

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ЛОКУСА 9p21.3 С ОТДАЛЕННЫМИ ИСХОДАМИ ИНФАРКТА МИОКАРДА

Шестерня П.А.¹, Никулина С.Ю.¹, Шульман В.А.¹

¹ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава РФ, Красноярск, Россия (660022, Красноярск, ул.П.Железняка, 1), e-mail: shesternya75@mail.ru

В исследовании проведен анализ ассоциации однонуклеотидного полиморфизма (ОНП) *rs1333049* локуса 9p21.3 с отдаленными исходами больных инфарктом миокарда (ИМ). В исследование включено 500 больных ИМ в возрасте ≤ 65 лет ($53,35 \pm 7,79$ лет), 411 (82,2%) мужчин и 89 (17,8%) женщин. Генотипирование ОНП *rs1333049* проводилось с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени в соответствии с протоколом фирмы производителя (зонды и праймеры TaqMan, Applied Biosystems 7900HT). Все больные, выписанные из стационара, были разделены на группы в зависимости от проведенного в стационаре лечения. Группу 1 составили пациенты, подвергшиеся интервенционной реперфузии, группу 2 – больные, получившие консервативную, в т.ч. тромболитическую терапию. Период проспективного наблюдения составил 2 года. Выявлена ассоциация локуса 9p21.3 с неблагоприятными исходами ИМ в отдаленный период наблюдения у больных ИМ, не подвергавшихся чрескожному коронарному вмешательству в стационаре (группа 2). Носители аллеля риска С *rs1333049* имели более высокий риск развития повторного ИМ, составивший течение года после выписки из стационара – 1,13 [95% ДИ: 1,07-1,19], в течение двух лет наблюдения – 1,26 [95% ДИ: 1,12-1,63] и повторного острого коронарного синдрома – 1,32 [95% ДИ: 1,15-1,51] и 1,46 [95% ДИ: 1,21-1,78] соответственно.

Ключевые слова: инфаркт миокарда, ОНП, *rs1333049*, локус 9p21.3, исходы, прогноз.

ASSOCIATION OF GENETIC VARIANTS AT LOCUS 9p21.3 WITH LONG-TERM OUTCOMES IN PATIENT WITH MYOCARDIAL INFARCTION

Shesternya P.A.¹, Nikulina S.Y.¹, Shulman V.A.¹

¹Krasnoyarsk State Medical University n.a. prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russia (660022, Krasnoyarsk, street P.Zheleznyaka, 1), e-mail: shesternya75@mail.ru

We have done investigation of association between 9p21.3 locus single nucleotide polymorphism (SNP) *rs1333049* and long-term outcomes in patient with myocardial infarction (MI). A total of 500 patients (411 male, 89 female) with MI age younger 65 old were recruited (mean age was $53,35 \pm 7,79$ years). Genotyping of SNP *rs1333049* was performed using real-time polymerase chain reaction (PCR) according to protocol (probes and primers TaqMan, Applied Biosystems 7900HT). All discharged patients were divided on two groups: patients underwent percutaneous coronary intervention were included in group 1, patients received conservative treatment (incl. thrombolytic) were joined in group 2. Follow-up period lasted two years. We revealed a direct strong association of the locus 9p21.3 with worse outcomes (hospitalization due to acute coronary syndrome (ACS) and recurrent MI) in group 2 during follow-up period. Carriers of risk allele C *rs1333049* had significant higher relative risk of recurrent MI during one year – 1,13 [95% CI: 1,07-1,19] and two years – 1,26 [95% CI: 1,12-1,63]. For ACS relative risk were – 1,32 [95% CI: 1,15-1,51] and 1,46 [95% CI: 1,21-1,78] consequently.

Keywords: myocardial infarction, SNP, *rs1333049*, locus 9p21.3, outcome, prognosis.

Введение

Идентификация роли небольшого участка генома в коротком плече 9 хромосомы (локус 9p21.3) в развитии ишемической болезни сердца (ИБС) и инфаркта миокарда (ИМ) стала возможной в результате секвенирования полного генома человека. На сегодняшний день его независимая роль в развитии ИБС общепризнана [2, 7, 9]. При этом механизм реализации данного генетического феномена не определен и активно изучается. В

большинстве опубликованных работ приводится взаимосвязь локуса 9p21.3 с тяжестью и темпами прогрессирования атеросклероза различной локализации [1, 3, 6, 10].

Логическим продолжением научного поиска является изучение возможности использования локуса 9p21.3 в качестве генетического маркера исходов у больных ИМ. Имеются данные о большей частоте повторных ИМ и чрескожных коронарных вмешательств (ЧКВ) после перенесенного острого коронарного синдрома (ОКС) у носителей генотипов риска [5, 8]. Согласно результатам других работ влияния этих генотипов на отдаленный прогноз у больных ИМ не отмечено [4]. Одной из причин такого несоответствия может являться неоднородность групп больных, в том числе по виду оказанного лечения. Очевидно, что интервенционное вмешательство, проведенное больному ИМ в стационаре, кардинально изменяет последующее течение ИБС. Поэтому мы считаем обоснованным дифференцированный подход в анализе взаимосвязи локуса 9p21.3 с отдаленными исходами ИМ в зависимости от проведенного в стационаре лечения.

Цель исследования

Изучить ассоциацию полиморфных вариантов однонуклеотидного полиморфизма (ОНП) *rs1333049* локуса 9p21.3 с отдаленными исходами у больных ИМ в зависимости от наличия и метода проведенной в стационаре реперфузионной терапии.

Материал и методы

В исследование включено 500 больных ИМ европеоидной расы в возрасте от 22 до 65 лет ($53,35 \pm 7,79$), 411 (82,2%) мужчин и 89 (17,8%) женщин. Научная работа одобрена Этическим комитетом КрасГМУ. После подписания формы информированного согласия всем больным производился забор 10 мл венозной крови для выделения ДНК. Генотипирование ОНП *rs1333049* проводилось с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени в соответствии с протоколом фирмы производителя (зонды и праймеры TaqMan, Applied Biosystems) на приборе АВ 7900НТ.

Все больные в зависимости от метода терапии были разделены на две группы: группа 1 – пациенты, подвергшиеся ЧКВ, группа 2 – получавшие консервативную, в т. ч. тромболитическую терапию (ТЛТ). После выписки из стационара пациенты наблюдались в течение двух лет, информация собиралась в три временных периода – через 6, 12 и 24 месяцев. Конечными точками были: повторный ИМ, повторный ОКС (объединявший случаи повторного ИМ и госпитализации по поводу нестабильной стенокардии), повторное ЧКВ, летальный исход (ЛИ). Данные по отдаленным исходам собраны у 453 больных (95,2%).

Статистическая обработка полученных данных выполнялась при помощи программы SPSS, версии 20.0. Описательная статистика результатов исследования представлена для качественных признаков в виде процентных долей и их стандартных ошибок, для

количественных – в виде средних арифметических (M) и стандартных отклонений (σ). Проверка нормальности распределения значений переменных в группах наблюдения проводилась с использованием критерия Колмогорова-Смирнова. Значимость различий качественных признаков в группах наблюдения оценивали при помощи непараметрического критерия χ^2 Пирсона с поправкой на непрерывность. При частоте встречаемости признака 5 и менее использовался точный критерий Фишера. Для оценки значимости статистических различий количественных признаков использовался ранговый критерий Манна-Уитни. Различия во всех случаях оценивали, как статистически значимые при $p < 0,05$. Для оценки риска развития события по конкретному аллелю или генотипу производили оценку отношения шансов (ОШ) в таблицах сопряженности 2x2 с расчетом доверительных интервалов (ДИ). При невозможности расчета ОШ рассчитывался относительный риск (ОР) события внутри когорты с расчетом ДИ.

Результаты исследования

Из 500 участников исследования интервенционная реперфузия проведена 251 (50,2%) больному ИМ – 1 группа. В подавляющем большинстве случаев ЧКВ сопровождалось стентированием КА – 232 (92,4%). В большинстве случаев устанавливались стенты из кобальт-хромового сплава: 305 Liberte - 26 (8,5%), Skylor - 236 (77,4%), другие покрытые и непокрытые стенты использовались существенно реже: Eusa «STS» - 2 (0,7%), Taxus - 29 (9,5%), Nobori - 4 (1,3%), Presillion - 7 (2,3%), R-стент - 1 (0,3%). Тромболитическую терапию до проведения ЧКВ получил 31 (12,4%) больной.

Группа 2 включала 249 (49,8%) больных, получавших в стационаре консервативную терапию. Тромболитическая терапия проведена в этой группе 88 (35,3%) больным, в т. ч. 30 (34,1%) больным альтеплазой и 58 (65,9%) больным стрептокиназой. Характеристика, включенных больных отражена в таблице 1 (электрокардиографические данные приведены для 496 больных – у 3 больных была полная блокада левой ножки пучка Гиса, у 1 пациента имплантирован постоянный кардиостимулятор).

Таблица 1

Характеристика больных ИМ

Характеристика ИМ	Группа 1, абс. (%)	Группа 2, абс. (%)	Итого, абс. (%)
ИМ с подъемом сегмента ST / ИМ без подъема сегмента ST	208 (83,9) / 40 (16,1)	216 (87,1) / 32 (12,9)	424 (85,5) / 72 (14,5)
Передний ИМ (включая передне-боковой) / Нижний ИМ (включая нижне-боковой, задний) / Циркулярный ИМ	111 (44,7) / 118 (47,6) / 19 (7,7)	106 (42,7) / 123 (49,6) / 19 (7,7)	217 (43,7) / 241 (48,6) / 38 (7,7)

Q-волновой ИМ /	184 (74,2) /	154 (62,1) /	338 (68,1) /
ИМ без зубца Q	64 (25,8)	94 (37,9)	158 (31,9)

Группы 1 и 2 не различались между собой по частоте ИМ с подъемом сегмента ST ($p=0,453$) и локализации ИМ ($p=0,903$), при этом в группе 1 статистически значимо преобладали больные ИМ с патологическим зубцом Q ($p=0,029$).

Летальность в стационаре составила 4,8% (24 пациента) и была существенно выше в группе 2 (8,4%) в сравнении с группой 1 (1,2%), $p<0,001$. Из 476 больных, выписанных из стационара, данные отдаленного прогноза собраны у 453 (95,2%) больных. Количество успешных результатов генотипирования составило 438 (96,7%). Таким образом, анализ ассоциации полиморфных вариантов *rs1333049* и данных отдаленного периода наблюдения был проведен у 438 больных (по 219 больных в обеих группах).

В течение двухлетнего периода наблюдения в целом группы не имели статистически значимых различий. Так, в группе 1 частота повторного ИМ в течение 6 месяцев составила 6,6%, в течение года после перенесенного ИМ – 10,9%, двух лет наблюдения – 14,1%. В группе 2 – 5,8% ($p=0,751$); 9,4% ($p=0,598$); 13,7% ($p=0,903$), соответственно. Госпитализированы с диагнозом ОКС в каждый временной период были 12,7%, 24,0% и 35,7% больных группы 1, в группе 2 этот показатель составил 15,2% ($p=0,428$), 26,5% ($p=0,550$) и 38,4% ($p=0,559$), соответственно. При этом в первые полгода ЧКВ подверглись 8,7% больных группы 1 и 11,7% больных группы 2 ($p=0,304$), в течение года – 17,5% и 19,7% ($p=0,536$), за весь период наблюдения – 22,0% и 28,8% ($p=0,102$), соответственно. Летальность среди выписанных из стационара больных через 6, 12 и 24 месяцев после ИМ в группе 1 составила 3,1%/4,6%/7,4%; в группе 2 – 1,3%/2,3%/5,1% ($p=0,216/0,189/0,333$).

В дальнейшем нами был проведен дифференцированный частоты конечных точек у носителей различных генотипов *rs1333049* в каждой из групп. В группе 2 отмечена статистически значимая ассоциация носительства аллеля С *rs1333049* с повторным ИМ в течение одного и двух лет наблюдения. Необходимо отметить, что у носителей гомозиготного генотипа GG не произошло ни одного случая повторного ИМ в течение первого года после выписки из стационара. Частота комбинированной конечной точки (повторный ОКС), объединявшей случаи госпитализации по поводу нестабильной стенокардии и повторного ИМ, была также статистически значимо выше у носителей аллеля риска С *rs1333049* в течение всего периода наблюдения (6, 12, 24 месяца). Отношение шансов (ОШ) развития повторного ОКС у лиц, имевших в генотипе аллель С *rs1333049*, через год после ИМ составило 4,91 [95% ДИ: 1,45-16,66], через два года – 3,77 [95% ДИ: 1,50-9,52]. В течение первого года после ИМ носители аллеля С *rs1333049* имели в пять раз более

высокий риск проведения интервенционного вмешательства – ОШ=5,25 [95% ДИ: 1,21-22,74]. При этом ассоциации генотипов риска с летальностью больных ИМ в течение двух лет наблюдения нами не выявлено.

В группе 1 ассоциации генотипов *rs1333049* с исходами у больных ИМ в течение двухлетнего периода наблюдения не выявлены ни с одной из конечных точек. Результаты представлены в таблице 2.

Ассоциация генотипов риска *rs1333049* с исходами у больных ИМ в отдаленный период

Генотип / аллель риска	Период наблюдения											
	6 месяцев				12 месяцев				24 месяца			
	ИМ	ОКС	ЧКВ	ЛИ	ИМ	ОКС	ЧКВ	ЛИ	ИМ	ОКС	ЧКВ	ЛИ
Группа больных ИМ, не подвергавшихся ЧКВ (n=219)												
СС / аллель G абс. (%)	6 (8,1) / 7 (4,8)	13 (17,6) / 20 (13,8)	9 (12,2) / 17 (11,7)	0 (0,0) / 3 (2,1)	9 (12,2) / 12 (8,3)	25 (33,8) / 33 (22,8)	17 (23,0) / 27 (18,6)	2 (2,7) / 3 (2,1)	12 (16,2) / 18 (12,8)	36 (48,6) / 47 (33,3)	26 (35,1) / 37 (26,2)	6 (8,1) / 5 (3,5)
p	0,331	0,460	0,924	0,213	0,356	0,080	0,447	0,851	0,488	0,028	0,173	0,294
аллель С / GG абс. (%)	13 (7,1) / 0 (0,0)	33 (18,1) / 0 (0,0)	26 (14,3) / 0 (0,0)	2 (1,1) / 1 (2,7)	21 (11,5) / 0 (0,0)	55 (30,2) / 3 (8,1)	42 (23,1) / 2 (5,4)	4 (2,2) / 1 (2,7)	32 (17,9) / 2 (5,6)	77 (43,0) / 6 (16,7)	56 (31,3) / 7 (19,4)	8 (4,5) / 3 (8,3)
p	0,094	0,005	0,014	0,444	0,030	0,005	0,014	0,672	0,042	0,003	0,154	0,623
ОШ, 95% ДИ	-	Н.р.*	Н.р.*	-	Н.р.*	4,91 (1,45-16,66)	5,25 (1,21-22,74)	-	3,08 (1,41-15,72)	3,77 (1,50-9,52)	-	-
ОР, 95% ДИ	-	1,22 (1,14-1,31)	1,17 (1,10-1,24)	-	1,13 (1,07-1,19)	1,32 (1,15-1,51)	1,23 (1,10-1,37)	-	1,26 (1,12-1,63)	1,46 (1,21-1,78)	-	-
Группа больных, перенесших ЧКВ (n= 219)												
СС / аллель G абс. (%)	5 (8,3) / 10 (6,3)	8 (13,3) / 21 (13,2)	5 (8,3) / 15 (9,4)	4 (6,7) / 3 (1,9)	8 (13,3) / 17 (10,7)	14 (23,3) / 40 (25,2)	11 (18,3) / 28 (17,6)	5 (8,3) / 5 (3,1)	8 (13,3) / 24 (15,3)	22 (36,7) / 56 (35,7)	15 (25,0) / 33 (21,0)	5 (8,3) / 11 (7,0)
p	0,593	0,980	0,801	0,073	0,584	0,780	0,901	0,229	0,717	0,891	0,527	0,237
аллель С / GG абс. (%)	12 (6,7) / 3 (7,3)	25 (14,0) / 4 (9,8)	17 (9,6) / 3 (7,3)	7 (3,9) / 0 (0,0)	20 (11,2) / 5 (12,2)	43 (24,2) / 11 (26,8)	32 (18,0) / 7 (17,1)	10 (5,6) / 0 (0,0)	27 (15,3) / 5 (12,5)	66 (37,3) / 12 (30,0)	41 (23,2) / 7 (17,5)	15 (8,5) / 1 (2,5)
p	0,895	0,465	0,654	0,197	0,862	0,720	0,891	0,286	0,657	0,386	0,436	0,139
Общее количество больных ИМ, выписанных из стационара (n=438)												
СС / аллель G абс. (%)	11 (8,2) / 17 (5,6)	21 (15,7) / 41 (13,5)	14 (10,4) / 32 (10,5)	4 (3,0) / 6 (2,0)	17 (12,7) / 29 (9,5)	39 (29,1) / 73 (24,0)	28 (20,9) / 55 (18,1)	7 (5,2) / 8 (2,6)	20 (14,9) / 42 (14,1)	58 (43,3) / 103 (34,6)	41 (30,6) / 70 (23,5)	11 (8,2) / 16 (5,3)
p	0,302	0,546	0,980	0,514	0,322	0,260	0,490	0,290	0,820	0,083	0,118	0,378
аллель С / GG абс. (%)	25 (6,9) / 3 (3,8)	58 (16,1) / 4 (5,1)	43 (11,9) / 3 (3,8)	9 (2,5) / 1 (1,3)	41 (11,4) / 5 (6,4)	98 (27,2) / 14 (17,9)	74 (20,6) / 9 (11,5)	14 (3,9) / 1 (1,3)	59 (16,6) / 7 (9,2)	143 (40,2) / 18 (23,7)	97 (27,2) / 14 (18,4)	23 (6,4) / 4 (5,3)
p	0,311	0,012	0,034	0,502	0,194	0,089	0,065	0,455	0,139	0,007	0,110	0,923

* - нет расчетов.

Заключение

Таким образом, ЧКВ проведенное в стационаре больным ИМ нивелирует влияние генетического предиктора в пределах относительного непродолжительного двухлетнего периода наблюдения. В то время как у больных, не получавших интервенционную реперфузию, по всей видимости, наблюдалось более «естественное» течение ИБС. У носителей аллеля риска *C rs1333049* после выписки из стационара отмечена более высокая частота случаев дестабилизации ИБС и необходимости проведения реваскуляризации по сравнению с носителями генотипа GG. Основным результатом нашей работы является определение генетических маркеров неблагоприятных исходов ИМ, которые могут быть использованы для оптимизации первичной и вторичной профилактики этого заболевания. Интеграция геномной информации в уже имеющиеся шкалы оценки риска и разработка клиничко-генетических рискометров может быть одним из наиболее перспективных направлений дополнительных исследований в определении индивидуального риска исходов инфаркта миокарда.

Список литературы

1. Локус 9p21.3 – генетический предиктор тяжести атеросклероза коронарных артерий / П. А. Шестерня, А. С. Сергеева, В. А. Шульман [и др.] // Атеросклероз и дислипидемии. – 2013. – Т.11, №2. – С. 46-51.
2. Проверка взаимосвязи между девятью однонуклеотидными полиморфизмами и инфарктом миокарда на сибирской популяции / В. Н. Максимов, И. В. Куликов, П. С. Орлов [и др.] // Вестник РАМН. – 2012. – № 5. – С. 24–29.
3. Статус метилирования гена CDNK2A (P16 INK4A и P14 ARF) в тканях сонных артерий у больных атеросклерозом / М. С. Назаренко, А. В. Марков, В. П. Пузырев [и др.] // Медицинская генетика. – 2012. – Т.11, №2. – С. 34-37.
4. A common variant at chromosome 9p21.3 is associated with age of onset of coronary artery disease but not subsequent mortality / K. L. Ellis, A. P. Pilbrow, C. M. Frampton [et al.] // Circ. Cardiovasc. Genet. – 2010. – Vol. 3, № 3. – P. 286–293.
5. A variant at chromosome 9p21 is associated with recurrent myocardial infarction and cardiac death after acute coronary syndrome: the GRACE genetics study / I. Buyschaert, K. F. Carruthers, D. R. Dunbar [et al.] // Eur. Heart J. – 2010. – Vol. 31. – P. 1132–1141.
6. Association between the chromosome 9p21 locus and angiographic coronary artery disease burden. A collaborative meta-analysis / K. Chan, R. S. Patel, P. Newcombe [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2013. – Vol. 61, № 4. – P. 957–970.

7. Genetics of coronary artery disease: genome-wide association studies and beyond / B. P. Prins, V. Lagou, F. W. Asselbergs [et al.] // *Atherosclerosis*. – 2012. – Vol. 225, № 1. – P. 1–10.
8. Influence of 9p21.3 genetic variants on clinical and angiographic outcomes in early-onset myocardial infarction / D. Adrissino, C. Berzuini, P. A. Merlini [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2011. – Vol. 58, № 4. – P. 426–434.
9. Large-scale association analysis identifies new risk loci for coronary artery disease / P. Deloukas, S. Kanoni, C. Willenborg [et al.] // *Nature Genetics*. – 2012. – Vol. 45, № 1. – P. 25–33.
10. The chromosome 9p21 risk locus is associated with angiographic and progression of coronary artery disease / R. S. Patel, S. Su, I. J. Neeland [et al.] // *Eur. Heart J.* – 2010. – Vol. 31. – P. 3017–3023.

Рецензенты:

Матюшин Г.В., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой кардиологии и функциональной диагностики ИПО ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В.Ф.Войно-Ясенецкого» Минздрава РФ, г.Красноярск.

Харьков Е.И., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней и терапии ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В.Ф.Войно-Ясенецкого» Минздрава РФ, г.Красноярск.