

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-β1 и выраженностью атеросклероза КА не отмечено. Вместе с тем, индекс Gensini был очевидно выше у носителей гомозиготного генотипа по аллелю риска *CYP4A11* гена TGF-β1: генотип - AA 62,0±49,6; генотип AG – 47,8±37,3; генотип GG – 48,7±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 TGFβ-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-β1. В работе Yang M. и соавт. (2016) предпринималась попытка оценить функциональную значимость гена TGF-β1 (*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-β1 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±2,23 / 32,06±4,79 / 26,90±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-β1 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 β1 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-β1 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 TGFβ1 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).