На правах рукописи

Брусенцов Денис Андреевич

НЕКОТОРЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ АТЕРОСКЛЕРОЗА КОРОНАРНОГО БАССЕЙНА ПО ДАННЫМ АНГИОГРАФИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1.20. Кардиология (медицинские науки)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

Красноярск

2021

Работа выполнена на кафедре факультетской терапии с курсом ПО федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, доцент **Шестерня Павел Анатольевич**

Официальные оппоненты:
Затейщиков Дмитрий Александрович - доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное учреждение дополнительного профессионального образования «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации, заведующий кафедрой терапии, кардиологии и функциональной диагностики с курсом нефрологии;

Лифшиц Галина Израилевна - доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, заведующая лабораторией персонализированной медицины.

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (г. Кемерово).

Защита состоится « » 2021 г. в часов на заседании диссертационного совета 21.2.013.01 при ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф.Войно-Ясенецкого Минздрава России по адресу: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; тел. (391) 212-53-94.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке и на сайте ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России: https://krasgmu.ru.

Автореферат разослан «_____» _____ 2021 г

Учёный секретарь
диссертационного совета 21.2.013.01,
кандидат медицинских наук, доцент Богвилене Яна Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Снижение смертности от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) является одной из наиболее значимых медико-социальных проблем. Как результат предпринимаемых усилий в отечественном здравоохранении в течение последнего десятилетия отмечается стабильное снижение удельного веса ССЗ в структуре общей смертности населения – с 56,8% (806,4 тыс. из 1420,0 тыс. случаев) в 2010 году до 46,8% (583,1 тыс. из 1245,6 тыс. случаев) в 2019 году [Малков П.А. и соавт. (2019)]. Лидирующие позиции среди ССЗ прочно удерживает ишемическая болезнь сердца (ИБС), несущая наибольшие социально-экономические потери для государства [Оганов Р.Г. и соавт. (2011), Концевая А.В. и соавт. (2018)].

Положительная динамика в значительной степени обусловлена организацией сети региональных сосудистых центров, широким использованием ранней реваскуляризации, проведением современной антитромботической терапии и комплексных мер по реабилитации больных ИБС [Бойцов С.А. (2013)]. Однако смертность от ИБС у лиц молодого возраста не отражает общепопуляционной позитивной тенденции [Самородская И.В. и соавт. (2016)].

В клинических рекомендациях Российского кардиологического общества и международных профессиональных организаций декларируется важнейший постулат о первостепенной значимости мер первичной профилактики ИБС, как приоритетной задачи современной кардиологии. [Бойцов С.А. и соавт. (2018), Пузырев В.П. и соавт. (2019), Piepoli M.F. et al. (2016)].

Степень проработанности темы исследования. Основой первичной профилактики ИБС является стратификация риска для конкретного пациента. На популяционном уровне первичная профилактика основывается на концепции факторов риска (ФР), базирующейся на современных представлениях о возможных направлениях профилактики обширной группы

социально-значимых хронических неинфекционных заболеваний (ХНИЗ), в том числе ИБС [Бойцов С.А. и соавт. (2013), Шальнова С.А. и соавт. (2013)].

В своего рода иерархии ФР удельный вес генетических маркеров остается относительно скромным [Таратухин Е.О. (2017)]. При этом реализация многих традиционных ФР является также генетически обусловленной. Вопрос о возможности практического использования результатов генотипирования по сей день является предметом научных споров и активно изучается [Шляхто Е.В. и соавт. (2018)]. В результате масштабных полногеномных ассоциативных исследований (GWAS – Genome-Wide Association Study) в начале XXI века были идентифицированы новые ОНП, ассоциированные с ИБС [Prins B.P. et al. (2012), Deloukas P. et al. (2012), Roberts R. et al. (2012)]. Однако лимитирующими факторами их клинического использования являются не только высокая распространенность генотипов риска в популяции, но и зачастую неясные механизмы реализации эффекта однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП), открытых в ходе GWAS.

Таким образом, была идентифицирована «горячая точка» генома – участок (локус) 9p21.3, расположенный на 9 хромосоме, ассоциированный с высоким риском ИБС и инфарктом миокарда (ИМ) [McPherson R. et al. (2007), Helgadottir A. et al. (2007), Samani N.J. et al. (2007)]. Одним из наиболее значимых ОНП данного локуса является *rs1333049* локуса 9p21.3 [Шестерня П.А. и соавт. (2013)]. Полиморфизм *rs1800470* гена трансформирующего ростового фактора бета-1 (*TGF-β1*), локализованного на 19 хромосоме и кодирующего синтез одноименного белка, также ассоциациирован с развитием ИМ и ИБС [Morris D.R. et al. (2012), Cruz M. et al. (2013)].

Учитывая имеющиеся данные об ассоциации ОНП *rs1333049* локуса 9p21.3 и *rs1800470* гена *TGF-β1* с развитием и клиническим течением ИБС, логичным продолжением научного поиска должны были быть исследования, направленные на уточнение механизмов их реализации. В подавляющем большинстве случаев субстратом этиопатогенеза ИБС является атеросклероз коронарных артерий (КА). Несмотря на имеющиеся результаты зарубежных

исследований, в которых производилась оценка коронарной ангиографии (КАГ), нами не найдено работ с использованием динамического ангиографического контроля. В Российской Федерации данные аспекты ранее не изучались.

Цель исследования: изучить ассоциацию полиморфизмов *rs1800470* гена трансформирующего ростового фактора бета-1 (*TGF-β1*) и *rs1333049* локуса 9p21.3 с прогрессированием коронарного атеросклероза.

В соответствии с поставленной целью были определены следующие **задачи исследования**:

1. Изучить ассоциации полиморфизмов *rs1800470* гена *TGF-β1* и *rs1333049* (9p21.3) с тяжестью атеросклеротического поражения коронарного русла.
2. Выявить ассоциации генотипов однонуклеотидных полиморфизмов *rs1800470* гена *TGF-β1* и *rs1333049* (9p21.3) с риском прогрессирования атеросклероза коронарного русла по данным ангиографии в динамике.
3. Изучить гендерные и возрастные особенности ассоциации *rs1800470* гена *TGF-β1* и *rs1333049* (9p21.3) с риском развития и темпами прогрессирования коронарного атеросклероза.
4. Изучить связь исследуемых однонуклеотидных полиморфизмов с факторами риска ИБС.

Научная новизна. В российской популяции впервые проведена комплексная оценка выбранных ОНП с тяжестью коронарного атеросклероза, а также выявлены генотипы, ассоциированные с прогрессированием данного патологического процесса на основании динамической оценки данных КАГ.

Теоретическая и практическая значимость работы. Определено, что гомозиготный генотип по аллелю С *rs1333049* (9p21.3) и аллель А *rs1800470* гена *TGF-β1* ассоциированы с риском развития тяжелого коронарного атеросклероза у мужчин независимо от возраста, а следовательно, генотипорование по данным ОНП может быть использовано в стратификации риска ИБС у мужчин, наряду с традиционными факторами. Установлено также, что аллель А *rs1800470* гена *TGF-β1* является предиктором

прогрессирования коронарного атеросклероза и может использоваться, как независимый фактор риска у мужчин до 60 лет, что следует учитывать при определении мер вторичной профилактики ИБС у данной группы населения.

Теоретические утверждения, освещаемые в данной диссертации, используются в процессе обучения студентов на кафедре факультетской терапии с курсом ПО ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России.

Методология и методы исследования. Исследование проводилось с применением следующих методов: аналитический, клинический, анамнестический, функциональный, статистический.

Положения, выносимые на защиту:

1. Гомозиготный генотип CC *rs1333049* локуса 9p21.3 и носительство аллеля A *rs1800470* гена *TGF-β1* ассоциированы с риском тяжелого атеросклеротического поражения коронарного бассейна у мужчин.
2. Носительство аллеля A *rs1800470* гена *TGF-β1* является предиктором быстрого прогрессирования атеросклероза коронарных артерий у мужчин.
3. По данным регрессионного анализа независимыми маркерами прогрессирования коронарного атеросклероза у мужчин являются наличие аллеля A *rs1800470* гена *TGF-β1* и гиперхолестеринемия (ОХс>5,0 ммоль/л).

Степень достоверности и апробация результатов исследования. Результаты работы представлены на следующих конференциях: XXIII международная научно-практическая конференция «Современная медицина: новые подходы и актуальные исследования» (г.Москва, 24 мая 2019 г.), I Международная заочная электронная научно-практическая конференция: «Инновации в медицине» (г. Махачкала, 30 мая 2019 г.), «Российская наука в современном мире» XXIV Международная научно-практическая конференция (г. Пенза, 31 августа 2019 г.), Российский национальный конгресс кардиологов 2019 (г. Екатеринбург, 24–26 сентября 2019 г.), V Всероссийская научная конференция молодых специалистов, аспирантов, ординаторов «Инновационные технологии в медицине: взгляд молодого специалиста» (г.

Рязань, 10–11 октября 2019 г.), Всероссийская кардиологическая конференция «Традиции и инновации в кардиологии» (г. Красноярск, 18–19 октября 2019г.), XX Международная научно-практическая конференция «Наука и инновации в XXI веке: актуальные вопросы, открытия и достижения» (г. Пенза, 20 августа 2020 г.), 87-ая Всероссийская Байкальскоая научно-практическая конференция молодых учёных и студентов с международным участием «Актуальные вопросы современной медицины» (г. Иркутск, 12–14 октября 2020 г.)

По теме диссертации в центральной печати опубликовано 13 печатных работ, из них 1 – в международной печати и 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 106 страницах машинописного текста, содержит 24 таблицы, 11 рисунков. Диссертация состоит из введения, обзора литературы по теме диссертации, материала и методов исследования, результатов собственных исследований и клинических случаев, их обсуждения, заключения, списка сокращений, принятых в диссертации, списка литературы и списка иллюстративного материала. Список литературы содержит 151 источник: 59 отечественных и 92 зарубежных.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования. В данной работе использовалась база данных кафедры факультетской терапии с курсом ПО ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России, сформированная в рамках научного исследования д.м.н. Шестерни П.А. и включавшая 256 больных ИМ, которым была проведена КАГ и чрескожное коронарное вмешательство (ЧКВ) в течение индексной госпитализации в период с 2010 по 2012 годы. Все пациенты подписывали форму информированного добровольного согласия, разрешавшую создание банка ДНК и проведение дальнейших молекулярно-генетических исследований. Выделение ДНК производилось из периферической венозной крови фенол-хлороформным методом. Характеристика больных приведена в таблице 1**.**

Таблица 1 – Характеристика исследуемой группы больных ИМ

Признак	**Мужчины**	**Женщины**	**Всего**
Количество, абс (%±m)	216 (84.4±2.3)	40 (15.6±2.3)	256 (100)
Возраст, M±σ	51.5±8.6	55.7±6.5	52.1±8.4
Сахарный диабет, абс (%±m)	20 (9.3±2.0)	6 (15.0±5.6)	26 (10.2±1.9)
Артериальная гипертония, абс (%±m)	143 (66.2±3.2)	26 (65.0±7.5)	169 (66.0±3.0)
Курение, абс (%±m)	161 (74.5±3.0)	13 (32.5±7.4)	174 (68.0±2.9)
Ожирение (ИМТ ≥30) , абс (%±m)	43 (19.9±2.7)	14 (35.0±7.5)	57 (22.3±2.6)
Поражение коронарных артерий			
Проксимальный тип, абс (%±m)	153 (70.8±3.1)	24 (60.0±7.7)	177 (69.1±2.9)
Однососудистое, абс (%±m)	78 (36.1±3.3)	16 (40.0±7.7)	94 (36.7±3.0)
Двухсосудистое, абс (%±m)	74 (34.3±3.2)	9 (22.5±6.6)	83 (32.4±2.9)
Трехсосудистое, абс (%±m)	51 (23.6±2.9)	11 (27.5±7.1)	62 (24.2±2.7)
Отсутствие атеросклероза, абс (%±m)	13 (6.0±1.6)	4 (10.0±4.7)	17 (6.6±1.6)
Индекс Gensini, Me [Q1; Q3]	38 [19; 80]	40 [17; 60]	38 [16; 72]

Ангиография коронарных артерий проводилась на аппарате AlluraXper FD10 (Philips). Всем больным помимо стандартного протокола полипроекционной КАГ, оценивалась тяжесть поражения коронарного русла с использованием индекса Gensini [Gensini G. (1983)], являющегося интегральным показателем распространенности атеросклеротического поражения коронарного русла, наиболее информативным при динамическом наблюдении [Гаврилова Н.Е. и соавт. (2014)] (рисунок 1).

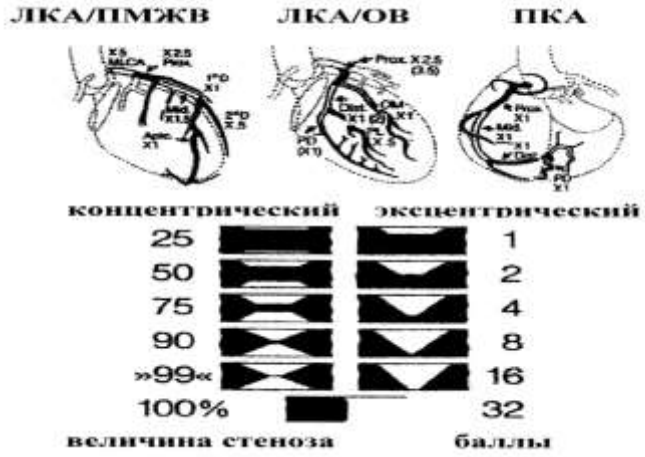


Рисунок 1. Схема расчета индекса Gensini

Критериями для оценки тяжести атеросклероза КА были приняты следующие: количество баллов при подсчете индекса Gensini, наличие многососудистого поражения КА, за который принималось наличие атеросклероза по меньшей мере двух из трех магистральных сосудов (ПКА, ПМЖВ, ОВ) и проксимальный тип локализации данного патологического процесса (стеноз любой значимости проксимальных отделов ПКА, ПМЖВ и ОВ, а также ствола ЛКА).

Односсудистое поражение КА имели 94 (36,7±3,0%) пациента, двухсосудистое – 83 (32,4±2,9%) и трехсосудистое – 62 (24,2±2,7%) больных. У 17 (6,6±1,6%) пациентов были выявлены интактные КА. Расчет индекса Gensini проводился только у пациентов с наличием атеросклероза КА.

На первом этапе работы изучалась возможная ассоциация генотипов *rs1333049* локуса 9p21.3 и *rs1800470* гена *TGF-β1* с тяжестью коронарного атеросклероза.

Второй этап работы был сфокусирован на проверку научной гипотезы о связи полиморфизмов *rs1800470* гена *TGF-β1* и *rs1333049* локуса 9p21.3 с темпами прогрессирования коронарного атеросклероза по данным ангиографии. Для этого сравнивались данные, полученные в ходе проведения инициальной КАГ (и-КАГ), с результатами повторной КАГ (п-КАГ) в

динамике. Из 40 женщин п-КАГ была проведена только у 9, что составляло менее четверти пациентов (22,5±6,6%). Учитывая малый размер выборки среди женщин, в дальнейшем в исследование по оценке прогрессирования атеросклероза КА у носителей различных полиморфизмов *rs1800470* гена *TGF-β1* и *rs1333049* локуса 9p21.3 были включены только мужчины, повторно госпитализированные в региональный и первичные сосудистые центры г. Красноярска: КГБУЗ «Красноярская межрайонная клиническая больница №20 им. И.С. Берзона», ФГБУ "Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии", КГБУЗ «Красноярская межрайонная клиническая больница скорой медицинской помощи имени Н.С. Карповича» и КГБУЗ «Краевая клиническая больница» в период с 2015 по 2019 годы и удовлетворявшие следующим критериям: 1) ИМ в анамнезе; 2) наличие данных предшествующей КАГ; 3) возраст ≤ 65 лет; 4) европеоидная раса; 5) подписанная форма добровольного информированного согласия. Научное исследование одобрено Этическим комитетом ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф.Войно-Ясенецкого Минздрава России (протокол № 79/2017 от 22.11.2017 г.).

Из 216 мужчин п-КАГ была проведена 89 пациентам, что составило 41,2±3,3%. Период между и-КАГ и п-КАГ составил 28 [17; 64] месяцев (от 5 до 103 месяцев), у 82 из 89 (92,1±2,9%) пациентов данный период превышал один год.

В ходе обследования и сбора анамнестических данных у всех участников исследования выявлялись следующие факторы риска развития ССЗ: наличие артериальной гипертонии (АГ) и/или сахарного диабета (СД), статус курения, наличие отягощенной наследственности по ИБС (ИМ, стенокардия напряжения, случаи внезапной сердечной смерти (ВСС) у родителей), избыточная масса тела (ИМТ ≥ 25,0 кг/м^2 по формуле Quetelet) и гиперхолестеринемия (уровень ОХс более 5 ммоль/л). Более подробная характеристика исследуемой группы представлена в таблице 2.

Таблица 2 – Характеристика мужчин исследуемой группы

Признаки		Количество
		абс. (%±m)
Наличие избыточной масс тела и ожирения	Нет (ИМТ 18.5–24.9)	50 (56.2±5.1)
	Да (ИМТ ≥ 25)	39 (43.8±5.1)
Статус курения	Нет	11 (12.4±3.5)
	Да	71 (79.8±4.3)
	В прошлом	7 (7.9±2.9)
Артериальная гипертония в анамнезе		58 (65.2±5.1)
Сахарный диабет в анамнезе		9 (10.1±3.2)
Наличие гиперхолестеринемии		63 (70.8±4.8)
Отягощенная наследственность		39 (43.8±5.3)

По данным и-КАГ односсудистое поражение КА выявлено у 25 (28,1±4,8%) больных, двухсосудистое у 42 (47,2±5,3%) мужчин, трехсосудистое у 22 (24,7±4,6%) пациентов. Проксимальный тип атеросклеротического поражения КА был выявлен у 65 пациентов, что составляет 73,0±4,7%. По данным п-КАГ в динамике односсудистое поражение КА выявлено у 23 (25,8±5,6%) больных, двухсосудистое у 35 (39,3±5,2%) мужчин, трехсосудистое у 31 (34,8±5,1%) пациента. Проксимальный тип атеросклеротического поражения КА был выявлен у 69 пациентов, что составляет 77,5±4,4%.

Молекулярно-генетическое исследование проводилось в лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН (г. Новосибирск). Полиморфизм генов тестировали с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени в соответствии с протоколом фирмы производителя (зонды TaqMan, AppliedBiosystems, США) на приборе AB 7900HT.

Статистическая обработка полученных данных выполнялась с использованием программ SPSS версии 22.0 и BioStat 4.03 для Windows [Бююль А. (2005), Гланц С. (1998)]. Описательная статистика результатов исследования представлена для качественных признаков в виде процентных долей и их стандартных ошибок (m), для количественных признаков, подчиняющихся закону нормального распределения, в виде средних арифметических (M) и стандартных отклонений (σ), в случае несоответствия закону нормального распределения – в виде медианы (Me) и квартилей (Q_1; Q_3). Проверка нормальности распределения значений переменных в группах наблюдения проводилась с использованием критерия Шапиро-Уилка. В исследовании были применены: непараметрический критерий $\chi 2$ Пирсона с поправкой на непрерывность, точный критерий Фишера, непараметрический ранговый критерий Краскела-Уоллиса с последующим попарным сравнением по критерию Манна-Уитни**,** корреляционный анализ с помощью непараметрического критерия Спирмена, непараметрический ранговый критерий знаковых рангов Вилкоксона, оценка функции выживаемости Каплана-Майера согласно лог-ранговому критерию Мантела-Кокса и критерию Бреслау, метод множественного логистического регрессионного анализа, операционные характеристические кривые наблюдателя (анг. Receiver Operating Characteristic curve или, сокращенно, ROC-curve). Критический уровень статистической значимости при проверке нулевой гипотезы принимали при 95% уровне значимости ($p<0,05$).

Результаты собственных исследований

Первый этап исследования заключался в изучении ассоциации генотипов *rs1800470* гена *TGF-β1* и *rs1333049* локуса 9p21.3 с тяжестью атеросклероза КА, оцениваемой по следующим ангиографическим критериям: наличие многососудистого и/или проксимального типа поражения КА, а также значению индекса Gensini. Пациенты, не имевшие атеросклеротического поражения КА (13 мужчин и 4 женщины), были исключены из дальнейших расчетов.

При проведении анализа выявлено, что риск более тяжелого атеросклероза КА выше у мужчин, носителей аллеля А (гомозиготный генотип АА и гетерозиготный генотип AG) *rs1800470* гена *TGF-β1* и носителей гомозиготного генотипа CC *rs1333049* локуса 9p21.3. Учитывая превалирование мужского пола (203 мужчины и 36 женщин в исследуемой группе) анализ ассоциативных связей проводился с учетом гендерных различий.

Так риск развития (ОШ) многососудистого поражения КА у мужчин, носителей аллеля А *rs1800470* гена *TGF-β1* составил 3,11 [95% ДИ: 1,48–6,55], p=0,002. При этом риск стенозирующего поражения проксимальных отделов КА у носителей аллеля А *rs1800470* гена *TGF-β1*: ОШ=2,34 [95% ДИ: 1,06–5,14], p=0,031. При сопоставимых медианах (AA/AG/GG = 43,0/40,0/42,0) верхний квартиль (Q_3) у носителей аллеля риска А был статистически значимо выше (AA/AG/GG = 82,0/83,0/59,0; p=0,028).

Гомозиготный генотип CC *rs1333049* локуса 9p21.3 также был ассоциирован с тяжестью атеросклероза КА, увеличивая риск развития многососудистого поражения вдвое: ОШ=2,10 [95% ДИ: 1,09–4,08], p=0,026. Значение медианы (Me) индекса Gensini было статистически значимо выше у носителей гомозиготного генотипа риска CC *rs1333049*: генотип CC – 71,0; генотип CG – 46,0; генотип GG – 42,0 (p=0,001), а верхний квартиль (Q_3) у носителей этого гомозиготного варианта риска был максимальным в изучаемой группе: CC/CG/GG = 98,0/54,0/58,0; p=0,008.

У женщин статистически значимых ассоциаций ОНП *rs1800470* гена *TGF-β1* и *rs1333049* локуса 9p21.3 с ангиографической характеристикой коронарного атеросклероза выявлено не было.

Таким образом, на первом этапе работы была убедительно доказана ассоциация гомозиготного генотипа риска по аллелю С *rs1333049* локуса 9p21.3 и носительства аллеля А *rs1800470* гена *TGF-β1* с тяжестью атеросклеротического поражения коронарного бассейна у мужчин. Учитывая это, необходимо было определить степень автокорреляции обоих ОНП. В

результате проведенного анализа с помощью непараметрического критерия Спирмена между гомозиготными генотипами СС *rs1333049* и АА *rs1800470* выявлена слабая взаимосвязь между исследуемыми ОНП (коэффициент корреляции (rs) ниже 0,2). Коэффициент корреляции между обоими ОНП *rs1333049* и *rs1800470* и многососудистым поражением у мужчин был равен 0,001 (p=0,040), а тяжелой степенью поражения КА (индекс Gensini>80 баллов) был отрицательным (-0,060) при значении p=0,023. Полученные данные свидетельствовали о необходимости изучения на последующих этапах работы генотипов обоих ОНП.

Следующим этапом нашего исследования было изучение динамических изменений атеросклеротического процесса КА. Помимо количественной оценки ангиографических данных фиксировались темпы прогрессирования у носителей различных генотипов *rs1800470* и *rs1333049*. Учитывая превалирование мужского пола в изучаемой выборке, дальнейшее исследование проводилось у мужчин. Проспективное наблюдение проводилось с периодичностью каждые 6 месяцев, осуществляя контроль (телефонный звонок, очный осмотр) за приверженностью к назначенной терапии, повторными сосудистыми катастрофами, проведением КАГ и ЧКВ в динамике. По различным объективным причинам (летальный исход, смена региона проживания и т.д.) количество пациентов, находившихся под динамическим наблюдением, сократилось за время исследования на 38 человек. Таким образом, проспективное наблюдение проведено 165 из 203 мужчин (81,3±2,7%), исходно имевших коронарный атеросклероз. За время наблюдения 89 из 165 пациентов (53,9±3,9%) была проведена повторная КАГ. Период между двумя КАГ составил 28 [17; 64] месяцев (от 5 до 103 месяцев). В период лечения индексного ИМ 80 из 89 (89,9±3,2%) больных была проведена интервенционная реперфузия, 79 из них в результате вмешательства было имплантировано 122 стента (27 стентов с лекарственным покрытием – 22,1±3,8% и 95 голометаллических стентов – 77,9±3,8%). По данным п-КАГ из данной группы

пациентов интервенционная реперфузия в стационаре проведена 23 (25,8±4,6%) больным, 20 из них в результате ЧКВ было имплантировано 22 стента. При подсчете индекса Gensini сегменты КА, стентированные как при инициальном, так и при повторном ЧКВ исключались.

В сравнении результатов обеих КАГ выявлено, что у носителей рискового аллеля А *rs1800470* гена *TGF-β1* наблюдалось более выраженное прогрессирование коронарного атеросклероза. Так, по данным п-КАГ у мужчин, носителей аллеля А *rs1800470,* отмечалось статистически значимое увеличение Me индекса Gensini при п–КАГ в сравнении с и-КАГ: 70,0 и 36,0, соответственно (p<0,001); у носителей гомозиготного генотипа GG данный показатель был равным 48,0 (п-КАГ) и 40,0 (и-КАГ), p=0,066.

Анализ ассоциаций полиморфных вариантов *rs1333049* локуса 9p21.3 с прогрессированием коронарного атеросклероза не выявил значимого влияния. Так, у носителей гомозиготного генотипа CC *rs1333049* выявлено статистически значимое увеличение значения Me индекса Gensini по данным п–КАГ в сравнении с и–КАГ: 72,0 и 42,0, соответственно (p<0,001). Но подобные изменения отмечены и у носителей аллеля G *rs1333049* локуса 9p21.3: 48,0 (п-КАГ) и 36,0 (и-КАГ), p<0,001. У носителей аллеля C и гомозиготного генотипа GG *rs1333049* локуса 9p21.3 прирост медианы индекса Gensini по данным п-КАГ в сравнении с и-КАГ не являлся статистически значимым: для аллеля C – 54,0 (п–КАГ) и 49,0 (и–КАГ), p=0,196; для генотипа GG – 46,0 и 37,0, соответственно (p=0,088).

Таким образом, было установлено, что наличие аллеля А *rs1800470* гена *TGF-β1* является предиктором более агрессивного течения коронарного атеросклероза, в то время как носители гомозиготного генотипа GG *rs1800470* гена *TGF-β1* имеют более благоприятное течение заболевания.

Оценка скорости прогрессирования атеросклероза КА в связи с этим представляла особую значимость. С этой целью нами были использованы следующие критерии – увеличение индекса Gensini на 20% и 30% от исходного

уровня (показатели, использовавшиеся в расчете выживаемости Каплан-Майер). На рисунке 2 наглядно отражено значительно более быстрое ухудшение состояния коронарного русла у носителей аллеля А *rs1800470* гена *TGF-β1* в сравнении с больными, имевшими гомозиготный генотип GG. Так, увеличение индекса Gensini на 20% от исходного отмечалось уже к седьмому месяцу наблюдений (p=0,013). Различия между носителями аллеля А и гомозиготного генотипа GG *rs1800470* гена *TGF-β1* по более жесткому критерию (увеличение индекса Gensini на 30% от исходного) статистически значимыми становились к пятому месяцу наблюдений (p=0,003). Вероятнее всего, это было обусловлено отсутствием случаев увеличения индекса Gensini на 30% от исходного среди носителей генотипа GG *rs1800470* гена *TGF-β1*. В дальнейшем в течение всего периода наблюдения выявленные различия сохраняли статистическую значимость.

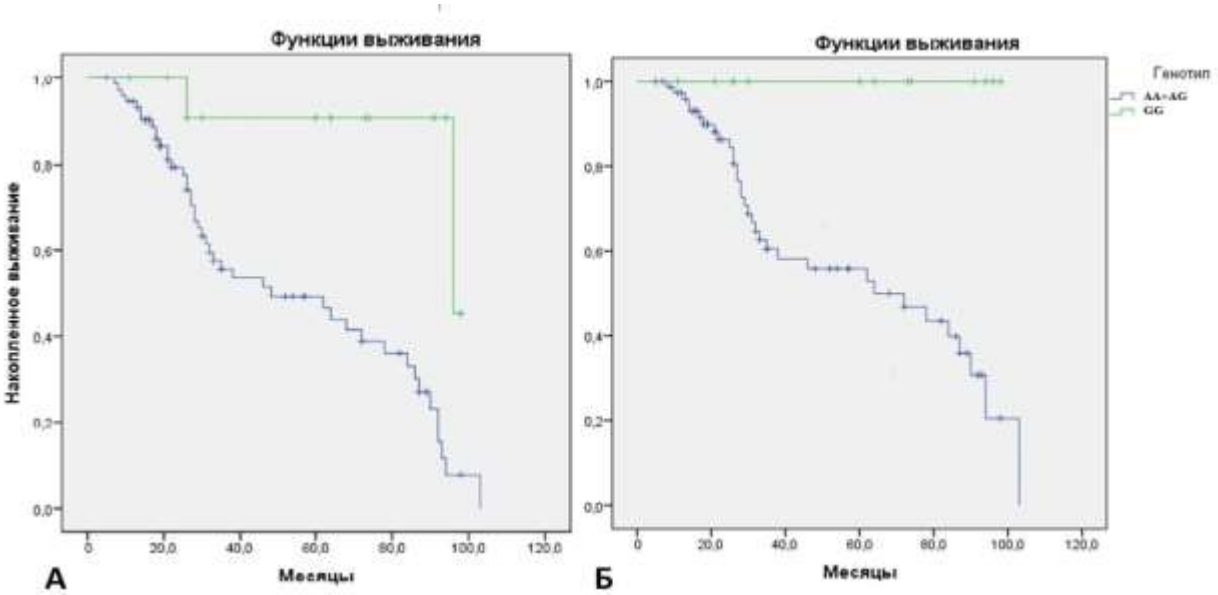


Рисунок 2. Динамика прогрессирования коронарного атеросклероза по данным ангиографии у носителей генотипов *rs1800470* гена *TGF-β1*: А – увеличение индекса Gensini на 20% от исходного; Б – увеличение индекса Gensini на 30% от исходного

При проведении аналогичного анализа у носителей различных генотипов *rs1333049* локуса 9p21.3 ассоциации с темпами прогрессирования коронарного атеросклероза не выявлено.

Таким образом, нами было установлено статистически значимое ускорение темпов прогрессирования коронарного атеросклероза у мужчин, носителей аллеля риска А *rs1800470* гена *TGF-β1*, по сравнению с носителями гомозиготного генотипа GG. Полученные данные имеют крайне важный аспект в отношении возможности их практического использования – стратификации больных, которым стоит рекомендовать проведение контрольной КАГ в более ранние сроки.

Логичным завершением нашей работы явилось определение независимой роли *rs1800470* гена *TGF-β1* и *rs1333049* локуса 9p21.3 в прогнозировании ухудшения состояния коронарного русла в динамике, для чего был использован метод множественного логистического регрессионного анализа. Прогрессирование атеросклероза КА оценивалось на основании ухудшения показателей индекса Gensini по данным п-КАГ относительно и-КАГ на 20% (т.к. 30% и более ухудшения у носителей гомозиготного генотипа GG в рамках настоящего исследования не зафиксировано). В качестве возможных условий для прогрессирования атеросклеротического поражения коронарного русла оценивались следующие общепризнанные факторы риска ССЗ: пол (группа риска – мужчины), возраст (участники исследования в возрасте от 32 до 65 лет), наличие избыточной массы тела или ожирения (ИМТ≥25,0 кг/м^2), курение (курильщик на момент исследования или в анамнезе), наличие СД и/или АГ, отягощенная наследственность по ИБС, гиперхолестеринемия (ОХс>5,0 ммоль/л по данным биохимического анализа крови). Кроме вышеописанных критериев в модель было включено в качестве отдельного фактора риска носительство аллеля А *rs1800470* гена *TGF-β1*.

Возрастные группы (классификация ВОЗ) – молодой возраст (до 44 лет включительно), средний возраст (от 45 до 59 лет) и пожилой – 60 лет и старше. Логично было предположить, что наибольшее значение генетический фактор

риска (носительство аллеля А *rs1800470* гена *TGF-β1*) ухудшения состояния коронарного русла должен иметь у молодых мужчин с постепенным снижением удельного веса с возрастом ввиду усиления влияния таких факторов риска как, курение и наличие сопутствующих заболеваний. Однако, при выделении отдельно группы лиц молодого возраста и сравнении с группой исследуемых 45 лет и старше, статистически значимого результата получено не было ($p>0,05$), а модель была несогласованной по критерию Хосмера – Лемешева. Причиной такому результату, по всей видимости, является малое количество участников группы молодого возраста (19 человек) в целом и носителей гомозиготного генотипа GG *rs1800470* гена *TGF-β1* (1 человек) в частности. Этим же обстоятельством объясняется невозможность построения рабочей модели при сравнении лиц молодого возраста с мужчинами до 59 лет. При выделении группы лиц пожилого возраста и сопоставлении их с остальными участниками исследования значимого результата вновь получено не было ($p>0,05$) – генетический фактор не имел статистически значимого влияния на прогрессирование атеросклероза КА, что является вполне логичным, учитывая коморбидность пожилых пациентов.

При проведении анализа среди лиц среднего возраста и пожилых пациентов, было выявлено статистически значимое влияние носительства аллеля А *rs1800470* гена *TGF-β1*. Была получена рабочая модель при выборе зависимой переменной ухудшения 20% индекса Gensini в динамике, выраженная следующим уравнением:

$$\ln\left(\frac{p}{1-p}\right) = \frac{1}{1+e^{-(0,61-1,77x_1-1,11x_2)}}, \quad (1)$$

где

p – вероятность прогрессирования атеросклероза КА (20% ухудшение),

x_1 – носительство аллеля А *rs1800470* гена *TGF-β1*(b_1= -1,77),

x_2 – гиперхолестеринемия(b_2= -1,11),

константа b_0 = 0,61.

Полученная модель, являясь статистически значимой, включает в себя два шага. Статистически значимость построенной модели оценивалась на основании критерия Хи-квадрат с допустимым значением <0,05, в нашем случае – 0,038. Таким образом, значимыми являлись два показателя: гиперхолестеринемия и носительство аллеля А *rs1800470* гена *TGF-β1*. Эти два параметра были включены системой в пошаговую модель.

На основании вышеописанной модели был проведен анализ вклада таких факторов риска, как гиперхолестеринемия и носительство аллеля А *rs1800470* гена *TGF-β1*, в общий риск прогрессирования коронарного атеросклероза и развития ИБС с помощью ROC-кривых (рисунок 3).

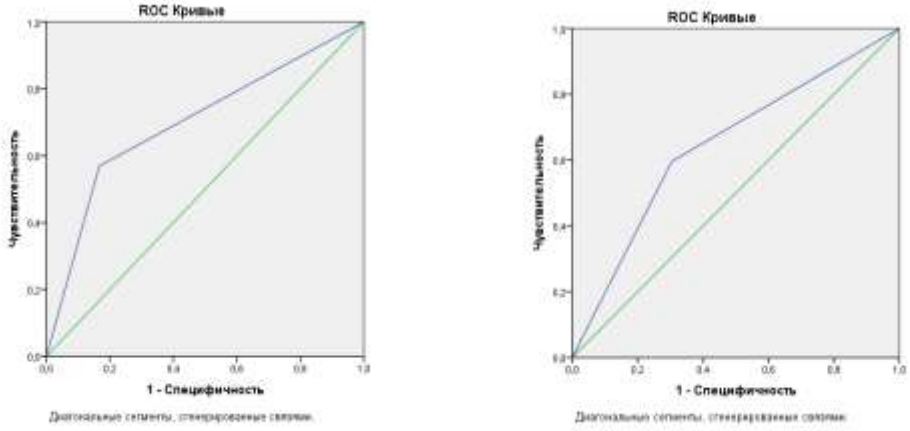


Рисунок 3. Анализ вклада аллеля А *rs1800470* гена *TGF-β1* (слева) и гиперхолестеринемии (справа) в прогрессировании атеросклероза КА с помощью ROC-кривых

Согласно построенной ROC-кривой, наибольшая площадь (характеристика качества классификации) под кривой, соответствует носительству аллеля А *rs1800470* гена *TGF-β1* и равна 0,701 (p=0,029).

Включение носительства гомозиготного генотипа СС *rs1333049* локуса 9p21.3 отдельным фактором риска при проведении множественного регрессионного анализа результатов не дало. Самостоятельного значения в прогрессировании атеросклероза КА носительство гомозиготного генотипа СС ОНП *rs1333049* локуса 9p21.3 при проведении расчетов также не показало.

Результатом данного этапа исследования является доказанное независимое предикторное значение носительства аллеля А *rs1800470* гена *TGF-β1* в прогрессировании атеросклероза КА, наряду с гиперхолестеринемией – общепринятым фактором риска ИБС. Однако, существенным ограничением нашего исследования является субъективность получаемой от пациента информации о соблюдении предписанных рекомендаций по медикаментозной терапии, а также отсутствие контроля эффективности лечения, в частности, достижения целевых уровней ОХс и других показателей липидного профиля.

В заключении стоит отметить, что доказанное независимое влияние носительства рискового аллеля А *rs1800470* гена *TGF-β1* на прогрессирование коронарного атеросклероза у мужчин молодого и среднего возраста (до 60 лет) делает возможным его включение в стратификацию риска ИБС у данной группы населения. Раннее выявление группы повышенного риска ИБС является основой первичной профилактики данной патологии, а, следовательно, экономически обусловлено ввиду снижения инвалидизации и смертности среди работоспособного населения.

Выводы

1. Гомозиготный генотип CC *rs1333049* локуса 9p21.3 увеличивает риск развития многососудистого поражения коронарных артерий у мужчин в сравнении с носителями аллеля G (ОШ=2.10 [95% ДИ: 1.09–4.08], p=0.026). Медиана (Me) индекса Gensini статистически значимо выше у носителей гомозиготного генотипа риска CC *rs1333049:* генотип CC – 71,0; генотип CG – 46,0; генотип GG – 42,0 (p=0,001).
2. Носительство аллеля А *rs1800470* гена *TGF-β1* увеличивает риск развития многососудистого поражения коронарных артерий (ОШ=3.11 [95% ДИ: 1.48–6.55], p=0.002) и стенозирующего поражения проксимальных отделов коронарных артерий (ОШ=2.34 [95% ДИ: 1.06–5.14], p=0.031) у мужчин в сравнении с носителями гомозиготного генотипа GG.
3. Носительство аллеля А *rs1800470* гена *TGF-β1* является молекулярно-генетическим маркером прогрессирования атеросклероза коронарного бассейна

у мужчин: медиана (Me) индекса Gensini по данным ангиографии в динамике через 28 [17; 64] месяцев у носителей аллеля А *rs1800470* гена *TGF-β1* увеличивалась с 36,0 до 70,0 (p<0,001), в сравнении с носителями гомозиготного генотипа GG – с 40,0 до 48,0 (p=0,066).

4. Наличие в генотипе аллеля А *rs1800470* гена *TGF-β1* у мужчин ассоциируется с большей скоростью прогрессирования коронарного атеросклероза: различия между носителями аллеля А и гомозиготного варианта GG гена *TGF-β1* становились статистически значимыми через 5 месяцев (прирост индекса Gensini на 30%, p=0,003), через 7 месяцев (прирост индекса Gensini на 20%, p=0,013).

5. В регрессионной модели полиморфные варианты генотипа *rs1800470* гена *TGF-β1* продемонстрировали независимое предикторное значение в увеличении темпов прогрессирования коронарного атеросклероза у мужчин до 60 лет, наряду с гиперхолестеринемией (наибольшая площадь под ROC-кривой 0,701, p=0,029).

Практические рекомендации

1. Для выделения пациентов высокого риска развития ИБС, особенно среди трудоспособного населения, целесообразно включить в имеющиеся на данный момент калькуляторы сердечно-сосудистого риска генотипирование *rs1800470* гена *TGF-β1* и *rs1333049* локуса 9p21.3, являющихся предикторами тяжелого атеросклероза коронарного русла у мужчин. Выявление аллеля А *rs1800470* гена *TGF-β1* и гомозиготного генотипа CC *rs1333049* локуса 9p21.3 может способствовать определению группы пациентов, нуждающихся в активных мероприятиях по первичной профилактике и диспансерном наблюдении.

2. Текущие клинические рекомендации (ESC, 2018) регламентируют проведение повторной КАГ после ЧКВ или АКШ только при наличии клинических показаний. Плановый ангиографический контроль через 3–12 месяцев показан пациентам, перенесшим эндопротезирование ствола ЛКА или имеющим сохранившиеся некорригированные стенозы. Генотипирование

rs1800470 гена *TGF-β1* и выявление в генотипе аллеля А позволяет стратифицировать пациентов, имеющих риск быстрого прогрессирования атеросклероза КА в течение 5-7 месяцев, и определить индивидуальную программу углубленного обследования и мониторинга, включая решение вопроса о проведении повторной КАГ.

Список опубликованных работ по теме диссертации

Статьи в изданиях, рекомендованных ВАК

1. Брусенцов, Д.А. Ассоциация полиморфных вариантов RS1800470 гена трансформирующего ростового фактора В1 (TGF-B1) с тяжестью коронарного атеросклероза / Брусенцов Д.А., Никулина С.Ю., Шестерня П.А., Чернова А.А. // Российский кардиологический журнал. -2018. - Т.23. - №10. - С.43-47.
2. Брусенцов, Д.А. Ангиографическая динамика состояния коронарного русла после чрескожного коронарного вмешательства у носителей полиморфных вариантов RS1800470 гена TGF-B1 / Брусенцов Д.А., Никулина С.Ю., Шестерня П.А. // Российский кардиологический журнал. - 2019. - Т.24. - №8. - С.77-82.
3. Брусенцов, Д.А. Новые возможности в определении сроков проведения контрольной коронароангиографии после чрескожного коронарного вмешательства / Брусенцов Д.А., Шестерня П.А. // Acta Biomedica Scientifica. - 2020. - Т.5, №4. - С.51-59.

Научные статьи и тезисы

4. Брусенцов, Д.А. Ассоциация полиморфных вариантов RS1800470 гена TGF-B1 с темпами прогрессирования коронарного атеросклероза после интервенционного вмешательства / Брусенцов Д.А., Шестерня П.А., Никулина С.Ю. // Современная медицина: новые подходы и актуальные исследования: сборник статей по материалам XXIII международной научно-практической конференции. - Москва, Интернаука. - 2019. - С.18-23.
5. Брусенцов, Д.А. Темпы развития позднего рестеноза коронарного стента у носителей различных вариантов RS1800470 гена TGF-B1 / Брусенцов Д.А., Никулина С.Ю., Шестерня П.А. // Инновации в медицине. Материалы I международной научно-практической конференции 30 мая 2019 года. - Махачкала, ФГБОУ ВО ДГМУ Минздрава России. - 2019. - С.285-289.
6. Nikulina, S.Yu. Clinical application of chromosome 9p21.3 genotyping in patients with coronary artery disease / Nikulina S.Yu., Artyukhov I.P., Shesternya P.A., Gavrilyuk O.A., Maksimov V.N., Voyevoda M.I., Brusentsov D.A. // Experimental and Therapeutic Medicine. - 2019. - V.18. - №4. - P.3100-3108.
7. Брусенцов, Д.А. Ассоциация полиморфных вариантов rs1800470 гена TGF-B1 с атеросклерозом коронарного русла у мужчин по данным ангиографии / Брусенцов Д.А., Шестерня П.А., Никулина С.Ю. // Сборник статей XXIV международной научно-практической конференции «Российская наука в современном мире». - Москва, Актуальность.РФ. - 2019. - С.35-38.

8. Брусенцов, Д.А. Ассоциация полиморфных вариантов RS1800470 гена TGF-B1 с развитием поздних рестенозов стента после чрескожного коронарного вмешательства / Брусенцов Д.А., Никулина С.Ю., Шестерня П.А. // Российский национальный конгресс кардиологов 2019. - Екатеринбург, Российское кардиологическое общество. - 2019. - С.302.
9. Брусенцов, Д.А. Прогрессирование коронарного атеросклероза по данным коронароангиографии у носителей различных вариантов RS1800470 гена TGF-B1 / Брусенцов Д.А., Никулина С.Ю., Шестерня П.А. // Российский национальный конгресс кардиологов 2019. - Екатеринбург, Российское кардиологическое общество. - 2019. - С.378.
10. Брусенцов, Д.А. Развитие поздних рестенозов стента у носителей различный вариантов RS1800470 гена TGF-B1 / Брусенцов Д.А., Шестерня П.А., Никулина С.Ю. // Материалы V Всероссийской научной конференции молодых специалистов, аспирантов, ординаторов: Инновационные технологии в медицине: взгляд молодого специалиста. - Рязань, ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. - 2019. - С.38-39.
11. Брусенцов, Д.А. Ассоциация полиморфных вариантов RS1800470 гена TGF-B1 с прогрессированием атеросклероза коронарных артерий / Брусенцов Д.А., Шестерня П.А., Никулина С.Ю. // Материалы V Всероссийской научной конференции молодых специалистов, аспирантов, ординаторов Инновационные технологии в медицине: взгляд молодого специалиста. - Рязань, ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. - 2019. - С.40-41.
12. Брусенцов, Д.А. Генетические предикторы развития поздних рестенозов стента в российской популяции / Брусенцов Д.А. // НАУКА И ИННОВАЦИИ В XXI ВЕКЕ: АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ, ОТКРЫТИЯ И ДОСТИЖЕНИЯ: сборник статей XX Международной научно-практической конференции. - Пенза, МЦНС «Наука и Просвещение». - 2020. - С.154-158.
13. Брусенцов, Д.А. Генетический подход в прогнозировании развития поздних рестенозов стента после чрескожного коронарного вмешательства у мужчин / Брусенцов Д.А. // Материалы 87-й Всероссийской Байкальской научно-практической конференции молодых учёных и студентов с международным участием «Актуальные вопросы современной медицины». - Иркутск, ИНЦХТ. - 2021. - С.365-366.

Список использованных сокращений

АГ – артериальная гипертония,
АКШ – аортокоронарное шунтирование,
ВАК – Высшая аттестационная комиссия,
ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения,
ВСС – внезапная сердечная смерть,
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота,
ИБС – ишемическая болезнь сердца,
ИМ – инфаркт миокарда,
ИМТ – индекс массы тела,
КА – коронарные артерии,

КАГ – коронарная ангиография,
КГБУЗ – краевое государственное бюджетное учреждение здравоохранения,
ЛКА – левая коронарная артерия,
НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН – Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины - филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения "Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук",
ОВ – огибающая ветвь,
ОНП – однонуклеотидный полиморфизм,
ОХс – общий холестерин,
ПКА – правая коронарная артерия,
ПМЖВ – передняя межжелудочковая ветвь,
СД – сахарный диабет,
ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания,
ФГБОУ ВО – федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования,
ФР – фактор риска,
ЧКВ – чрескожное коронарное вмешательство,
ESC – European Society of Cardiology,
TGF-B1 – Transforming growth factor beta-1.