полиморфизмов выбранных генов у пациентов с различными клиническими вариантами атеросклеротического поражения

Далее нами были изучены ассоциации комбинации полиморфизмов выбранных генов с каждым вариантом атеросклеротического поражения. Наиболее значимые ассоциации представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Комбинации полиморфизма генов, ассоциированных с клиническими вариантами атеросклеротического поражения

Комбинация полиморфизмов	Клинический вариант атеросклеротического поражения	OR, 95% C.I., P-value
<i>FGB</i> rs1800788 –С аллель <i>ITGB3</i> rs5918 –Т аллель <i>TNF</i> rs1800629 – А аллель Суммарный риск – 4	Развитие окклюзии коронарного или периферического сосуда	OR = 19.141, 95% C.I. 5.799 – 63.181 P < 0.0001
<i>LPL</i> rs328 – G аллель <i>ITGB3</i> rs5918 – С аллель Суммарный риск – 2	Развитие окклюзий, совмещенных со стенозами коронарных или периферических сосудов	OR = 6.476 95% C.I. 2.430 – 17.260 P < 0.0001
<i>FGB</i> rs1800788 – С аллель <i>TNF</i> rs1800629 – А аллель Суммарный риск – 4	Развитие инфаркта миокарда	OR = 8.258 95% C.I. 4.940 – 13.804 P < 0.0001
<i>FGB</i> rs1800788 – С аллель <i>TNF</i> rs1800629 – А аллель Суммарный риск – 4	Развитие повторного инфаркта миокарда	OR = 4.04 95% C.I. 1.895 - 8.615 P = 0.0001

Как видно из таблицы 5, наличие хотя бы 4 из 6 полиморфных аллелей генов *FGB* rs1800788 (–С аллель), *ITGB3* rs5918 (–Т аллель) и *TNF* rs1800629 (– А аллель) значимо увеличивают риски развития окклюзии коронарного или периферического сосуда, наличие хотя бы одного полиморфного– G аллеля гена *LPL* rs328 и – С аллеля гена *ITGB3* существенно повышают риски развития тяжелых поражений в виде окклюзий, совмещенных со стенозами, а наличие гомозиготных генотипов С/С гена *FGB* rs1800788 и А/А гена *TNF* rs1800629 приводят к увеличению частоты развития первичного и повторного инфарктов миокарда.

ВЫВОДЫ

1. Различные варианты атеросклеротического поражения сосудов, связанные с развитием первичного и повторного инфаркта миокарда, стенозом и/или окклюзией сосудов, ассоциированы с набором полиморфизмов генов, включающих *FGB* rs1800788, *LPL* rs328, *ITGB3* rs5918, *IL1B* rs16944, *TNF* rs1800629 и *TGFBI* rs1800469.

2. Наличие у пациентов хотя бы одного окклюзированного участка коронарных и периферических артерий ассоциировано с полиморфными аллелями генов *FGB* rs1800788 и *ITGB3* rs5918 и нормальными гомозиготными генотипами генов *TNF* rs1800629 и *TGFBI* rs1800469. Наоборот наличие полиморфной аллели с гетерозиготным генотипом генов *TNF* rs1800629 и *TGFBI* rs1800469 ассоциировано с отсутствием окклюзии в сосудах.

3. У пациентов со стенозирующим атеросклерозом более 70% двух и более коронарных и/или периферических артерий чаще наблюдались гетерозиготные и гомозиготные генотипы гена *IL1B* rs16944 в полиморфной аллели и нормальный гомозиготный генотип гена *TGFBI* rs1800469. Напротив, меньший объем стенозов ассоциировался с наличием полиморфной аллели и гетерозиготного генотипа гена *TGFBI* rs1800469.

4. Наличие окклюзии совместно с тяжелыми стенозами более 70% коронарных и периферических артерий ассоциировалось с полиморфизмом двух генов *LPL* rs328 и *ITGB3* rs5918. При этом наличие полиморфного аллеля в обоих случаях значимо связано с развитием более тяжелых поражений.

5. В случае распределения пациентов по наличию первичного или повторного инфаркта миокарда существенной значимостью обладали генотипы генов *FGB* rs1800788 и *TNF* rs1800629. Инфаркт миокарда, возникший впервые, был ассоциирован с нормальным гомозиготным генотипом гена *TNF* rs1800629. Для гена *FGB* rs1800788, наоборот, наличие нор-

мального генотипа ассоциировалось с его протективными свойствами по отношению к развитию инфаркта миокарда, а присутствие хотя бы одного его мутантного аллеля с вероятностью более 95% - с увеличением протромбинового индекса ($p < 0,02$).

6. Найдена ассоциация повторного инфаркта миокарда с полиморфизмом всех исследуемых генов. При этом, повторный инфаркт ассоциирован с присутствием любого мутантного генотипа в генах *FGB* rs1800788, *LPL* rs328, *TGFBI* rs1800469 и мутантного гомозиготного генотипа гена *ITGB3* rs5918, а также нормального гомозиготного генотипа гена *TNF* rs1800629. В то же время наличие мутантного генотипа гена *TNF* rs1800629, наоборот, свидетельствовало о его протективном влиянии на развитие повторного инфаркта миокарда.

Практические рекомендации

1. При обследовании пациентов, с различными клиническими проявлениями атеросклероза коронарных и/или периферических артерий целесообразно использовать генотипирование генов фибриногена (*FGB* rs1800788), гликопротеиновых IIIa рецепторов (*ITGB3* rs5918), интерлейкина 1 β (*IL1B* rs16944), фактора некроза опухоли (*TNF* rs1800629), трансформирующего фактора роста (*TGFBI* rs1800469) и фермента липопротеинлипазы (*LPL* rs328) для выделения групп риска развития тяжелых стенотических и окклюзирующих поражений.

2. При выявлении C/T генотипа гена *FGB* rs1800788 и/или G/G генотипа гена *TNF* rs1800629 у пациентов с ишемической болезнью сердца и периферическим атеросклерозом разной степени выраженности рекомендуется относить их к группе повышенного риска развития инфаркта миокарда с целью оптимизации профилактических мероприятий и проведения своевременной и полной диспансеризации.

3. Целесообразно проводить определение полиморфного гена *TNF* rs1800629 у пациентов с перенесенным инфарктом миокарда для прогнозирования развития повторного инфаркта миокарда.

4. У пациентов с первичными атеросклеротическими поражениями рекомендуется использовать генотипирование генов *IL1B* rs16944, *LPL* rs328, *ITGB3* rs5918, *FGF* rs1800788, *TGFBI* rs1800469 и *TNF* rs1800629 для дополнительной оценки прогноза развития стеноокклюзирующих поражений. При этом необходимо учитывать, что наличие полиморфного –Т аллеля генов *IL1B* rs16944 и нормального С/С генотипа *TGFBI* rs1800469 увеличивает риски формирования тяжелых стенозов, присутствие –Т аллеля *FGF* rs1800788 и нормального G/G генотипа гена *TNF* rs1800629 является неблагоприятным маркером развития окклюзий коронарных и периферических сосудов, а наличие полиморфных –G аллеля *LPL* rs328 и –С аллеля *ITGB3* rs5918 увеличивает частоту развития поражений как стенозирующего, так и окклюзирующего характера, что требует увеличения частоты проведения методов визуализации атеросклеротических поражений, в том числе ультразвукового исследования и ангиографии коронарных и периферических сосудов.

5. У пациентов с различными проявлениями атеросклеротического поражения сосудов целесообразно изучать суммарный вклад полиморфизма генов *LPL* rs328, *ITGB3* rs5918, *FGF* rs1800788 и *TNF* rs1800629 для уточнения риска развития более тяжелых поражений, в первую очередь наличие гомозиготных генотипов С/С гена *FGF* rs1800788 и G/G гена *TNF* rs1800629, которые в комбинации приводят к значимому увеличению частоты развития первичного и повторного инфарктов миокарда, что требует отнесения пациентов в группы высокого риска развития соответствующих поражений со своевременным проведением всех диагностических и профилактических мероприятий.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Дальнейшая разработка темы исследования ассоциации полиморфизма выбранных генов с клиническими вариантами атеросклероза должна ориентироваться на укрупнение групп исследуемых, включая расширение их по этническому составу, для проведения максимально точной статистической обработки, и изучения иных клинических проявлений атеросклеротических поражений, возможно ассоциированных с конкретными сопутствующими состояниями в виде гипертонической болезни, метаболического синдрома, дефицита различных факторов. Кроме того, необходимо исследование полиморфизма иных генов, ответственных за реализацию патогенетического процесса и клинические проявления атеросклероза, что в дальнейшем, при накоплении данных, позволит создавать генетический паспорт и максимально персонифицировать подходы к профилактике и лечению.

Список научных работ, опубликованных по теме диссертации

1. Гараева Л.А. Частота встречаемости мультифокального атеросклероза сосудов разной локализации в клинической практике / Л.А. Гараева, С.Д. Маянская // Кардиология: от науки – к практике: материалы Рос. нац. конгр. кардиологов (г. Санкт - Петербург, 25-27 сент. 2013 г.). – СПб, 2013. – С. 141-142.
2. Гараева Л.А. Варианты локализации поражения коронарных артерий по данным эхо-кардиографии и коронароангиографии у больных ишемической болезнью сердца / Л.А. Гараева, С.Д. Маянская // Сборник тезисов III Всероссийской конференции «Противоречия современной кардиологии: спорные и нерешенные вопросы» - Самара, 2014.- С. 159.
3. Гараева Л.А. Полиморфизмы генов lpl rs328, tnf rs1800629, tgf rs1800469, fgb rs1800788, il1b rs16944, gp3a rs5918 у пациентов с периферическим атеросклерозом / Л.А. Гараева, С.Д. Маянская // Сборник тезисов XXII Российского национального конгресса «Человек и лекарство» - Москва, 2015. – С. 31.
4. Гараева Л.А. Полиморфизм генов-кандидатов у пациентов с атеросклерозом раз-личной локализации / Л.А. Гараева, С.Д. Маянская // Материалы IV Всероссийской конференции «Противоречия совре-

менной кардиологии: спорные и нерешенные вопросы» - Самара, 2015.- С. 21.

5. Гараева Л.А. Полиморфизм генов-кандидатов у пациентов с различным течением атеросклероза / Л. А. Гараева, С. Д. Маянская // Сборник тезисов X национального конгресса терапевтов – Москва, 2015. – С. 45.

6. Гараева Л.А. Полиморфизм гена *tnf rs1800629* у пациентов с тяжелым атеросклерозом сосудов нижних конечностей / Л.А. Гараева, С.Д. Маянская // Сборник тезисов национального конгресса кардиологов – Москва, 2015. – С.167.

7. Гараева Л.А. Полиморфизм генов трансформирующего фактора роста, липопротеинлипазы, фибриногена и гликопротеина 3 альфа у пациентов с коронарным атеросклерозом различной степени тяжести / Л.А. Гараева, С.Д. Маянская // **Практическая медицина.- 2017.-№2 (103). – С.88-93.**

8. Гараева Л. А. Ассоциация полиморфных локусов генов провоспалительных цитокинов у пациентов с коронарным и периферическим атеросклерозом различной степени тяжести / Л.А. Гараева, С.Д. Маянская // **Международный научно-исследовательский журнал.-2017.-№1 – 1(55).-С.102-106.**

9. Гараева Л. А. Полиморфизм генов-кандидатов у больных с коронарным атеросклерозом различной степени тяжести / Л. А. Гараева, С. Д. Маянская // Сборник материалов всероссийской научно-практической конференции «Фундаментальная и клиническая электрофизиология сердца. Актуальные вопросы аритмологии» - Казань, 2017. – С. 18.

10. Гараева Л.А. Ассоциация полиморфизма генов *FGB, LPL, GРIІА* и *TGFВ* с вариантами тяжести течения атеросклероза / Л.А. Гараева, С.Д.Маянская // **Казанский медицинский журнал.- 2017.- Т. 98, №5.-С.669-674.**

11. Гараева Л. А. Ассоциация тяжести течения атеросклеротического процесса с полиморфизмом генов-кандидатов у больных с ИБС / Л.А. Гараева, С.Д. Маянская // Сборник тезисов 91-й Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Белые цветы» - Казань, 2017. – С. 189.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АГ – артериальная гипертония

АД – артериальное давление

АЧТВ - активированное частичное тромбопластиновое время

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИМ – инфаркт миокарда

ОКС – острый коронарный синдром

ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения

ОМП – однонуклеотидный полиморфизм, SNP, single nucleotide polymorphism

ПТИ – протромбиновый индекс

ПЦР – реакция преципитации

СД – сахарный диабет

СН - стенокардия напряжения

ССЗ - сердечно-сосудистые заболевания

ССС – сердечно-сосудистая система

ХПН – хроническая почечная недостаточность

ХСН – хроническая сердечная недостаточность

ЧМА – частота минимального аллеля

ЭКГ – электрокардиография

ЭхоКГ – эхокардиография

AIC – критерий Акаике

C.I. – доверительный интервал

FGB – фибриноген

ITGB3 – гликопротеин 3a

IL-1 β – интерлейкин-1 β

LPL – липопротеинлипаза

ОКСбпST – острый коронарный синдром без подъема сегмента ST

ОКСпST – острый коронарный синдром с подъемом сегмента ST

OR – odds ratio, отношение шансов

TGFB1 β – трансформирующий фактор роста β

TNF- α – фактор некроза опухоли- α