

УДК 612.14:575.174.015.3

Погоский Кирилл Викторович

врач - субординатор,

Красноярский государственный медицинский университет

им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России

Kirill.P.94@mail.ru

Трофименко Вадим Андреевич

врач - субординатор,

Красноярский государственный медицинский университет

им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России

Vadtrofimenko@mail.ru

Kirill V. Pogoskiy

subordinate doctor

Krasnoyarsk State Medical University of the prof.

V.F. Voino-Yasenets Health Ministry of Russia

Kirill.P.94@mail.ru

Vadim A. Trofimenko

subordinate doctor

Krasnoyarsk State Medical University of the prof.

V.F. Voino-Yasenets Health Ministry of Russia

Vadtrofimenko@mail.ru

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ CYP4A11 ГЕНА С ТЯЖЕСТЬЮ КОРОНАРНОГО АТЕРОСКЛЕРОЗА

ASSOCIATION OF POLYMORPHIC VARIANTS OF CYP4A11 GENE WITH GRAVITY OF CORONARY ATHEROSCLEROSIS

Аннотация. Результаты широкого внедрения интервенционных вмешательств в лечении инфаркта миокарда (ИМ) позволили в значительной степени изменить ближайшие исходы заболевания. [1] Вместе с тем общепризнаны ограниченные возможности высоких технологий в борьбе с сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ). Несмотря на отчетливое снижение смертности от ССЗ в популяции в целом (на 25,5% за период с 2006 по 2014 гг.) смертность среди лиц молодого возраста остается практически неизменной. [2]

Кардинально изменить неблагоприятную ситуацию возможно только посредством комплекса мер первичной профилактики на уровне государства в целом. В своеобразной иерархии факторов риска роль генетики (эпигенетики) относительно невелика. [3] Однако, реализация большинства традиционных факторов риска в значительной степени является генетически детерминированной.

Ключевые слова: *однонуклеотидный полиморфизм, генетика, инфаркт миокарда.*

Annotation. *The results of the wide introduction of interventional interventions in the treatment of myocardial infarction (MI) made it possible to significantly change the immediate outcomes of the disease. [1] At the same time, the limited possibilities of high technologies in combating cardiovascular diseases (CVD) are generally recognized. Despite a clear reduction in CVD mortality in the population as a whole (by 25.5% over the period from 2006 to 2014), mortality among young people remains almost unchanged. [2]*

Cardinally to change an unfavorable situation it is possible only through a complex of measures of primary prevention at the level of the state as a whole. In a peculiar hierarchy of risk factors, the role of genetics (epigenetics) is relatively small. [3] However, the implementation of most traditional risk factors is largely genetically determined.

Keywords: *single nucleotide polymorphism, genetics, myocardial infarction.*

В течение последнего десятилетия в геноме открыто большое количество различных однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП), ассоциированных с ИМ/ИБС. Однако возможность практического применения результатов генотипирования до настоящего времени остается неясной. Существенными ограничениями на этом пути являются неизвестные механизмы реализации эффекта ОНП, открытых в результате полногеномных ассоциативных исследований (GWAS- Genome-Wide Association Study), и высокая распространенность генотипов риска в популяции.

Белок трансформирующего фактора роста- $\beta 1$ (p-TGF $\beta 1$) является медиатором множества важнейших биологических процессов в течение всей жизни человека: пролиферации, дифференцировки и апоптоза клеток, модуляции иммунного ответа, синтеза коллагена. Хроническое воспаление, неоваскуляризация, миокардиальный фиброз являются основными механизмами реализации патологической роли p-TGF- $\beta 1$ при различных ССЗ. [4; 5] Определение проатерогенной роли, включая дестабилизацию атеросклеротической бляшки, p-TGF- $\beta 1$ имеет большое не только фундаментальное, но и практическое значение. В отечественных работах была установлена взаимосвязь между уровнем p-TGF- $\beta 1$ и исходами у больных после аорто-коронарного шунтирования (АКШ). [6; 7]

Ген, кодирующий p-TGF- $\beta 1$ – ген трансформирующего ростового фактора бета-1 (TGF- $\beta 1$), расположен на 19 хромосоме, содержит 7 экзонов и большое количество интронов. В настоящее время в гене идентифицировано несколько значимых ОНП. Взаимосвязь полиморфизма (CYP4A11) гена TGF- $\beta 1$, расположенного в промоторной области гена (C-509T), с развитием «сосудистых катастроф» остается во многом не

изученной. В различных популяциях была показана ассоциация *CYP4A11* с ИМ/ИБС, однако полученные результаты зачастую были противоречивыми. [9, 10] В России данный вопрос ранее не исследовался. Целью настоящего исследования было изучение взаимосвязи полиморфных вариантов *CYP4A11* гена TGF- β 1 с тяжестью атеросклероза коронарных артерий (КА).

Материал и методы. В исследование включались больные ИМ, удовлетворяющие критериям включения: 1) верифицированный диагноз ИМ; 2) возраст ≤ 65 лет; 3) европеоидная раса; 4) наличие подписанного информированного согласия. Протокол одобрен Этическим комитетом Красноярского государственного медицинского университета имени проф. В.Ф.Войно-Ясенецкого. Всего было включено 256 больных ИМ, в том числе 216 мужчин (84,4%) и 40 женщин (15,6%).

Под передней локализацией ИМ принимались передне-перегородочный, верхушки и боковой стенки; непередней – нижний, нижне-боковой и задне-базальный. ИМ правого желудочка был диагностирован у 4 (1,6%) больных. Распределение больных по локализации ИМ и наличию подъема сегмента ST у мужчин и женщин было практически равным. Однако, у мужчин значительно чаще ИМ сопровождался появлением патологического зубца Q (72,7% и 57,5%, $p=0,053$).

Ангиография коронарных артерий проводилась на аппарате Allura Xper FD10 (Philips). Помимо стандартного протокола полипроекционной коронароангиографии (КАГ), тяжесть поражения коронарного русла оценивалась с помощью простого счета количества пораженных КА, типа поражения (проксимальный или дистальный), а также с использованием индекса Gensini.

Индекс Gensini рассчитывался по стандартной методике, включавшей пятнадцать сегментов коронарного русла. Помимо вышеописанных, оценивались септальная, первая и вторая диагональные ветви передней нисходящей артерии, ветвь тупого края и задне-нисходящая артерии. Сужению просвета КА до 25% соответствовал 1 балл, 25-50% – 2 балла, 50-75% – 4 балла, 75-90% – 8 баллов, 90-99% – 16 баллов, полной окклюзии – 32 балла. В зависимости от локализации стеноза и типа кровоснабжения миокарда, полученное значение умножалось на соответствующий коэффициент, равный от 0,5 до 5. Если же имелось несколько стенозов одного сосуда, полученное количество баллов суммировалось. [11] Таким образом, индекс Gensini являлся интегральным показателем тяжести атеросклеротического поражения коронарного русла, учитывающим не только количество, но и гемодинамическую значимость каждого стеноза.

Однососудистое поражение КА имели 92 (35,9%) пациента, двухсосудистое – 85 (33,2%) и трехсосудистое – 62 (24,2%) больных. У 17

(6,6%) пациентов были выявлены интактные КА, у 9 (3,5%) из них причиной развития ИМ была тромботическая окклюзия КА. Расчет индекса Gensini проводился только у пациентов с наличием атеросклероза КА.

Молекулярно-генетические исследования. Геномную дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК) выделяли из лейкоцитов венозной крови фенол-хлороформным методом. Полиморфные варианты *CYP4A11* гена трансформирующего ростового фактора бета-1 (TGF- β 1) тестировали с помощью ПЦР в режиме реального времени в соответствии с протоколом производителя АВ 7900НТ (зонды TaqMan, Applied Biosystems).

Статистическая обработка полученных данных выполнялась при помощи программы SPSS, версии 21.0. 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 $p < 0,05$.

Результаты. Частота гомозиготного генотипа GG по редкому аллелю у мужчин больных ИМ с многососудистым поражением составила $11,2\% \pm 2,8$ против $26,4\% \pm 4,6$ в группе пациентов без многососудистого поражения ($p = 0,004$). Риск развития (ОШ) многососудистого поражения КА у мужчин носителей аллеля А *CYP4A11* гена TGF-B1 составил 2,84 [95% ДИ: 1,37-5,87]. Подобные показатели получены в отношении стенозирующего поражения проксимальных отделов КА у носителей аллеля А *CYP4A11* гена TGF-B1 – ОШ=2,66 [95% ДИ: 1,29-5,47].

Значения индекса Gensini были значительно выше у носителей рискованного аллеля А *CYP4A11* гена TGF-B1: генотип - AA $57,3 \pm 41,9$; генотип AG - $52,9 \pm 40,7$; генотип GG – $43,0 \pm 28,8$ ($p > 0,05$). При этом значения среднего в данном случае не в полной мере отражают имеющиеся различия. При сопоставимых медианах (AA/AG/GG = 43/40/42) верхний квартиль (Q_{75}) у носителей аллеля риска А был значимо выше (AA/AG/GG = 82/83/59, $p = 0,028$).

Частота носительства аллеля А у мужчин, имевших значения индекса Gensini более 80 баллов, составила $93,6\% \pm 3,6$ против $80,1\% \pm 3,2$ среди лиц с менее тяжелым поражением коронарного русла ($p = 0,030$). Риск тяжелого поражения КА (индекс Gensini > 80 баллов) у носителей аллеля А *CYP4A11* гена TGF-B1 – ОШ=3,64 [95% ДИ: 1,06-12,49].

У женщин взаимосвязи между вариантами *CYP4A11* гена TGF- β 1 и выраженностью атеросклероза КА не отмечено. Вместе с тем, индекс Gensini был очевидно выше у носителей гомозиготного генотипа по аллелю риска *CYP4A11* гена TGF- β 1: генотип - AA 62,0 \pm 49,6; генотип AG – 47,8 \pm 37,3; генотип GG – 48,7 \pm 10,9 ($p > 0,05$). Вероятно данное обстоятельство объясняется небольшим количеством наблюдений.

В единственном опубликованном мета-анализе, обобщившем шесть независимых друг от друга исследований и включавшем 5535 пациентов и 2970 человек контрольной группы, была убедительно продемонстрирована взаимосвязь трех ОНП гена TGF β -1 (*rs1800469*, *CYP4A11* и *rs1800471*) с ИМ и прогрессированием сердечной недостаточности. [12] Однако, исходя из цели нашего исследования особенный интерес вызывают зарубежные работы, посвященные изучению атеросклеротического поражения коронарного русла у носителей различных генотипов *CYP4A11* гена TGF- β 1. В работе Yang M. и соавт. (2016) предпринималась попытка оценить функциональную значимость гена TGF- β 1 (*CYP4A11*) и его рецептора типа II - TGFBR2 (*rs6785385* и *rs764522*). Ангиографическая характеристика КА у 605 человек с подозрением на наличие ИБС проводилась с расчетом индекса Gensini. У мужчин была выявлена ассоциация аллеля T *CYP4A11* (+T29C) гена TGF- β 1 с тяжестью коронарного атеросклероза: количеством стенозированных КА (трех – 49,3%; двух – 44,1%; одного – 36,9%) и уровнем индекса Gensini (средние значения индекса у носителей генотипов TT/CT/CC составили 34,33 \pm 2,23 / 32,06 \pm 4,79 / 26,90 \pm 3,83. В отношении полиморфных вариантов генотипа TGFBR2 статистически значимых различий выявлено не было. [13] Результаты этой работы сопоставимы с нашими данными, а более высокие значения индекса Gensini объясняются контингентом больных. Очевидна важнейшая роль этнической принадлежности участников этих исследований.

Заключение. В российской популяции впервые подтверждена ассоциация аллеля А *CYP4A11* гена TGF- β 1 с тяжестью коронарного атеросклероза у мужчин. Перспектива последующих исследований может быть связана с определением возможности клинического использования генетических предикторов в стратификации риска больных.

Литература:

1. Шкорик Е.В., Маркелова Е.В., Силаев А.А. и др. Оценка роли трансформирующего фактора роста β 1 в развитии осложнений у пациентов с ишемической болезнью сердца после аортокоронарного шунтирования. *Фундаментальные исследования*. 2014; 7 (3): 604–609.

2. Барсова Р.М., Титов Б. В., Матвеева Н. А. и др. Участие гена TGF- β 1 в формировании предрасположенности к инфаркту миокарда. *ACTA Nature (рускоязычная версия)* 2012; 4 (2): 74–79.

3. Chen Y., Dawes P.T., Packham J.C. et al. Interaction between smoking and functional polymorphism in the TGF β 1 gene is associated with ischaemic

heart disease and myocardial infarction in patients with rheumatoid arthritis: a cross-sectional study. Arthritis Res Ther. 2012; 14(2): 81.

4. Cruz M., Fragoso J.M., Alvarez-León E. et al. *The TGF-B1 and IL-10 gene polymorphisms are associated risk of developing silent Myocardial ischemia in the diabetic patients. Immunology Letters 2013; 156 (1–2): 18-22.*

5. Montorsi P., Ravagnani P.M., Galli S. et al. *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. 2006; 27: 2632–2639*

6. Moxon J.V., Biros E. et al. *Meta-analysis of the association between transforming growth factor-beta polymorphisms and complications of coronary heart disease. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0037878> (25 May 2012).*

7. Zhu M., Tang L. et al. *Polymorphisms of TGFβ-1 and TGFBR2 in relation to coronary disease in a Chinese population. Clinical Biochemistry 2016; 49(12): 873-878.*

8. Zuñiga-Ramos J., Arellano-González M. et al. *The T29C (CYP4A11) polymorphism of the transforming growth factor-β1 (TGF-β1) gene is associated with restenosis after coronary stenting in Mexican patients. Experimental and Molecular Pathology 2015; 98(1): 13-17.*

9. Strzelczyk J.K., Regula R. et al. *The Relationships between Polymorphisms in Genes Encoding the Growth Factors TGF-beta 1, PDGFB, EGF, bFGF and VEGF-A and the Restenosis Process in Patients with Stable Coronary Artery Disease Treated with Bare Metal Stent. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0150500> (1 March 2012).*

Literature:

1. Shkorik E.V., Markelova EV, Silaev AA et al. *Participation of transforming growth factor β1 in the development of complications in patients with coronary heart disease before and after coronary bypass. Fundamental research 2014; 7 (3): 604–609.*

2. Barsova R.M., Titov B.V., Matveeva N.A. et al. *Contribution of the TGFBI gene to myocardial infarction susceptibility. ACTA Nature 2012; 4 (2): 74–79.*

3. Chen Y., Dawes P.T., Packham J.C. et al. *Interaction between smoking and functional polymorphism in the TGFBI gene is associated with ischaemic heart disease and myocardial infarction in patients with rheumatoid arthritis: a cross-sectional study. Arthritis Res Ther. 2012; 14(2): 81.*

4. Cruz M., Fragoso J.M., Alvarez-León E. et al. *The TGF-B1 and IL-10 gene polymorphisms are associated risk of developing silent Myocardial ischemia in the diabetic patients. Immunology Letters 2013; 156 (1–2): 18-22.*

5. Montorsi P., Ravagnani P.M., Galli S. et al. 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.* 2006; 27: 2632–2639
6. Moxon J.V., Biros E. et al. Meta-analysis of the association between transforming growth factor-beta polymorphisms and complications of coronary heart disease. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0037878> (25 May 2012).
7. Zhu M., Tang L. et al. Polymorphisms of TGF β -1 and TGFBR2 in relation to coronary disease in a Chinese population. *Clinical Biochemistry* 2016; 49(12): 873-878.
8. Zuñiga-Ramos J., Arellano-González M. et al. The T29C (CYP4A11) polymorphism of the transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) gene is associated with restenosis after coronary stenting in Mexican patients. *Experimental and Molecular Pathology* 2015; 98(1): 13-17.
9. Strzelczyk J.K., Regula R. et al. The Relationships between Polymorphisms in Genes Encoding the Growth Factors TGF-beta 1, PDGFB, EGF, bFGF and VEGF-A and the Restenosis Process in Patients with Stable Coronary Artery Disease Treated with Bare Metal Stent. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0150500> (1 March 2012).