

Прогностическая значимость носительства аллельных вариантов генов, контролирующих систему гемостаза, и их сочетания с традиционными факторами риска в раннем развитии ишемической болезни сердца

Е. Ю. Андреевко^{1*}, Л. М. Самоходская², А. В. Балацкий², П. И. Макаревич², С. А. Бойцов¹

¹ Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины; ² Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова. Москва, Россия

Prognostic role of hemostasis-regulating genetic factors and their interaction with conventional risk factors at the early stages of coronary heart disease development

E.Yu. Andreenko^{1*}, L. M. Samokhodskaya², A. V. Balatskiy², P. I. Makarevich², S. A. Boytsov¹

¹State Research Centre for Preventive Medicine; ²M. V. Lomonosov Moscow State University. Moscow, Russia

Цель. Определить прогностическую значимость носительства аллельных вариантов генов факторов свертывания крови и их сочетания с негенетическими факторами риска (ФР): курение, артериальная гипертония (АГ), гиперхолестеринемия (ГХС), ожирение (Ож), в раннем развитии ишемической болезни сердца (ИБС), в т. ч. инфаркта миокарда (ИМ) у больных ИБС.

Материал и методы. Обследованы 977 мужчин в возрасте 20–55 лет: 375 больных ИБС, в т. ч.: 186 – без ИМ, 189 – с ИМ в анамнезе и 602 человека без сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). Проведен анализ полиморфизма генов тромбоцитарных рецепторов гликопротеина Ia (C807T) и гликопротеина IIIa (PLA1/PLA2); полиморфизма генов, кодирующих белки свертывающей и противосвертывающей систем крови: полиморфизм R353Q VII фактора, V34L XIII фактора свертывания крови и инсерционно-делеционный полиморфизм 4G/5G ингибитора активатора плазминогена I типа, а также их сочетания с традиционными ФР: курение, АГ, ГХС, Ож. Для определения аллельных вариантов исследуемых генов использовали метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) с анализом длины рестриктивных фрагментов, аллельспецифичной ПЦР и метод ПЦР в режиме «реального времени».

Результаты. С повышенным риском формирования ИБС ассоциировался генотип TT гена GPIa ($p=0,0001$) (OR=10,2). С уменьшением риска развития ИБС ассоциировались генотип LL FXIII ($p=0,03$) (OR=0,48) и генотип QQ FVII свертывания крови ($p=0,01$) (OR=0,12), а сочетание L-аллеля гена FXIII с Q аллелем FVII ассоциировалось с уменьшением риска развития ИМ как осложнения ИБС ($p=0,03$) (OR=0,33). Анализ сочетаний генотипов с традиционными ФР показал, что PLA2/PLA2 генотип GPIIa у больных с ГХС повышает риск развития ИМ у больных ИБС ($p=0,01$) (OR=6,0).

Заключение. В алгоритм генетической диагностики предрасположенности к раннему развитию ИБС могут быть включены: полиморфизм C807T гена гликопротеина Ia, PLA1/PLA2 гена гликопротеина IIIa, V34L гена А-субъединицы фактора XIII свертывания крови и R304Q гена фактора VII свертывания крови. В исследовании не нашло подтверждения негативное влияние полиморфизма 4G/5G гена PAI-1 на развитие ИБС и ИМ.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда, полиморфизм генов, гемостаз, гликопротеин Ia, гликопротеин IIIa, ингибитор активатора плазминогена I типа, фактор XIII, фактор VII.

Aim. To investigate the prognostic role of selected single nucleotide polymorphisms in hemostasis-regulating genes

© Коллектив авторов, 2011
e-mail: elena.andreenko@gmail.com

[¹ Андреевко Е. Ю. (*контактное лицо) – научный сотрудник отдела клинической кардиологии и молекулярной генетики, ² Самоходская Л. М. – ст. научный сотрудник лаборатории генов и клеточных технологий факультета фундаментальной медицины, ² Балацкий А. В. – аспирант кафедры медицинской и биологической химии факультета фундаментальной медицины, ² Макаревич П. И. – аспирант той же кафедры, ¹ Бойцов С. А. – директор].

and to clarify their interaction with conventional risk factors, RF (smoking, arterial hypertension (AH), hypercholesterolemia (HCH), obesity (O)) at the early stages of coronary heart disease (CHD) development, with or without subsequent myocardial infarction (MI).

Material and methods. The study included 977 men aged 20–55 years: 375 CHD patients (189 and 186 with or without previous MI, respectively) and 602 individuals without cardiovascular disease (CVD). Exclusion criteria were diabetes mellitus and impaired glucose tolerance. The authors analysed the polymorphisms of thrombocyte receptor genes GPIa (C807T) and GPIIa (PLA1/PLA2); coagulation and fibrinolytic protein genes for factor VII (R353Q) and factor XIII (V34L); and the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) 4G/5G polymorphism. The association of these polymorphisms with conventional RF (smoking, AH, HCH, and O) was also investigated. To identify genetic variations, a restriction fragment length polymorphism assay, allele-specific assay, and fluorescence primer-probe assay were used.

Results. Increased CHD risk was associated with the TT genotype of GPIa ($p=0,0001$; OR=10,2). The LL genotype of FXIII ($p=0,03$; OR=0,48) and QQ genotype of FVII ($p=0,01$; OR=0,12) were linked to reduced CHD risk. The combination of FXIII L allele and FVII Q allele was associated with a lower MI risk in CHD patients ($p=0,03$; OR=0,33). In participants with HCH, the PLA2/PLA2 genotype of GPIIa was linked to increased MI risk for CHD patients ($p=0,01$; OR=6,0).

Conclusion. The algorithm for predicting the genetic CHD risk may incorporate the assessment of the genetic polymorphism of GPIa (C807T), GPIIa (PLA1/PLA2), factor XIII (V34L), and factor VII (R353Q). The study results did not confirm the negative effect of the PAI-1 gene 4G/5G polymorphism on CHD risk.

Key words: Coronary heart disease, myocardial infarction, genetic polymorphism, hemostasis, glycoprotein Ia, glycoprotein IIIa, plasminogen activator inhibitor-1, factor XIII, factor VII.

Патогенез ишемической болезни сердца (ИБС) и инфаркта миокарда (ИМ) рассматривается как комплекс процессов, в которых атерогенез и тромбоз, возникающий на поверхности атеросклеротической бляшки (АБ), неразрывно связаны между собой [1]. Роль тромбообразования в патогенезе ИБС несомненна, а генетические изменения, влияющие на продукцию, активность и метаболизм различных компонентов системы гемостаза, могут нарушать физиологический баланс между свертывающей и противосвертывающей системами и способствовать развитию атеротромбоза. В настоящее время существуют разные шкалы оценки риска сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), позволяющие оценить индивидуальный риск. Все эти шкалы опираются на традиционные факторы риска (ФР), такие, как возраст, пол, уровень липидов в крови, артериальное давление (АД), толерантность к глюкозе, ожирение (Ож), курение [2]. Однако ни одна из существующих систем не использует молекулярно-генетические маркеры для оценки индивидуального риска [3]. Включение генов-кандидатов в алгоритмы оценки риска ИБС могут улучшить их диагностическую точность [4]. Все известные полиморфизмы генов системы гемостаза обладают различным влиянием на каждый из белков этой системы и могут как повышать риск развития ИБС, так и обладать протективным действием. Описано множество полиморфизмов, однако данные о влиянии большинства из них на развитие ИБС остаются противоречивыми [4]. Противоречивость данных может быть обусловлена различными факторами. Для оценки значимости полиморфизма генов исследователи использовали разные клинические характеристики обследованных и критерии отбора пациентов, а также контрольных групп (ГК): частота распространения аллелей при

ИБС, частота повторных ИМ, риск тромбозов после стентирования коронарных артерий (КА) и т.д. Оценка разных клинических исходов не позволяет сравнивать результаты исследований, т.к. патофизиологические основы этих состояний имеют существенные различия. Накапливается все больше данных о том, что частота, а также патогенность мутаций и полиморфизмов в разных популяциях могут отличаться. Другая проблема заключается в низкой распространенности некоторых полиморфизмов в общей популяции, поэтому для достижения статистической значимости полученных данных требуется обследовать большие группы (гр.) больных [5–7]. В настоящее время много внимания уделяется вопросам взаимодействия генетических факторов с традиционными ФР. Опубликован ряд работ, в которых было доказано потенцирующее взаимодействие курения и наследственных факторов для многих популяций Европы, Америки и Азии [8,9]. Обзор литературы по патогенезу ИБС, а также результаты предшествующих работ зарубежных авторов определили выбор в пользу изучения полиморфизма генов тромбоцитарных рецепторов гликопротеина Ia (C807T) и гликопротеина IIIa (PLA1/PLA2); полиморфизма генов, кодирующих белки свертывающей и противосвертывающей систем крови: полиморфизм R353Q VII фактора, V34L XIII фактора свертывания крови и инсерционно-делеционный полиморфизм 4G/5G ингибитора активатора плазминогена I типа.

Цель исследования: определить прогностическую значимость носительства аллельных вариантов генов факторов свертывания крови и их сочетание с негенетическими ФР (курение, артериальная гипертензия (АГ), гиперхолестеринемия (ГХС), Ож) в раннем развитии ИБС, в т.ч. ИМ у больных ИБС.

Характеристика включенных в исследование больных ИБС без ИМ в анамнезе и больных ИБС, перенесших ИМ

Показатель	Больные ИБС без ИМ в анамнезе (n=186)	Больные ИБС, перенесшие ИМ (n=189)	p
Средний возраст начала заболевания	47,1±7,1	48,6±7,2	0,7
Наличие АГ	68,7% (n=130)	61,3% (n=114)	0,5
Курение	42,4% (n=79)	53,4% (n=101)	0,04
ГХС	37,1% (n=69)	35,4% (n=67)	0,6
Ож	34,4% (n=64)	30,6% (n=58)	0,3

Примечание: данные по возрасту представлены как среднее ± стандартное отклонение, остальные данные – в%.

Материал и методы

В исследование включены пациенты мужского пола с клинически и инструментально подтвержденными диагнозами ИБС и ИМ; возраст развития ИБС и ИМ < 55 лет. Критериями исключения были нарушение толерантности к глюкозе (НТГ) и СД. Диагноз ИБС устанавливали на основании инструментальных и лабораторных данных: положительная проба на ИБС по результатам нагрузочного теста; перенесенный ИМ, подтвержденный отклонением от нормы биохимических маркеров – МВ-креатинфосфокиназы (КФК), сердечных тропонинов (Тр) Т и I, типичными изменениями на электрокардиограмме (ЭКГ); коронарной реваскуляризации в анамнезе. АГ диагностировали на основании следующих критериев: систолическое АД (САД) > 140 мм рт.ст. или диастолическое АД (ДАД) > 90 мм рт.ст. при отсутствии антигипертензивной терапии (АГТ) и с длительностью анамнеза АГ > 1 г. Ож выявляли на основании показателя индекса массы тела (ИМТ) ≥ 30 кг/м²; ГХС – на основании повышения общего холестерина (ОХС) $\geq 5,3$ ммоль/л. В исследование были включены 977 мужчин в возрасте 20–55 лет. Для решения поставленных задач были сформированы следующие гр. обследуемых: 375 больных ИБС мужского пола (средний возраст 47,4±7,1 года) в т.ч.: 186 – без ИМ в анамнезе, 189 – с ИМ в анамнезе; 483 человека – ГК добровольных доноров крови мужского пола без клинических проявлений ИБС (средний возраст 46,5±6,5 лет); 119 человек – ГК с доказанным отсутствием ССЗ (средний возраст 45,7±8,4 лет). У всех лиц, составивших гр. добровольных доноров крови, отсутствовали клинические проявления ИБС. Согласно приказу Министерства здравоохранения Российской Федерации от 14 сентября 2001 г. № 364 «Об утверждении Порядка медицинского обследования донора крови и ее компонентов» АГ, ИБС и СД являются абсолютными противопоказаниями к донорству крови и ее компонентов [10]. Детального обследования для исключения скрытой формы ИБС в гр. доноров крови не проводилось, поэтому эта гр. принята за категорию условно здоровых в отношении ИБС и для проверки соответствия распределения аллелей исследуемых генов здоровых лиц была сформирована дополнительная ГК (n=119) с доказанным отсутствием ССЗ.

Методы идентификации полиморфизма генов. Дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК) выделяли из венозной крови методом фенол-хлороформной экстракции. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили на термоциклере Master Cycler Gradient фирмы Eppendorf с применением соответствующих праймеров и 10 мкл ПЦР-смеси фирмы «Интерлабсервис», содержащей 2 мМ MgCl₂, ДНК-полимеразу *Taq* и краситель

«Крезоловый красный». Визуализацию результатов осуществляли путем электрофореза в агарозном геле с бромистым этидием при 150 В и 290 мА. Размер фрагментов определяли с помощью стандарта размеров длин фрагментов ДНК фирмы Life Technologies. Полиморфность генов определяли с помощью метода ПДРФ (полиморфизм длин рестриктных фрагментов), аллельспецифичной ПЦР и методом ПЦР в режиме «реального времени» на амплификаторе Rotor-Gene-3000 фирмы Corbett Research.

Статистический анализ. Для количественных признаков в случае нормального распределения достоверность различий оценивали с помощью t – критерия Стьюдента. Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение. Статистическую значимость различий качественных признаков в сравниваемых гр. оценивали при помощи критерия χ^2 с поправкой Йейтса на непрерывность для таблиц 2x2. Уровень значимости был принят как p<0,05. Отношение шансов определяли как отношение вероятности того, что событие произойдет, к вероятности того, что событие не произойдет. Для статистической обработки использовали пакет программ Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение

Обследованы 977 человек, среди которых 375 больных ИБС. Средний возраст начала ИБС составил 47,4±7,1 лет (20–55 лет), 242 (64,5%) человека страдали АГ, 178 (47,4%) были курильщиками, у 134 (35,7%) была выявлена ГХС (ОХС $\geq 5,3$ ммоль/л), а у 113 (30,1%) – Ож (ИМТ ≥ 30), т.е. дополнительные ФР, которые могут вносить вклад в развитие осложнений ИБС. Проведен анализ диагностической и прогностической значимости определения генетической предрасположенности к развитию ИМ у больных ИБС. Характеристика гр. больных ИБС, перенесших ИМ и пациентов с ИБС без ИМ в анамнезе представлена в таблице 1.

Сравнение гр. больных ИБС, перенесших ИМ и без ИМ в анамнезе не выявило отличия по возрасту и наличию таких ФР как АГ, ГХС и Ож. Статистически значимые отличия были получены только по наличию курения. В группе пациентов, перенесших ИМ оказалось в 1,2 раза больше курящих больных (p=0,04). Исследование полиморфизма генов, оказывающих влияние на процессы коагуляции и фибринолиза проводили в значи-

Таблица 2

Распределение аллелей исследуемых генов в гр. здоровых лиц с доказанным отсутствием ИБС и среди условно здоровых в отношении ИБС доноров крови

Полиморфизм	Аллель	Частота в ГК здоровых%	Частота в ГК доноров крови%	p
C807T GPIa	C	77,78% (n=182)	72,41% (n=294)	0,4
	T	22,22% (n=52)	27,59% (n=112)	
PLA1/PLA2 GPIIa	PLA1	83,61% (n=199)	85,45% (n=646)	0,5
	PLA2	16,39% (n=39)	14,55% (n=110)	
4G/5G PAI-1	5G	48,31% (n=114)	44,53% (n=342)	0,6
	4G	51,71% (n=122)	55,47% (n=426)	
V34L FXIII	V	70,76% (n=167)	67,69% (n=398)	0,4
	L	29,24% (n=69)	32,31% (n=190)	
R353Q FVII	R	87,07% (n=202)	87,50% (n=462)	0,9
	Q	12,93% (n=30)	12,50% (n=66)	

тельной по численности выборке добровольных доноров крови без клинических проявлений ИБС. Для проверки соответствия распределения аллелей исследуемых генов здоровым лицам проведено сравнение распределения аллелей в гр. добровольных доноров крови с дополнительной ГК здоровых лиц (с доказанным отсутствием ССЗ). При сравнении гр. добровольных доноров крови без клинических проявлений ИБС с гр. здоровых лиц с доказанным отсутствием ССЗ, распределение аллелей исследуемых генов в этих гр. оказалось сопоставимым (таблица 2).

Полиморфизм C807T гена GPIa. Однонуклеотидная замена цитозина на тимин в позиции 807 (C807T) гена GPIa влияет на уровень экспрессии рецептора GPIa-IIa на тромбоцитах. Аллель T ассоциирован с повышенной плотностью рецепторов на тромбоцитах и повышенной адгезией тромбоцитов к коллагену I типа [11]. Частота аллеля T варьирует в различных популяциях от 30% до 54% и в европейской популяции в среднем составляет 39,4% [12]. По данным настоящего исследования частота аллеля C в ГК составила 72,4%, а T-аллеля – 27,6%, распространенность генотипов гена GPIa в ГК была следующей: CC – 46,3%, CT – 52,2%, генотипа TT – 1,5%. При сравнении частот аллелей

и генотипов в гр. больных с ранним развитием ИБС с ГК было выявлено статистически значимое отличие по частоте распространения генотипа TT. У больных ИБС в 9,8 раз чаще встречался генотип TT, в сравнении с ГК (p=0,0001). Риск развития ИБС в данном случае увеличивается в 10,2 раза. У больных ИМ генотип TT встречался в 8,5 раза чаще, чем в ГК, однако при сравнении гр. больных ИБС с ИМ и без ИМ не было найдено различий в частотах генотипа TT (рисунок 1).

Сравнение гр. больных ИБС, перенесших ИМ, и без ИМ в анамнезе, при наличии или отсутствии таких ФР как АГ, ГХС, курение и Ож не выявило статистически значимого различия в распределении генотипов. В ряде работ не было обнаружено различий в частоте распространения аллеля T и генотипа TT в гр. больных ИБС, ИМ и здоровых людей [13–15]. Также не было найдено отличий в комбинации с другими ФР ССЗ [16]. При этом другие авторы показали, что наличие аллеля T и генотипа TT является независимым ФР развития ИБС и ИМ [17,18]. В настоящем исследовании нашло подтверждение негативное влияние аллеля T и генотипа TT GPIa на развитие ранней ИБС. Влияния аллеля T гена GPIa на патогенез ИБС вероятнее всего обусловлено повышенным уровнем экспрессии

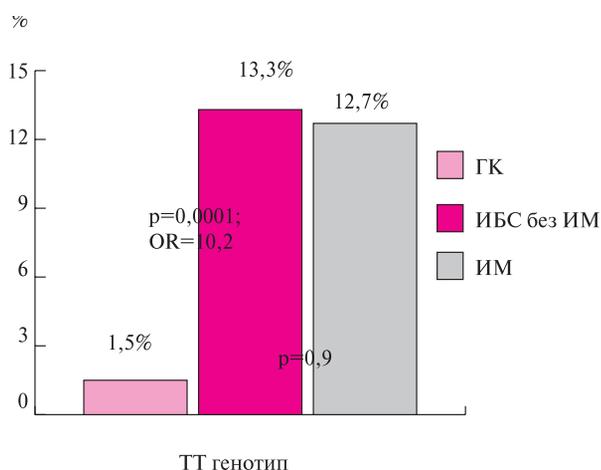


Рис. 1 Частота распространения генотипа TT GPIa в ГК, среди больных ИБС без ИМ и больных, перенесших ИМ.

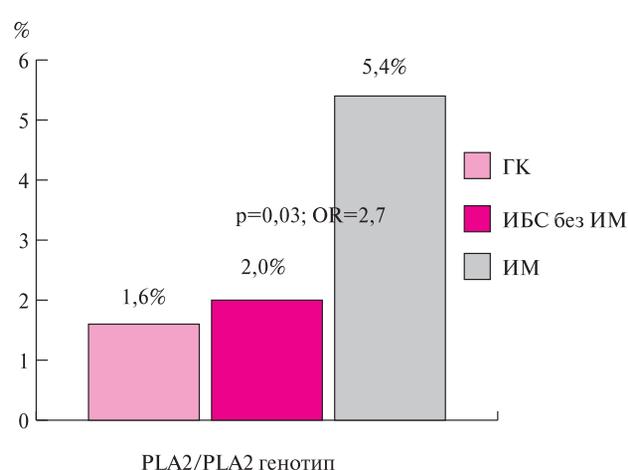


Рис. 2 Частота распространения PLA2/PLA2 генотипа GPIIa в ГК, среди больных ИБС без ИМ и больных, перенесших ИМ.

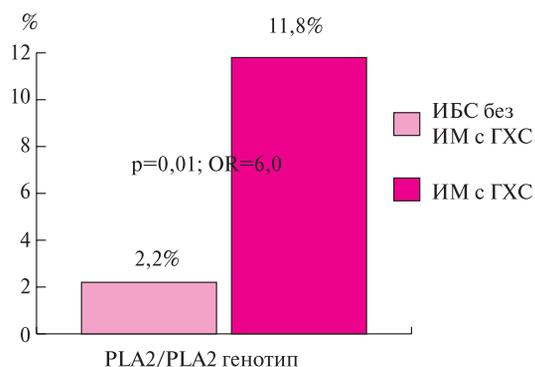


Рис. 3 Частота распространения PLA2/PLA2 генотипа GPIIb при наличии ГХС среди больных ИБС без ИМ и больных, перенесших ИМ.

рецептора на тромбоцитах [11]. Можно предположить, что у носителей аллеля Т это свойство тромбоцитов обуславливает повышенную склонность к развитию ИБС вследствие более высокого риска развития атеротромбоза. Вклад данного полиморфизма в патогенез ИМ также, скорее всего, связан с более высоким риском развития тромбоза на поверхности нестабильных АС у таких больных и более активным формированием «белого» тромбоцитарного тромба, вызывающего в конечном итоге окклюзию КА и развитие ИМ.

Полиморфизм PLA1/PLA2 гена GPIIb. Аллель PLA2 представляет собой результат замены тиминового нуклеотида на цитозинный в позиции 196 третьего экзона гена GPIIb. В результате происходит замена лейцина (аллель PLA1) на пролин (аллель PLA2) в 33-м аминокислотном остатке белка, что приводит к изменению конформации GPIIb, повышенной агрегацией тромбоцитов и пролиферацией гладкомышечных клеток (ГМК) сосудов [19,20]. По данным мета-анализа среднепопуляционная частота аллеля PLA2 составила 14,8% (9,93%–19,38%) [21]. По результатам настоящего исследования частота PLA1-аллеля в ГК составила 85,5%, а PLA2-аллеля – 14,5%. Распространенность генотипов гена GPIIb в ГК была следующей: частота генотипа PLA1/PLA1–72,5%, генотипа PLA1/PLA2–25,9%, генотипа PLA2/PLA2–1,6%. При сравнении частот генотипов в ГК и в гр. больных с ранним развитием ИБС не было выявлено статистически значимых отличий, что совпадает с данными ряда исследователей [13,22]. У больных, перенесших ИМ, было больше носителей генотипа PLA2/PLA2, чем у больных ИБС без ИМ ($p=0,03$, $OR=2,7$). Т.е. генотип PLA2/PLA2 ассоциирован с увеличением риска развития ИМ в 2,7 раза (рисунок 2). При сравнении гр. больных ИБС, перенесших ИМ и без ИМ в анамнезе в сочетании с наличием или отсутствием таких ФР как АГ, ГХС, курение и Ож, статистически значимые отличия были выявлены в гр. больных с ГХС. В этой гр. распространенность PLA2/PLA2 генотипа оказалась выше у больных,

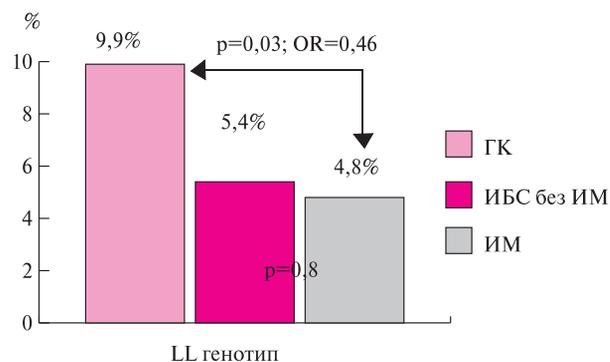


Рис. 4 Частота распространения генотипа LL фактора XIII в ГК, среди больных ИБС без ИМ и больных, перенесших ИМ.

перенесших ИМ, чем у больных ИБС без ИМ в анамнезе ($p=0,01$, $OR=6,0$) (рисунок 3). Некоторые авторы изучали носительство аллеля PLA2 в качестве ФР развития ишемического инсульта (МИ) и обнаружили повышенную частоту этого аллеля в сочетании с ГХС и АГ у больных, перенесших МИ в молодом возрасте [23]. Было отмечено увеличение риска развития ИМ у курящих носителей аллеля [8]. В представленном исследовании такой ассоциации не выявлено. Подгруппа больных ИМ с курением в анамнезе не отличалась по частоте распространения аллелей и генотипов от гр. больных ИБС без ИМ. Одной из причин высокого риска развития ИБС и коронарных тромбозов у больных с генотипом PLA2/PLA2 является повышенная экспрессия рецептора на тромбоцитах [24] и повышенная агрегационная активность тромбоцитов крови [25]. С другой стороны полиморфизм PLA гена GPIIb связывают с ранним развитием атеросклероза КА из-за изменения функций рецептора GPV/IIIa ($\alpha v\beta 3$) в ГМК сосудов. Авторы показали, что в случае носительства полиморфизма PLA2 образуется АБ с незначительным фиброзом, что делает ее более подверженной разрыву как вследствие напряжения сдвига, так и высокой активности воспалительного процесса в АБ [26]. Этот факт объясняет возможную причину повышения риска развития ИМ при носительстве генотипа PLA2/PLA2 в сочетании с ГХС, т.к. повышенное отложение эфиров ХС в ядре АБ приводит к образованию мягких атероматозных бляшек с истонченной капсулой, играющих главную роль в развитии осложнений ИБС [27].

Полиморфизм 4G/5G гена PAI-1. Инсерционно-делеционный полиморфизм 4G/5G в промоторной области гена PAI-1 влияет на скорость транскрипции, активность и уровень PAI-1 в плазме крови. В ряде исследований была показана связь аллеля 4G с ИМ [28]. Однако данные о связи полиморфизма 4G/5G с ССЗ и, в частности, с ИБС, противоречивы. По данным исследования авторов частота генотипа 4G/4G в ГК составила 30,2%, генотипа 4G/5G – 50,5%, генотипа 5G/5G – 19,3%. В прове-

Таблица 3

Распределение аллельных сочетаний генов фактора VII и фактора XIII в гр. больных ИБС без ИМ в анамнезе и среди больных ИБС, перенесших ИМ

Сочетания аллелей	Распространенность среди больных ИБС без ИМ в анамнезе (n=148),%	Распространенность среди больных ИБС, перенесших ИМ (n=156),%	p
Q аллель FVII + L аллель FXIII	14,2%	5,2%	0,03
Остальные аллельные варианты	85,8%	94,9%	

денном исследовании отсутствовало подтверждение негативного влияния полиморфизма 4G/5G гена PAI-1 на развитие ИБС и ИМ. Распределение генотипов и аллелей в гр. больных ИБС не отличалось от ГК ($p=0,2$). Сравнение гр. больных ИБС, перенесших ИМ и без ИМ в анамнезе, а также подгрупп в зависимости от наличия таких ФР как АГ, ГХС, курение и Ож не выявило статистически значимого отличия в распределении аллелей и генотипов. Аналогичные данные получены в ряде ранее выполненных исследований. В исследованиях ECTIM (Etude CasTemoins de l'infarctus du Myocarde) [29] и SHEEP (Stockholm Heart Epidemiology Program) [30] не было выявлено взаимосвязи между генотипами PAI-1 и ИМ. Фремингемское исследование подтвердило связь аллеля 4G с высоким уровнем PAI-1 в плазме крови, но не с увеличением риска ССЗ [31].

Полиморфизм V34L гена фактора XIII свертывания крови. Аллельный вариант гена 34Leu (L) цепи А фактора XIII влияет на структуру и формирование тромба, в результате чего тромб становится прочнее, с меньшей пористостью и состоит из более тонких и коротких волокон. Такой тромб, сформированный на АВ, является более стабильным [32]. В ряде исследований было показано, что полиморфизм Val34Leu гена FXIII является защитным от прогрессирования ИБС и развития ИМ [33–35]. Но эти данные противоречивы из-за значительной вариабельности распространенности данного полиморфизма в различных популяциях: от 2,5% до 51,2%. Частота аллеля L у людей европеоидной расы варьирует от 23,0% до 44,3% [36,37]. По данным настоящего исследования частота аллеля V в ГК составила 67,7%, а аллеля L – 32,3%. У больных

ИБС в 2 раза реже встречался генотип LL, в сравнении с ГК ($p=0,02$, $OR=0,48$). Риск развития ИБС в данном случае уменьшается в 2 раза. Однако при сравнении подгруппы больных ИБС, перенесших ИМ, с остальными больными ИБС (без ИМ в анамнезе) не было выявлено статистически значимого отличия в распределении генотипов (рисунок 4). Для подтверждения протективной роли полиморфизма V34L гена фактора XIII в отношении развития ИБС и ИМ проведен анализ распространенности этого полиморфизма в гр. здоровых лиц без ССЗ. Среди больных ИБС, перенесших ИМ, распространенность генотипа LL также оказалась ниже, чем в гр. здоровых: 4,8% и 10,2% соответственно, ($p=0,04$, $OR=0,55$), т.е. риск развития ИМ у носителей генотипа LL уменьшается в 2,2 раза. При сравнении гр. больных ИБС, перенесших ИМ, и без ИМ в анамнезе, при наличии или отсутствии таких ФР как АГ, ГХС, курение и Ож статистически значимое отличие в распределении аллелей и генотипов не выявлено.

Полиморфизм R353Q гена фактора VII свертывания крови. Фактор VII – ключевой элемент активации ферментативного каскада гемостаза по внешнему пути. Взаимосвязь уровня активности этого фермента с развитием ИБС доказана во многих работах. Однако работы по выявлению ассоциаций полиморфизма R353Q гена фактора VII, влияющего на активность фактора VII, с риском развития ИБС дали противоречивые результаты [38,39]. По результатам мета-анализа частота аллеля Q варьирует от 4% до 30% в различных популяциях [40]. По данным настоящего исследования распространенность гомозигот RR в ГК составила 77,3%, гетерозигот RQ – 20,4%, гомозигот QQ – 2,3%. У больных ИБС в 8,4 раза реже встречался генотип QQ, чем в ГК ($p=0,02$, $OR=0,12$); т.е. риск развития ИБС в данном случае уменьшается. Данное различие оказалось наиболее выраженным среди больных ИМ в анамнезе. При сравнении гр. больных ИБС, перенесших ИМ, и без ИМ в анамнезе, среди 183 обследованных пациентов, перенесших ИМ, не оказалось ни одного носителя генотипа QQ (рисунок 5). В связи с этим можно предположить, что гомозиготное носительство QQ фактора VII снижает риск развития ИБС и ИМ, что совпадает с данными других исследователей [41–43]. Действие аллеля Q, как фактора, снижающего риск развития ИБС и ИМ, связывают с его влиянием на уровень каталитической активности

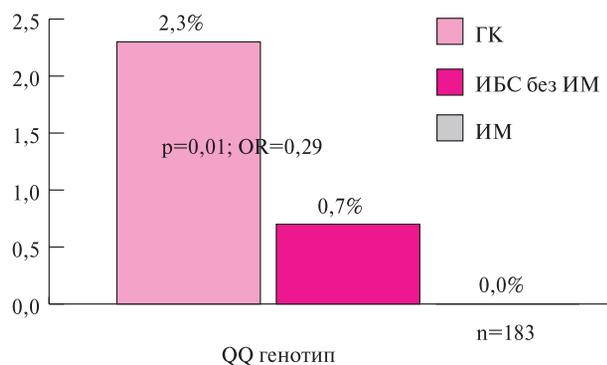


Рис. 5 Частота распространения генотипа QQ фактора VII в ГК, среди больных ИБС без ИМ и больных, перенесших ИМ.

FVII/FVIIa в плазме крови. В исследованиях, проведенных *in vivo*, было выявлено снижение каталитической активности фермента на 20–25% у носителей хотя бы одного Q-аллеля по сравнению с гомозиготами R/R. Этот полиморфизм затрагивает каталитический домен, вследствие чего и оказывает такое влияние на уровень FVII и, таким образом уменьшает интенсивность тромбообразования [42,44,45].

Учитывая полученные данные о протективном влиянии полиморфизма V34L фактора XIII и R353Q фактора VII в отношении риска развития ИБС, проанализировано сочетанное влияние этих полиморфизмов. При сравнении подгруппы больных ИБС, перенесших ИМ, с остальными больными ИБС (без ИМ в анамнезе), оказалось, что в сочетании с L-аллелем гена фактора XIII аллель Q фактора VII обладает отрицательной предсказательной силой в отношении ИМ как осложнения ИБС ($p=0,03$; OR при носительстве двух аллелей – 0,33), то есть риск развития ИМ уменьшается в 3 раза (таблица 3).

Литература

1. Панченко Е. П., Добровольский А. Б. Тромбозы в кардиологии. Механизмы развития и возможности терапии. М: Спорт и культура 1999; 464.
2. Humphries SE, Yiannakouris N, Talmud PJ. Cardiovascular disease risk prediction using genetic information (gene scores): is it really informative? *Curr Opin Lipidol* 2008; 19 (2): 128–32.
3. Schunkert H, König IR, Erdmann J. Molecular signatures of cardiovascular disease risk: potential for test development and clinical application. *Mol Diagn Ther* 2008; 12 (5): 281–7.
4. Humphries SE, Ridker PM, Talmud PJ. Genetic testing for cardiovascular disease susceptibility: a useful clinical management tool or possible misinformation? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24 (4): 628–36.
5. Damani SB, Topol EJ. Future use of genomics in coronary artery disease. *JACC* 2007; 50 (20): 1933–40.
6. Avar D, Knoppers BM. Genomic medicine: considerations for health professionals and the public. *Genome Med* 2009; 1 (2): 25.
7. Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction: the first step toward coronary arteriosclerosis. *Circ J* 2009; 73 (4): 595–601.
8. Ardissino D, Mannucci PM, Merlini PA, et al. Prothrombotic genetic risk factors in young survivors of myocardial infarction. *Blood* 1999; 94 (1): 46–51.
9. Humphries SE, Luong LA, Ogg MS, et al. The interleukin-6 –174 G/C promoter polymorphism is associated with risk of coronary heart disease and systolic blood pressure in healthy men. *Eur Heart J* 2001; 22 (24): 2243–52.
10. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 14 сентября 2001 г. № 364 “Об утверждении Порядка медицинского обследования донора крови и ее компонентов” 2001.
11. Calverley DC, Baldermann LV, Moran K, et al. Platelet FcγRIIIa expression is associated with the alpha2 integrin C807T gene polymorphism in type 2 diabetes. *Platelets* 2006; 17 (2): 78–83.
12. Dinauer DM, Friedman KD, Hessner MJ. Allelic distribution of the glycoprotein Ia (alpha2-integrin) C807T/G873A dimorphisms among caucasian venous thrombosis patients and six racial groups. *Br J Haematol* 1999; 107 (3): 563–5.
13. Ye Z, Liu EH, Higgins JP, et al. Seven haemostatic gene polymorphisms in coronary disease: meta-analysis of 66,155 cases and 91,307 controls. *Lancet* 2006; 367 (9511): 651–8.
14. Morita H, Kurihara H, Imai Y, et al. Lack of association between the platelet glycoprotein Ia C807T gene polymorphism and myocardial infarction in Japanese. An approach entailing melting curve analysis with specific fluorescent hybridization probes. *Thromb Haemost* 2001; 85 (2): 226–30.
15. Lewandowski K, Swierczynska A, Kwasnikowski P, et al. The prevalence of C807T mutation of glycoprotein Ia gene among young male survivors of myocardial infarction: a relation with coronary angiography results. *Kardiol Pol* 2005; 63 (2): 107–13; discussion 114.
16. Tsantes AE, Nikolopoulos GK, Bagos PG, et al. Lack of association between the platelet glycoprotein Ia C807T gene polymorphism and coronary artery disease: a meta-analysis. *Int J Cardiol* 2007; 118 (2): 189–96.
17. Giusti B, Gori AM, Marcucci R, et al. Role of glycoprotein Ia gene polymorphisms in determining platelet function in myocardial infarction patients undergoing percutaneous coronary intervention on dual antiplatelet treatment. *Atherosclerosis* 2008; 196 (1): 341–8.
18. Antoniadis C, Tousoulis D, Vasiliadou C, et al. Genetic polymorphisms of platelet glycoprotein Ia and the risk for premature myocardial infarction: effects on the release of sCD40L during the acute phase of premature myocardial infarction. *JACC* 2006; 47 (10): 1959–66.
19. Newman PJ, Derbes RS, Aster RH. The human platelet alloantigens, PLA1 and PLA2, are associated with a leucine33/proline33 amino acid polymorphism in membrane glycoprotein IIIa, and are distinguishable by DNA typing. *J Clin Invest* 1989; 83 (5): 1778–81.
20. Honda S, Honda Y, Bauer B, et al. The impact of three-dimensional structure on the expression of P1A alloantigens on human integrin beta 3. *Blood* 1995; 86 (1): 234–42.
21. Zhu MM, Weedon J, Clark LT. Meta-analysis of the association of platelet glycoprotein IIIa PLA1/A2 polymorphism with myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2000; 86 (9): 1000–5, A8.
22. Aleksic N, Juneja H, Folsom AR, et al. Platelet P1 (A2)

- allele and incidence of coronary heart disease: results from the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) Study. *Circulation* 2000; 102 (16): 1901–5.
23. Lanni F, Santulli G, Izzo R, et al. The PI (A1/A2) polymorphism of glycoprotein IIIa and cerebrovascular events in hypertension: increased risk of ischemic stroke in high-risk patients. *J Hypertens* 2007; 25 (3): 551–6.
 24. O'Halloran AM, Curtin R, O'Connor F, et al. The impact of genetic variation in the region of the GPIIIa gene, on PI expression bias and GPIIb/IIIa receptor density in platelets. *Br J Haematol* 2006; 132 (4): 494–502.
 25. Feng D, Lindpaintner K, Larson MG, et al. Increased platelet aggregability associated with platelet GPIIIa PLA2 polymorphism: the Framingham Offspring Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19 (4): 1142–7.
 26. Mikkelsen J, Perola M, Penttila A, et al. The GPIIIa (beta3 integrin) P1A polymorphism in the early development of coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2001. 154 (3): 721–7.
 27. Ross R. Atherosclerosis is an inflammatory disease. *Am Heart J* 1999; 138 (5 Pt 2): S419–20.
 28. Yamada Y, Izawa H, Ichihara S, et al. Prediction of the risk of myocardial infarction from polymorphisms in candidate genes. *N Engl J Med* 2002; 347 (24): 1916–23.
 29. Ye S, Green FR, Scarabin PY, et al. The 4G/5G genetic polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene is associated with differences in plasma PAI-1 activity but not with risk of myocardial infarction in the ECTIM study. *Etude Cas Temoins de l'infarctus du Myocarde. Thromb Haemost* 1995; 74 (3): 837–41.
 30. Leander K, Wiman B, Hallqvist J, et al. PAI-1 level and the PAI-1 4G/5G polymorphism in relation to risk of non-fatal myocardial infarction: results from the Stockholm Heart Epidemiology Program (SHEEP). *Thromb Haemost* 2003; 89 (6): 1064–71.
 31. Kathiresan S, Gabriel SB, Yang Q, et al. Comprehensive survey of common genetic variation at the plasminogen activator inhibitor-1 locus and relations to circulating plasminogen activator inhibitor-1 levels. *Circulation* 2005; 112 (12): 1728–35.
 32. Andersen MD, Kjalke M, Bang S, et al. Coagulation factor XIII variants with altered thrombin activation rates. *Biol Chem* 2009; 390 (12): 1279–83.
 33. Siegerink B, Algra A, Rosendaal FR. Genetic variants of coagulation factor XIII and the risk of myocardial infarction in young women. *Br J Haematol* 2009; 146 (4): 459–61.
 34. Berezcky Z, Balogh E, Katona E, et al. Decreased factor XIII levels in factor XIII A subunit Leu34 homozygous patients with coronary artery disease. *Thromb Res* 2008; 121 (4): 469–76.
 35. Rallidis LS, Politou M, Komporozos C, et al. Factor XIII Val34Leu polymorphism and the risk of myocardial infarction under the age of 36 years. *Thromb Haemost* 2008; 99 (6): 1085–9.
 36. Attie-Castro FA, Zago MA, Lavinha J, et al. Ethnic heterogeneity of the factor XIII Val34Leu polymorphism. *Thromb Haemost* 2000; 84 (4): 601–3.
 37. Boekholdt SM, Sandhu MS, Wareham NJ, et al. Fibrinogen plasma levels modify the association between the factor XIII Val34Leu variant and risk of coronary artery disease: the EPIC-Norfolk prospective population study. *J Thromb Haemost* 2006; 4 (10): 2204–9.
 38. Feng D, Tofler GH, Larson MG, et al. Factor VII gene polymorphism, factor VII levels, and prevalent cardiovascular disease: the Framingham Heart Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20 (2): 593–600.
 39. Sanders TA, de Grassi T, Miller GJ, et al. Dietary oleic and palmitic acids and postprandial factor VII in middle-aged men heterozygous and homozygous for factor VII R353Q polymorphism. *Am J Clin Nutr* 1999; 69 (2): 220–5.
 40. Wu AH, Tsongalis GJ. Correlation of polymorphisms to coagulation and biochemical risk factors for cardiovascular diseases. *Am J Cardiol* 2001; 87 (12): 1361–6.
 41. Maitland-van der Zee AH, Peters BJ, Lynch AI, et al. The effect of nine common polymorphisms in coagulation factor genes (F2, F5, F7, F12 and F13) on the effectiveness of statins: the GenHAT study. *Pharmacogenet Genomics* 2009; 19 (5): 338–44.
 42. Drenos F, Talmud PJ, Casas JP, et al. Integrated associations of genotypes with multiple blood biomarkers linked to coronary heart disease risk. *Hum Mol Genet* 2009; 18 (12): 2305–16.
 43. Xu G, Jin GD, Fu GS, et al. Association of coagulation factor V, VII gene polymorphisms with coronary heart disease. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi* 2003; 20 (1): 39–42.
 44. Yang Q, Kathiresan S, Lin JP, et al. Genome-wide association and linkage analyses of hemostatic factors and hematological phenotypes in the Framingham Heart Study. *BMC Med Genet* 2007; 8 Suppl 1: S12.
 45. Lindman AS, Pedersen JI, Arnesen H, et al. Coagulation factor VII, R353Q polymorphism, and serum choline-containing phospholipids in males at high risk for coronary heart disease. *Thromb Res* 2004; 113 (1): 57–65.

Поступила 13/-10-2011

Работа выполнена при финансовой поддержке Межфакультетского проекта МГУ им. М. В. Ломоносова «Постгеномные медицинские исследования и технологии. Продление жизни и улучшение здоровья человека» Договор № 34 от «20» апреля 2009 г.