

## ВЗАИМОСВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ NO-СИНТЕАЗЫ И $\beta 3$ -СУБЪЕДИНИЦЫ ТРОМБОЦИТАРНОГО РЕЦЕПТОРА ФИБРИНОГЕНА С ТЕЧЕНИЕМ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА У БОЛЬНЫХ ПОЖИЛОГО И СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА

### GENE POLYMORPHISM INTERACTION OF ENDOTHELIAL NO-SYNTHETISE AND $\beta 3$ -SUBUNIT OF FIBRINOGEN THROMBOCYTIC RECEPTOR IN COURSE OF ISCHEMIC HEART DISEASE IN ELDERLY AND OLD PATIENTS

Б. В. Помогайбо, А. Е. Филиппов

B. V. Pomogaybo, A. E. Filippov

*Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия  
Military Medical Academy named after S.M.Kirov, St.-Petersburg, Russia*

Контакт: Помогайбо Борис Вениаминович. gaibo@rambler.ru

Варианты полиморфизма отдельных генотипов генов эндотелиальной оксида азота синтетазы и  $\beta 3$ -субъединицы тромбоцитарного рецептора фибриногена определены у 110 больных ИБС старше 60 лет, 40 из которых имели в анамнезе крупноочаговый инфаркт миокарда. Показано, что при таких сочетаниях аллелей, как 4b/4b гена eсNOS и a1/a1 гена ITGB3, имеют место изменения показателей структурно-функционального состояния сердца и отдельных метаболических показателей, а течение ИБС протекает с меньшим риском осложнений.

**Ключевые слова:** полиморфизм, старческий возраст, инфаркт миокарда.

**И**шемиическая болезнь сердца (ИБС) — ведущая причина временной нетрудоспособности, инвалидности и смертности взрослого населения России. Основной причиной, приводящей к ИБС, является атеросклеротическое повреждение коронарных артерий. Среди факторов, определяющих развитие и прогрессирование атеросклероза, выделяется наследственная предрасположенность. По данным литературы до 40% случаев ИБС носит семейный характер [9]. Наибольшее внимание уделяется генам, кодирующим состояние липидного обмена, эндотелиальной функции, ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, генам, ответственным за коагуляционный каскад — основных звеньев патогенеза ИБС.

В современных генетических исследованиях наибольшее распространение ИБС получил метод ассоциаций — выявление генетических маркеров, ассоциированных с развитием заболевания. Также этот подход стал основным к изучению генетической предрасположенности к неблагоприятному течению ИБС [6, 9]. Такие ассоциативные исследования дают возможность установить вовлеченность в патогенез ИБС конкретных генов-кандидатов и на этой основе выявить группы лиц с более высоким генетическим риском развития ИБС [2]. Наиболее изученными являются гены, кодирующие состояние липидного обмена, функцию эндотелия и коагуляционный каскад, — основных патогенетических механизмов развития атеросклероза и ИБС.

Как известно, ИБС чаще проявляет себя в группе пожилых пациентов. Однако, генетические исследования в такой возрастной группе

проводятся не так часто по причине сложностей с набором таких пациентов, учитывая показатели средней продолжительности жизни.

**Цель исследования:** изучить взаимосвязь показателей структурно-функционального состояния сердечно-сосудистой системы, метаболизма, уровня отдельных провоспалительных и противовоспалительных цитокинов у больных ИБС пожилого, старческого возраста и долгожителей от полиморфизма генов  $\beta 3$ -субъединицы тромбоцитарного рецептора фибриногена ITGB3, эндотелиальной оксида азота синтетазы eсNOS и гена липопротеинлипазы LPL.

**Материалы и методы исследования.** Обследованы 110 пациентов с ИБС, находившихся на стационарном обследовании и лечении на клинической базе кафедры военно-морской и госпитальной терапии Военно-медицинской академии — в Городской клинической больнице № 46 Святой Евгении (Лечебно-диагностический, реабилитационный и научный центр для жителей блокадного Ленинграда), г. Санкт-Петербург. Средний возраст составил 83 года. Распределение больных по возрасту оказалось следующим: к категории пожилых (от 61 до 74 лет — для мужчин, от 56 до 74 лет — для женщин) отнесено 12 больных (11%), в группу пациентов старческого возраста (от 75 до 90 лет для обоих полов) вошли 74 человека (67%), в категории долгожителей (старше 90 лет) оказалось 24 больных (22%). ИБС II функционального класса (Фк) имела место у 16 больных (14,5%), III функционального класса — у 94 больных (85,5%). 40 больных имели в анамнезе документально подтвержденный крупноочаговый инфаркт миокарда. Длительность течения ИБС в среднем

составила  $18,2 \pm 1,3$  года. Таким образом, большая часть этих больных перенесли сердечно-сосудистую катастрофу в возрасте старше 65 лет.

Методы исследования включали анализ жалоб, врачебный осмотр, регистрацию ЭКГ, проведение рентгенографии органов грудной клетки, УЗИ органов брюшной полости и почек, ЭХО-КГ, суточного мониторирования ЭКГ по Холтеру, общеклинические анализы крови и мочи, биохимическое исследование крови (рутинная биохимическая панель, определение общего холестерина и триглицеридов).

В качестве специального метода использовалось определение полиморфизмов генов эндотелиальной оксида азота синтазы,  $\beta 3$  субъединицы тромбозитарного рецептора фибриногена и липопротеинлипазы, осуществлявшееся с помощью полимеразной цепной реакции и амплификации фрагментов ДНК стандартными для исследуемых полиморфизмов праймерами.

Для статистической обработки показателей была создана матрица данных с использованием электронной таблицы «Excel». Математическая обработка результатов исследования проводилась с помощью пакета прикладных статистических программ CCS версии 7.0 «Statistica for Windows».

Относительный шанс (ОШ) наступления события вычисляли по методу Woolf по формуле:  $ОШ = (a/b)/(c/d)$ .

Относительный риск (ОР) развития ИМ вычисляли по формуле:

$$ОР = (a/(a+b))/(c/(c+d)),$$

где a, b, c, d – те же показатели, что и в расчете ОШ.  $95\% CI = \ln ОР \pm 1,96 \times ОР$ .

**Результаты исследования.** Как видно из табл. 1, отягощенная наследственность по ИБС (сердечно-сосудистая смерть одного из родственников в возрасте моложе 55 лет для мужчин, моложе 65 лет – для женщин) выявлялась в 33% случаев. 96% больных имели сопутствующую артериальную гипертензию (АГ). Такие факторы риска как курение, гиперхолестеринемия и сахарный диабет встречались в 11, 66 и 18% случаев соответственно. Абдоминальное ожирение (индекс Кетле  $>25$  кг/м<sup>2</sup>) наблюдалось в 65% случаев. 84% больных имели хроническую сердечную недостаточность (ХСН) I–IIА ФК. У 18% больных в анамнезе отмечалась ОНМК.

На первом этапе исследования была проанализирована частота выявления отдельных вариантов исследуемых генов в группе больных ИБС пожилого и старческого возраста в общей выборке. Наиболее часто встречались гомозиготные варианты: 4b/4b гена eсNOS – 60%, asn291asn гена LPL – 94%, a1/a1 гена ITGB3 – 62%. Реже всего встречались: 5% – 4a/4a, 6% – asn291ser; 5% – a2/a2. Гетерозиготные варианты a1/a1 и 4a/4b занимали промежуточное положение. Обращала внимание чрезвычайно высокая частота варианта 4b/4b в исследуемой группе больных ИБС, которая была в 2 раза выше по сравнению с популяционными данными [1, 2].

Таблица 1

*Распространенность факторов риска ИБС у больных ИБС пожилого и старческого возраста*

Признак	Число пациентов	
	абсолютное	в %
Отягощенный по ИБС анамнез	36	33
Артериальная гипертензия	102	96
Курение	12	11
Гиперхолестеринемия (ОХС $>5,0$ ммоль/мл)	70	64
Сопутствующий сахарный диабет	20	18
Ожирение (ИМТ $>25$ кг/м <sup>2</sup> )	71	65
Малоподвижный образ жизни	83	76

Анализ сочетаний полиморфизмов изучаемых генов выявил, что наиболее часто встречались следующие варианты: 4b/4b, asn291asn, a1/a1 – 33%; 4b/4b, asn291asn, a1/a2 – 19%; 4a/4b, asn291asn, a1/a1 – 25%. Самым редким вариантом полиморфизма являлось сочетание аллелей a2/a2 (5% больных). При анализе полиморфизмов отмеченных генов в зависимости от возраста и пола достоверных различий получено не было.

Следующим этапом работы был анализ показателей структурно-функционального состояния сердца в зависимости от вариантов полиморфизма генов. В связи с малым количеством гомозиготных носителей аллеля 4a гена эндо-

телиальной оксида азота синтазы и аллеля a2 гена тромбоцитарного рецептора фибриногена для удобства сравнения параметров эхокардиографического исследования проводилось между пациентами, являющимися гомозиготными носителями аллеля 4b/4b и группой больных, имеющих в генотипе аллель 4a в гомозиготном и гетерозиготном состоянии, а для гена тромбоцитарного рецептора фибриногена – между группой больных с гомозиготным вариантом a1/a1 и носителями аллеля a2 в гомозиготном и гетерозиготном состоянии.

По большинству показателей ЭХОКГ различий выявлено не было. Но в то же время об-

рашал на себя внимание тот факт, что такой показатель как фракция выброса для гомозигот 4b/4b был выше ( $62,0 \pm 1,45$  и  $59,08 \pm 1,67$  соответственно,  $p < 0,05$ ), а отношение скоростей максимальных потоков (E/A) – ниже ( $0,62 \pm 0,04$  и  $0,69 \pm 0,052$ ,  $p < 0,05$ ).

При анализе показателей суточного мониторирования ЭКГ по Холтеру в группе больных ИБС с вариантом аллеля 4a по сравнению с группой больных с 4b/4b полиморфизмом отмечалось достоверно большее число наджелудочковых экстрасистол за сутки ( $124,1 \pm 27,85$  и  $56,7 \pm 12,72$ ,  $p < 0,05$ ) и увеличение количества суточных ( $41,8 \pm 16,96$  против  $19,53 \pm 6,44$ ,  $p < 0,05$ ) и дневных ( $29,6 \pm 8,66$  и  $11,6 \pm 5,04$ ,  $p < 0,05$ ) желудочковых экстрасистол. Носители аллеля a2 характеризовались значимо большим количеством пауз более 3 секунд ( $0,68 \pm 0,41$  и  $0,29 \pm 0,09$ ,  $p < 0,05$ ). Указанные различия в показателях структурно-функционального состояния сердца могут подчеркивать неблагоприятный характер носительства аллелей a2 и 4a.

При анализе рутинной биохимической панели было выявлено, что более низкий уровень триглицеридов ( $1,07$  ммоль/л) был в группе больных с генотипом 4b/4b ( $p < 0,05$ ). По другим показателям статистически значимых различий не определено.

Для оценки возможной взаимосвязи полиморфизмов изучаемых генов с сердечно-сосудистыми катастрофами мы разделили больных на 2 подгруппы. Первая подгруппа составила 36 человек с полиморфизмами, которые по результатам нашего исследования и данным литературы ассоциируются с благополучным

течением ИБС (варианты 4b/4b и a1/a1 отмеченных генов). Во вторую подгруппу вошли оставшиеся больные. Исследуемые подгруппы были сравнимы по возрасту (средний возраст составил 82 и 83 года соответственно,  $p > 0,05$ ), полу, а также по частоте выявления у них таких факторов риска как АГ, ИМТ и сопутствующий сахарный диабет.

При анализе частоты сердечно-сосудистых катастроф в анамнезе было выявлено, что при носительстве вариантов аллелей 4a гена eсNOS и a1 гена ITGB3 частота первичного ИМ была значимо выше, чем в группе с вариантом 4b/4b и a1/a1, и составила 42% против 25% ( $p < 0,05$ ). Частота повторного ИМ в анамнезе в группе носителей 4a аллеля и a1 аллеля также достоверно превышала показатель группы носителей гомозиготного сочетания 4b/4b a1/a1 (25% против 11%,  $p < 0,05$ ). Случаи ОНМК в исследуемых подгруппах выявлены в 11% ( $p > 0,05$ ).

Для более детальной оценки значимости выявленных различий в сравниваемых группах больных ИБС мы проанализировали отношение шансов (ОШ) и относительный риск (ОР) (с 95% доверительным интервалом) развития сердечно-сосудистых катастроф в исследуемых подгруппах больных. Полученные данные представлены в табл. 2.

Из полученных результатов следует, что носительство аллелей генов eсNOS – 4a и ITGB3 – a1 увеличивало относительный риск развития ИМ 1,68 раза (ОР=1,68, 95% ДИ [0,89; 3,13]) и повторного ИМ в 2,57 раза (ОР=2,57; 95% ДИ [0,32; 20,59]) по сравнению с группой носителей варианта полиморфизма – 4b/4b и a1/a1.

Таблица 2

*Сердечно-сосудистые события в анамнезе в зависимости от носительства аллельных вариантов генов eсNOS и ITGB3 у больных ИБС старческого возраста и долгожителей*

Показатель	Носители других вариантов (n=74)	Носители вариантов 4b/4b, a1/a1 (n=36)	Достоверность различий, p
Случаи первичного ИМ, Pt, %	42	25	p < 0,05
Случаи повторного ИМ, Pt, %	11	3	p < 0,05
Случаи ОНМК, Pt, %	11	11	p > 0,05

Таким образом, носительство 4b/4b и a1/a1 увеличивало шансы дожития до предельного возраста без сердечно-сосудистых катастроф. Полученные данные были достоверны ( $p < 0,05$ ).

**Обсуждение результатов.** По данным Л. О. Минушкиной и соавт., частота выявления полиморфного варианта гена эндотелиальной оксида азота синтетазы 4b/4b в популяции Москвы составляет 27% [2, 4]. В популяции

Санкт-Петербурга этот полиморфизм встречается с частотой 26%. [3]. В нашей работе определена чрезвычайно высокая частота аллельного варианта 4b/4b (60%), которая оказалась более чем в 2 раза выше представленных популяционных данных по Москве и Санкт-Петербургу. У них же отмечались более высокие показатели систолической и диастолической функции левого желудочка сердца и значимо меньшее количество наджелудочковых

и желудочковых экстрасистол по данным суточного мониторирования ЭКГ. Перечисленные факты позволяют думать, что увеличение частоты варианта 4b/4b в группе больных ИБС старше 60 лет и долгожителей может быть связано с протективной ролью указанного полиморфизма, способствующего дожитию до предельного возраста.

Частота выявления аллеля a2 β3 субъединицы тромбоцитарного рецептора фибриногена по различным данным варьирует в пределах 8–15% [3, 7]. В 1995 г. была впервые выявлена ассоциация между носительством аллельного варианта a2/a2 и распространением острых коронарных событий в возрасте до 60 лет [8]. Было установлено, что частота аллеля a2 в группе пациентов с ИМ и нестабильной стенокардией в 2,1 раза выше, чем в контрольной группе [10]. Goldschmidt-Clermont и соавт. в 1999 г. провели исследование, в результате которого подтвердили гипотезу о большем распространении аллеля a2 среди родственников больных ИБС и показали предрасположенность носителей аллеля a2 к ускоренному атерогенезу и высокому риску тромбоэмболических осложнений ИБС [5].

По данным нашего исследования количество пауз более 3 секунд по данным суточного мониторирования ЭКГ при носительстве аллеля a2 встречалось значимо чаще по сравнению с носителями варианта полиморфизма a1/a1. Сочетание данного варианта полиморфизма с аллельным вариантом 4a ассоциировалось с увеличением относительного риска развития первичного и повторного ИМ в 1,7 раза и в 2,6 раза соответственно против носителей сочетания 4b/4b и a1/a1, что согласуется с отмеченными выше данными.

#### Выводы.

1. Носительство аллеля гена эндотелиальной оксида азота синтетазы 4a ассоциируется с достоверно большим количеством желудочковых и наджелудочковых экстрасистол по данным суточного мониторирования ЭКГ, меньшим значением фракции выброса левого желудочка и нарушением диастолической функции (соотношение максимальных скоростей потоков наполнения E/A). У них же отмечается значимо высокий уровень триглицеридов. Для носителей аллеля a2 гена 3 субъединицы тромбоцитарного рецептора фибриногена выявлена взаимосвязь с большим количеством пауз более 3 сек по данным суточного мониторирования ЭКГ.

2. У больных ИБС пожилого, старческого возраста и долгожителей сочетание генотипов 4b/4b гена эндотелиальной оксида азота синтетазы и a1/a1 гена β3 субъединицы тромбоцитарного рецептора фибриногена характеризуется более благоприятным течением ИБС. Носительство альтернативных аллельных вариантов (4a аллель и a1 аллель) ассоциируется

с увеличением относительного риска инфаркта миокарда в 1,68 раза и повторного инфаркта миокарда в 2,57 раза.

#### Литература

1. Данковцева Е. Н. Ассоциация генов факторов гемостаза с ранним развитием ишемической болезни сердца и манифестацией инфаркта миокарда в молодом возрасте / Е. Н. Данковцева, Д. А. Чудакова, Д. А. Зайцевиков и др. // Кардиология. — 2005. — № 12. — С. 17–23.
2. Минушкина Л. О. Полиморфизм гена эндотелиальной NO-синтетазы и гипертрофия миокарда у больных артериальной гипертензией / Л. О. Минушкина и др. // Кардиология. — 2002. — № 3. — С. 30–34.
3. Пчелина С. Н. Генетические детерминанты системы гемостаза и повышенный риск инфаркта миокарда в молодом возрасте / С. Н. Пчелина и др. // Кардиология. — 2007. — № 7. — С. 47–53.
4. Романова Т. А. Факторы риска и тяжесть ИБС жителей Якутии: связь полиморфизмом генов-кандидатов / Т. А. Романова, Л. О. Минушкина, Б. А. Сидоренко // Кардиология. — 2003. — № 11. — С. 40.
5. Goldschmidt-Clermont P. J. Higher prevalence of GPIIIa P1(A2) polymorphism in siblings of patients with premature coronary heart disease / P. J. Goldschmidt-Clermont, L. D. Coleman, Y. M. Pham et al. // Arch. Path. Lab. Med. — 1999. — Vol. 123. — P. 1223–1229.
6. Ishihara S. Association of a polymorphism of the endothelial constitutive nitric oxide synthase gene with myocardial infarction in the Japanese population / S. Ishihara et al. // American Journal of Cardiology. — 1998. — Vol. 81, № 1. — P. 83–86.
7. McBride M. W. Functional genomics in hypertension / M. W. McBride, D. Graham, C. Delles et al. // Curr. Opin. Nephrol. Hypertens. — 2006. — Vol. 15, № 2. — P. 145–151.
8. Pastinen T. Array-based multiplex analysis of candidate genes reveals two independent and additive genetic risk factors for myocardial infarction in the Finnish population / T. Pastinen, M. Perola, P. Niini et al. // Human Molecular Genetics. — 1998. — Vol. 7. — P. 1453–1462.
9. Topol E. J. Genetic susceptibility to myocardial infarction and coronary artery disease / E. J. Topol, J. Smith, E. F. Plow, Q. K. Wang // Human Molecular Genetics. — 2006. — Vol. 15. — P. 117–123.
10. Weiss E. J. A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis / E. J. Weiss, P. F. Bray, M. Tayback et al. // New England Journal of Medicine. — 1996. — Vol. 334. — P. 1090–1094.

Материал поступил в редакцию 01.03.2011 г.