

Генетическая предрасположенность к атеротромбозам у пациентов с тяжелой стенокардией

Г.А.Чумакова^{1,2}, А.П.Момот^{1,4}, А.А.Козаренко^{1,2}, Н.Г.Веселовская^{2,3}

¹Алтайский государственный медицинский университет, Барнаул;

²Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний СО РАМН, Кемерово; ³Алтайский краевой кардиологический диспансер; ⁴Алтайский филиал Гематологического научного центра РАМН, Барнаул

Резюме. Цель исследования: изучение распространенности тромбогенных аллельных полиморфизмов генов у пациентов с тяжелой стенокардией, имеющих показания к реваскуляризации миокарда.

Материалы и методы. В исследование были включены 105 пациентов (87 мужчин и 18 женщин) в возрасте от 33 до 70 лет со стенокардией напряжения III–IV функционального класса, имеющих показания к реваскуляризации миокарда. У всех больных изучено носительство полиморфизма ингибитора тканевого активатора плазминогена I типа (675 4G/5G) – PAI-I, мутации фактора II – протромбина (20210 G/A), мутации фактора V Leiden (Arg 506 Gln) и полиморфизма метилентетрагидрофолатредуктазы (Ala 222 Val) – MTHFR, обуславливающих склонность к развитию тромбозов.

Результаты. Общая встречаемость данных мутаций и полиморфизмов в группе больных с тяжелой стенокардией, нуждающихся в реваскуляризации миокарда, в 3 раза превышает таковую в группе условно здоровых лиц, а сочетание 3 дефектов и более встречается у больных в 15 раз чаще, чем у здоровых лиц. Полученные нами данные показали, что риск развития тяжелой стенокардии прямо пропорционален, а возраст клинического дебюта ишемической болезни сердца (ИБС) обратно пропорционален количеству обнаруженных генетических отклонений. Комбинация изученных протромбогенных мутаций и полиморфизмов с другими факторами риска ИБС, такими как мужской пол, курение, приводит к более раннему клиническому дебюту ИБС.

Выводы. Необходимо формировать стратегию генетически обоснованной популяционной профилактики атеросклероза, в том числе коронарного. Условно здоровые лица с выявленными тромбогенными полиморфизмами нуждаются в наблюдении и активной первичной профилактике сердечно-сосудистых заболеваний.

Ключевые слова: генетический полиморфизм, тромбофилия, факторы риска атеросклероза.

Genetic predisposition to atherothromboses in patients with severe angina pectoris

G.A.Chumakova^{1,2}, A.P.Momot^{1,4}, A.A.Kozarenko^{1,2}, N.G.Veselovskaya^{2,3}

¹Altai State Medical University, Barnaul; ²Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases, Siberian Branch, Russian Academy of Medical Sciences,

Kemerovo; ³Altai Territorial Cardiology Dispensary, Barnaul; ⁴Altai Branch, Hematology Research Center, Russian Academy of Medical Sciences

Summary. Objective. To study the prevalence of thrombosis allelic polymorphisms in patients with severe angina who have indications for myocardial revascularization.

Design and methods. The study included 105 patients (87 men and 18 women) aged from 33 to 70 years who had angina III–IV functional class, with indications for myocardial revascularization. All the patients studied polymorphism of the inhibitor of tissue plasminogen activator I type (675 4G/5G) (PAI-I), mutations of the factor II-prothrombin (20210 G / A), mutations of the factor V Leiden (Arg 506 Gln) and polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase (Ala 222 Val) (MTHFR).

Results. The prevalence of these mutations and polymorphisms in patients with severe angina requiring revascularization of the myocardium in 3 times greater than in the group of healthy adolescents. Our data showed that the risk of severe angina is directly proportional, and the age of the clinical debut of CHD is inversely proportional to the number of studied genetic defects. Thrombophilic polymorphisms studied genes increases the effects of other cardiovascular risk factors such as male sex, smoking and leads to an earlier debut of clinical CHD.

Conclusion. It is necessary to form the strategy of genetically-based population policy for the prevention of atherosclerosis, including coronary. Healthy persons with diagnosed thrombosis polymorphisms are need of active primary prevention of cardiovascular disease.

Key words: genetic polymorphisms, thrombophilia, risk factors of atherosclerosis.

Сведения об авторах:

Чумакова Г.А. – д-р мед. наук, проф. каф. госпитальной и поликлинической терапии с курсами профблезней и эндокринологии Алтайского государственного медицинского университета, Барнаул; вед. науч. сотр. лаб. мультифокального атеросклероза НИИ КПССЗ СО РАМН, Кемерово

Момот А.П. – д-р мед. наук, проф., дир. Алтайского филиала Гематологического научного центра РАМН, руководитель лаб. гематологии ЦНИЛ Алтайского государственного медицинского университета

Козаренко А.А. – аспирант каф. госпитальной и поликлинической терапии с курсами профболезней и эндокринологии Алтайского государственного университета, Барнаул; науч. сотр. лаб. мультифокального атеросклероза НИИ КПССЗ СО РАМН, Кемерово

Веселовская Н.Г. – канд. мед. наук, врач-кардиолог Алтайского краевого кардиологического диспансера, Барнаул; ст. науч. сотр. лаб. мультифокального атеросклероза НИИ КПССЗ СО РАМН, Кемерово

Основной причиной смертности и инвалидизации от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) среди населения являются тромбозы различной локализации. Известно, что причиной развития тромбозов в зоне атеросклеротического поражения артерий является дисфункция эндотелия, изменения состава и свойств крови, гемореологических нарушений. В настоящее время доказано также существование генетической предрасположенности к развитию тромбозов, обусловленной мутациями и полиморфными вариантами генов, кодирующих синтез белков-участников гемостатических реакций. Выявлено несколько десятков генетических вариантов, ассоциированных с нарушениями в системе гемостаза и риском тромбоза. К числу наиболее важных из них, предрасполагающих к развитию венозных тромбозов, относятся полиморфизм ингибитора активатора плазминогена I типа (PAI-I), мутации фактора II – протромбина, фактора V Leiden, а также полиморфизм метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR). Их роль в развитии артериальных тромбозов изучена мало.

Установлено, что PAI-I является одним из основных регуляторов фибринолитических реакций в крови. Этот белок связывает и инактивирует тканевый активатор плазминогена, который ответственен за внешний, основной путь активации фибринолиза. Полиморфный вариант 4G приводит к повышенной экспрессии гена и, соответственно, повышенному уровню PAI-I в крови, в результате чего происходит снижение активности фибринолиза и повышается риск развития тромбообразования. В настоящее время показано, что генный полиморфизм PAI-I ассоциирован с риском развития инфаркта миокарда (ИМ) [1–3]. Высказано предположение о том, что 4G/4G-генотип PAI-I, возможно, является самостоятельным, передающимся по наследству, фактором риска развития ССЗ [4]. В других исследованиях установлено, что генотип 4G/4G является нейтральным и даже протекторным [5, 6] и не связан с развитием ССЗ, в частности коронарных стенозов [7].

Протромбин (фактор II) является важным компонентом системы свертывания крови, из которого в ходе процессов ферментативного расщепления образуется тромбин, приводящий к образованию фибринового сгустка или тромба. Существует мутация гена протромбина, которая характеризуется заменой нуклеотида гуанина нуклеотидом аденина в позиции 20210. Было высказано предположение, что носители данной мутации имеют повышенный уровень протромбина в плазме крови и более выраженную склонность к развитию тромбозов. В последствие было уточнено, что полиморфизм фактора II имеет значение при возникновении ССЗ только у пациентов с высоким кардиоваскулярным риском [8]. Кроме того, не выявлено значительного преобладания встречаемости полиморфизма фактора II у пациентов с подтвержденным атеротромбозом [9].

Мутация фактора V Leiden считается фактором риска развития как венозных, так и артериальных

тромбозов. В основе данной мутации лежит замещение Arg 506 на Gln, в результате чего данная поломка придает устойчивость активной форме фактора V к протеолитическому действию протеина C, что приводит к гиперкоагуляции и высокому риску тромбозов. Показано, что распространенность мутации фактора V Leiden у пациентов с ИМ значительно выше, чем у здоровых лиц [10]. Имеются данные, что сочетание мутаций фактора V Leiden и MTHFR является синергидным и приводит к увеличению риска артериальных тромбозов [9]. Однако опубликованы результаты исследований, в которых не подтвердилась значимость генетического полиморфизма фактора V Leiden и его связи с развитием сердечно-сосудистых событий, в частности с острым ИМ [11, 12]. Таким образом, ассоциации указанных выше мутаций и полиморфизмов с развитием артериальных тромбозов, в том числе в коронарном русле, противоречивы и требуют дальнейшего уточнения.

MTHFR является одним из основных ферментов, участвующих в метаболизме метионина. Его недостаточная активность способна привести к повышению плазменного уровня промежуточного продукта обмена метионина – гомоцистеина, к гипергомоцистеинемии, что также может стать фактором риска развития атеротромбоза [9].

Полиморфизмы генов белков-участников системы свертывания крови обычно изучаются в связи с риском острых сосудистых, в том числе коронарных событий. При этом практически отсутствуют данные о связи этих полиморфных вариантов с риском развития и прогрессирования хронических форм коронарного атеросклероза.

Целью настоящего исследования явилось изучение распространенности тромбогенных аллельных полиморфизмов генов PAI-I (675 4G/ 5G), фактора II – протромбина (20210 G/A), фактора V Leiden (Arg 506 Gln) и MTHFR (Ala 222 Val) у пациентов с тяжелой стенокардией, имеющих показания к реваскуляризации миокарда.

Материалы и методы

Отбор больных в исследование проводили в Алтайском краевом кардиологическом диспансере методом сплошной выборки из числа больных ишемической болезнью сердца (ИБС), поступивших в стационар для подготовки к проведению реваскуляризации миокарда различными методами (чрескожные коронарные вмешательства, аортокоронарное шунтирование).

В исследование были включены 105 пациентов (87 мужчин и 18 женщин) в возрасте от 33 до 70 лет, имеющих стенокардию напряжения III–IV функционального класса, устойчивую к медикаментозному лечению. У всех пациентов имелись гемодинамически значимые стенозы коронарных артерий (КА), выявленные при коронарографии. Обследование пациентов включало в себя сбор анамнеза, уточнение наличия основных факторов риска, в том числе наследственности по ИБС, оценку объективного статусу-

Встречаемость полиморфизмов и мутаций	Группа обследованных				χ^2	p
	здоровые (n=572)		больные с тяжелой стенокардией (n=105)			
	абс.	%	абс.	%		
РАI-I						
патологическая гомозигота	1	0,2	14	13,4	65,0	<0,001
гетерозигота	53	9,3	64	60,9	162,2	<0,001
Фактор II						
патологическая гомозигота	0	0	0	0	–	–
гетерозигота	1	0,2	16	15,2	76,2	<0,001
Фактор V Leiden						
патологическая гомозигота	0	0	0	0	–	–
гетерозигота	9	1,6	8	7,6	10,9	0,001
MTHFR						
патологическая гомозигота	4	0,7	6	5,8	12,1	0,001
гетерозигота	74	12,9	66	62,8	131,8	<0,001

Распространенность сочетаний аллельных полиморфизмов	Группа обследованных лиц				χ^2	p
	здоровые (n=572)		больные с тяжелой стенокардией (n=105)			
	абс.	%	абс.	%		
1 генетический дефект	141	24,8	32	30,4	1,3	0,208
2 генетических дефекта	24	4,2	45	42,8	140,7	<0,001
3 генетических дефекта и более	0	0	16	15,2	82,8	<0,001
Нормозиготы	407	71,0	12	11,6	131,7	<0,001
Общая частота аллельных полиморфизмов	165	29,0	93	88,4	131,7	<0,001

са и носительства тромбогенных аллельных полиморфизмов генов РАI-I (675 4G/ 5G), фактора II – протромбина (20210 G/A), фактора V Leiden (Arg 506 Gln) и MTHFR (Ala 222 Val) методом полимеразной цепной реакции. Группу контроля составили 572 фенотипически здоровых жителей Алтайского края в возрасте 12–15 лет, у которых были изучены приведенные выше мутации и полиморфизмы [13].

Статистический анализ проводили с использованием программы Statistica for Windows ver. 6.0. Использовали метод однофакторного дисперсионного анализа, а также критерий χ^2 с поправкой Йейтса на непрерывность. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Среди обследованных пациентов с тяжелой стенокардией поражение одной КА было выявлено у 36 (34,3%) больных, двух КА – у 47 (44,8%), трех и более – у 22 (21%) больных. Из общего числа обследованных больных генетические аномалии отсутствовали только у 12 (11,4%) пациентов.

При исследовании полиморфизма 4G/5G гена РАI-I определено, что встречаемость этого дефекта в группе пациентов с тяжелой стенокардией составила 74,4%, что было достоверно выше ($p < 0,001$) по сравнению с группой контроля (табл. 1). Причем патологическая гомозиготная мутация у здоровых встречалась крайне редко, а при тяжелой стенокардии достигла 5,8%.

Исследования полиморфизма фактора II протромбина (20210 G/A) показали, что 15,2% пациентов

имели гетерозиготный вариант носительства, что также было достоверно выше, чем в группе контроля ($p < 0,001$). При исследовании мутации фактора V Leiden (Arg 506 Gln) у больных встречаемость полиморфизма также была достоверно выше, чем в группе контроля (7,6 и 1,6% соответственно, $p < 0,001$). Встречаемость мутации MTHFR в группе пациентов с тяжелой стенокардией составила 68,7% против 13,6% в группе здоровых ($p < 0,001$).

Таким образом, нами установлено, что частота мутаций генов РАI-I, протромбина, фактора V Leiden и MTHFR статистически значимо выше встречаемости этих нарушений у практически здоровых людей. Можно также видеть, что наиболее часто у больных выявлялись аллельные полиморфизмы РАI-I и MTHFR.

Кроме того, нами была изучена распространенность межгенных ассоциаций у больных с тяжелой стенокардией и здоровых лиц. Отмечено, что единственный генетический дефект имелся у 32 (30,5%) больных, 2 дефекта – у 45 (42,8%) и 3 дефекта – у 16 (15,2%) больных (табл. 2). В группе контроля 1 генетический дефект выявлен у 141 (24,8%) лица, 2 генетических дефекта – у 24 (4,2%) здоровых лиц. Три генетических дефекта в группе здоровых не отмечены. Следовательно, общая частота аллельных полиморфизмов в группе пациентов с тяжелой стенокардией составила 88,5% против 29,0% в группе контроля ($p < 0,001$).

Наши данные показывают, что клинически значимый коронарный атеросклероз с тяжелой стенокардией, требующей хирургического лечения, имели лица с сочетанием двух, трех и более изученных нами

Таблица 3. Связь возраста дебюта ИБС с носительством протромбогенных мутаций и полиморфизмов ($\bar{X} \pm m$) у обследованных (n=105)

Показатель	Наличие генетических отклонений			
	нет мутации	1 мутации	2 мутации	3 мутации
Возраст дебюта ИБС, лет	53,6 \pm 1,2	54,5 \pm 0,9	52,8 \pm 1,2	48,2 \pm 1,0*

* $p=0,01$ между группами с отсутствием мутаций и тремя мутациями.**Таблица 4. Связь возраста дебюта ИБС у курящих мужчин (n=53) с генетически обусловленной тромбофилией ($\bar{X} \pm m$)**

Показатель	Генетические отклонения			
	нет мутации	1 мутация	2 мутации	3 мутации
Возраст дебюта ИБС, лет	52,3 \pm 1,1	51,7 \pm 0,9	46,7 \pm 1,4*	43,6 \pm 1,2**

* $p=0,002$ между группами с отсутствием мутаций и двумя мутациями; ** $p=0,002$ между группами с отсутствием мутаций и тремя мутациями.

протромбогенных генетических мутаций и полиморфизмов. Механизмы стимуляции атерогенеза при наличии указанных нарушений неясны. Возможно, они связаны с участием данных мутаций и полиморфизмов в формировании дисфункции эндотелия и влиянии на другие этапы атерогенеза, что требует изучения.

Далее нами был проведен анализ взаимосвязи генетических протромбогенных нарушений и возраста клинического дебюта ИБС в виде стенокардии. На основании проведенного однофакторного дисперсионного анализа было установлено, что увеличение числа мутаций изученных генов системы гемокоагуляции и метаболизма метионина связано с уменьшением возраста дебюта ИБС (табл. 3).

Как видно, возраст дебюта ИБС прямо связан с количеством выявленных генетических мутаций. Полученные нами результаты свидетельствуют, что при наличии трех изученных мутаций и полиморфизмов дебют ИБС наступает в среднем на 5,2 года раньше, чем у пациентов без этих отклонений.

Принимая во внимание тот факт, что мужской пол и курение являются самостоятельными факторами риска развития ССЗ, мы рассчитали влияние генетических поломок в системе гемокоагуляции у курящих мужчин. Были получены результаты, подтверждающие влияние мутаций на возраст дебюта ИБС и в данной подгруппе больных (табл. 4).

Важно отметить, что дебют ИБС у курящих мужчин с двумя и тремя протромботическими мутациями наступал раньше в среднем на 5,6 и 8,7 года соответственно, чем у мужчин без искомым генетических аномалий.

Таким образом, полученные нами данные позволяют предположить, что мутации и полиморфизмы PAI-I, протромбина, фактора V Leiden, MTHFR могут быть независимыми факторами риска развития коронарного атеросклероза. Общая встречаемость данных мутаций и полиморфизмов в группе больных с тяжелой стенокардией, нуждающихся в реваскуляризации миокарда, в 3 раза превышает таковую в группе условно здоровых лиц, а сочетание 3 дефектов и более встречается у больных в 15 раз чаще, чем у здоровых. Полученные нами данные показали, что риск развития тяжелой стенокардии прямо пропорционален, а возраст клинического дебюта ИБС обратно пропорционален количеству изученных генетических дефектов. Комбинация изученных протромбо-

генных мутаций и полиморфизмов с другими факторами риска ИБС, такими как мужской пол, курение, приводит к более раннему клиническому дебюту ИБС.

Полученные данные ставят вопрос о необходимости формирования стратегии генетически обоснованной популяционной профилактики атеросклероза, в том числе коронарного. Можно предположить, что условно здоровые лица, носители протромбогенных мутаций и полиморфизмов, нуждаются в наблюдении и активной первичной профилактике ССЗ.

Литература

1. Fu L, Jin H, Song K et al. Relationship between gene polymorphism of the PAI-1 promoter and myocardial infarction. *Chin Med J* 2001; 114 (3): 266–69.
2. Boekboldt SM, Bijsterveld NR, Moons AH et al. Genetic variation in coagulation and fibrinolytic proteins and their relation with acute myocardial infarction: a systematic review. *Circulation* 2001; 104: 3063–8.
3. Zhan M, Zhou Y, Han Z. Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G gene polymorphism in patients with myocardial or cerebrovascular infarction in Tianjin, China. *Chin Med J* 2003; 116 (11): 1707–10.
4. Gardemann A, Lobre J, Katz N et al. The 4G/4G genotype of the plasminogen activator inhibitor 4G/5G gene polymorphism is associated with coronary atherosclerosis in patients at high risk for this disease. *Thromb Haemost* 1999; 82 (3): 1121–6.
5. Doggen CJ, Bertina RM, Manger Cats V, et al. The 4G/5G polymorphism in the plasminogen activator inhibitor-1 gene is not associated with MI. *Thromb Haemost* 1999; 82: 115–20.
6. Hoekstra T, Geleijnse JM, Kluij C et al. 4G/4G genotype of PAI-1 gene is associated with reduce risk of stroke in elderly. *Stroke* 2003; 34: 2822–8.
7. Anderson JL, Mublestein JB, Habashi J et al. Lack of association of a common polymorphism of the plasminogen activator inhibitor-1 gene with coronary artery disease and myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34: 1778–83.
8. Gardemann A, Arsic T, Katz N, Tillmanns H. The factor II G20210A and factor V G1691A gene transitions and coronary heart disease. *Tromb Haemost* 1999; 81 (2): 208–13.
9. Ozmen F, Ozmen MM, Ozalp N, Akar N. The prevalence of factor V (G1691A), MTHFR (C677T) and PT (G20210A) gene mutations in arterial thrombosis. *Ulus Trauma Acil Cerrahi Derg* 2009; 15 (2): 113–9.
10. Settin A, Dowaidar M, Abd-Al-Samad A et al. Frequency of factor V Leiden mutation in Egyptian cases with myocardial infarction. *Hematology* 2008; 13 (3): 170–4.
11. Pastana CL, Torres A, Blanco S et al. Factor V Leiden and the risk of venous thrombosis, myocardial infarction, and stroke: a case-control in Venezuela. *Genet Test Mol Biomarkers* 2009; 13 (4): 537–42.
12. Ardissino D, Peyvandi F, Merlini PA et al. Factor V mutation in young survivors of MI. *Tromb Haemost* 1996; 75(5): 701–2.
13. Момот АП., Цыпкина ЛП., Ельжамов ВА. и др. Ранние ишемические инсульты и гематогенные тромбофилии. *Методическое пособие для врачей* 2009; 23–5.