

Прогностическое значение полиморфизма генов тромбоцитарных рецепторов для оценки риска развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у больных ишемической болезнью сердца

Цель работы – изучить распространенность сочетаний генотипов полиморфных сайтов генов тромбоцитарных рецепторов (T924C гена рецептора тромбоксана A2 и C807T гена гликопротеина Ia) и их возможную ассоциацию с риском развития сердечно-сосудистых событий у больных ишемической болезнью сердца (ИБС).

Материалы и методы. В исследование был включен 271 больной с хроническими формами ИБС, находившийся на стандартной медикаментозной терапии. Период наблюдения для оценки течения заболевания составил $(27,8 \pm 7,8)$ мес. Конечными точками исследования считали общую и сердечно-сосудистую смертность, инфаркт миокарда, нестабильную стенокардию, необходимость в реваскуляризации миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения. Генотипирование полиморфных сайтов T924C гена рецептора тромбоксана ТВХА2R (rs4523) и C807T гена гликопротеина Ia (rs1126643) проводили методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом длины рестрикционных фрагментов. Оценку тенденции течения заболевания проводили путем построения кумулятивных кривых по Каплану–Мейеру.

Результаты и обсуждение. Распределение генотипов полиморфизма T924C гена ТВХА2R в обследованной группе пациентов было следующим: ТТ-генотип – 12,9 %; СТ-генотип – 46,1 %, СС-генотип – 40,9 %. Частота развития сердечно-сосудистых событий у пациентов с ТТ-генотипом ($\chi^2 = 6,11$; $p = 0,01$) и с СС-генотипом ($\chi^2 = 4,84$; $p = 0,03$) была выше, чем у ТС-гетерозигот. Группы гомозигот по распространенному Т и минорному С аллелям достоверно не отличались ($\chi^2 = 0,68$; $p = 0,41$). При построении кумулятивных кривых по Каплану – Мейеру установлено, что относительное количество пациентов со стабильным течением заболевания на протяжении 36 мес в группе с ТТ-генотипом полиморфизма T924C гена ТВХА2R достоверно меньше, чем в группе с (СС + СТ)-генотипами (лог-ранговый критерий = $-2,04$; $p = 0,04$). Частота встречаемости генотипов СС, СТ и ТТ полиморфизма C807T гена ITGA2 составила 36,6, 44,9 и 18,5 % соответственно. Частота развития конечных точек в группах пациентов с разными генотипами полиморфизма C807T гена ITGA2 на протяжении периода наблюдения достоверно не отличалась. Построение кривых Каплана–Мейера в группах пациентов с различными генотипами полиморфного сайта C807T гена ITGA2 не выявило достоверных различий (лог-ранговый критерий = $-0,24$; $p = 0,81$). Сочетание ТТ-генотипа полиморфизма C807T гена ITGA2 и ТТ-генотипа полиморфизма T924C гена ТВХА2R повышает устойчивость связи с вероятностью развития конечных точек (лог-ранговый критерий = $-3,48$; $p = 0,02$).

Выводы. Носители ТТ-генотипа полиморфизма T924C гена ТВХА2R имеют достоверно худший 36-месячный прогноз стабильного течения заболевания по сравнению с дикими гомозиготами и гетерозиготами. Полиморфизм C807T гена ITGA2 не связан с риском развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у пациентов с ИБС при 36-месячном наблюдении, но может усиливать риски при комбинации с ТТ-генотипом полиморфизма T924C гена ТВХА2R.

Ключевые слова:

полиморфизм, гены рецепторов тромбоцитов ТВХА2R и ITGA2, сердечно-сосудистые события, ишемическая болезнь сердца.



О.Е. Запровальная,
Т.Н. Бондарь,
В.В. Рябуха,
Э.Н. Сердобинская-
Канивец,
О.В. Ткаченко,
Т.Г. Оврах

ГУ «Национальный институт терапии имени Л.Т. Малой НАМН Украины», Харьков

КОНТАКТНА ІНФОРМАЦІЯ

Запровальна Ольга Євгенівна
к. мед. н., ст. наук. співр.
відділу атеросклерозу
та ішемічної хвороби серця

61039, м. Харків,
просп. Любові Малої, 2ав
Тел. (057) 373-90-34
E-mail: zapovalna@mail.ru

Стаття надійшла до редакції
14 жовтня 2016 р.

Накопленные к настоящему времени результаты исследований полиморфизма генов, связанных с патогенезом сердечно-сосудистых заболеваний, позволяют утверждать, что изменения в генотипах системы гемостаза являются важной детерминантой как в развитии сердечно-сосудистых заболеваний, так и в эффективности антитромбоцитарной терапии. Исследование связи полиморфизма определенных генов с риском развития и течением заболевания позволяет приблизиться к оценке индивидуального генетически обусловленного риска и разработке дифференцированного подхода к профилактике и лечению в зависимости от генетических особенностей конкретного пациента [4–10, 13].

Результаты экспериментальных исследований свидетельствуют, что полиморфизмы тромбоцитарных рецепторов T924C (rs4523) гена рецептора тромбоксана A2 (TBXA2R) и C 807T (rs1126643) гена гликопротеина Ia (ITGA2) могут влиять на активность тромбоцитов [2–3, 11–12, 14, 16]. Известно, что замена 924T > C гена TBXA2R является синонимической мутацией, не приводящей к изменениям аминокислотной последовательности кодируемого белка, и не оказывает непосредственного влияния на функцию рецептора. Предполагают, что эффект полиморфизма 924T > C на функции тромбоцитов может быть опосредован влиянием на стабилизацию мРНК, эффективность трансляции или детерминацию синтеза рецепторов тромбоксана α - или β -типа через сайт альтернативного сплайсинга, находящегося непосредственно после сайта 924T > C [11]. Потенциальная значимость полиморфизма C807T гена ITGA2 в механизмах развития гиперактивности тромбоцитов определяется ключевой ролью адгезии тромбоцитов к фибриллярному коллагену через мембранные рецепторы GP Ia/IIa (α 2 β 1) в патогенезе артериальных окклюзионных нарушений. Предполагают, что пациенты с аллелем 807T гена ITGA2, у которых выявлена наибольшая плотность рецептора GP Ia/IIa, могут иметь повышенный потенциал адгезии тромбоцитов и, как следствие, повышенный риск сердечно-сосудистых заболеваний [2, 7, 12].

Однако клинические данные о значимости указанных полиморфных маркеров, как в механизмах развития гиперактивности тромбоцитов вообще, так и ее сохранения на фоне антитромбоцитарной терапии с использованием ацетилсалициловой кислоты, остаются довольно ограниченными и противоречивыми [5, 9].

Цель работы — изучить распространенность сочетаний генотипов полиморфных сайтов генов тромбоцитарных рецепторов (T924C гена рецеп-

Таблица 1. Клинико-anamнестическая характеристика больных ИБС, включенных в исследование (n = 271)

Показатель	(M \pm σ)/n, (%)
Возраст, годы (M \pm σ)	59,24 \pm 9,43
Мужчины	n (%) 184 (67,9)
Женщины	n (%) 85 (31,4)
Возраст манифестации ИБС, годы (M \pm σ)	54,18 \pm 9,46
Длительность ИБС, годы (M \pm σ)	7,12 \pm 5,95
Инфаркт миокарда в анамнезе, n (%)	179 (62,7)
Более одного инфаркта миокарда в анамнезе, n (%)	17 (6,3)
Стенокардия напряжения, n (%)	190 (70,1)
Гипертоническая болезнь, n (%)	256 (94,5)
Отягощенная наследственность по раннему развитию ССЗ (%)	175 (64,6)
Сахарный диабет II типа, n (%)	132 (48,7)
Индекс массы тела (ИМТ), кг/м ² (M \pm σ)	31,17 \pm 5,68
Ожирение (ИМТ > 30 кг/м ²), n (%)	143 (52,8)
Абдоминальное ожирение (объем талии/объем бедер > 1)	95 (35,1)
Табакокурение, n (%)	115 (42,4)

Примечание. Данные представлены в виде абсолютных и относительных частот — n (%) или среднее \pm стандартная ошибка среднего (M \pm σ).

тора тромбоксана A2 и C 807T гена гликопротеина Ia) и их возможную ассоциацию с риском развития сердечно-сосудистых событий у больных ишемической болезнью сердца (ИБС).

Материалы и методы

Обследован 271 пациент, который находился под наблюдением в ГУ «Национальный институт терапии имени Л.Т. Малої НАМН Украины» с хроническими формами ИБС (стабильная стенокардия напряжения II и III функционального класса, постинфарктный кардиосклероз). Диагноз устанавливали согласно рекомендациям Европейского общества кардиологов и соответствующим рекомендациям Ассоциации кардиологов Украины.

В соответствии с требованиями Хельсинкской декларации, все обследованные дали информированное согласие на участие в клиническом исследовании, в том числе и на генотипирование полиморфизма исследуемых генов.

Клиническая характеристика обследованных больных представлена в табл. 1.

Все больные ИБС получали стандартную терапию: ацетилсалициловую кислоту (75 мг), статины (аторвастатин 10–40 мг или розувастатин 10–20 мг), β -блокаторы (бисопролол 2,5–10 мг), ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента или сартаны в индивидуально подобранных дозах.

Период наблюдения составил ($27,8 \pm 7,8$) месяца. Конечными точками исследования считали общую и сердечно-сосудистую смертность, инфаркт миокарда (ИМ), нестабильную стенокардию (НС), реваскуляризацию миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения. Учитывали развитие других серьезных нежелательных явлений, не связанных с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Отдельную группу составили пациенты, у которых в течение периода наблюдения развилась фибрилляция предсердий (ФП), в силу чего они были переведены на антикоагулянтную терапию. Также проводили дополнительную оценку побочных эффектов антитромбоцитарной терапии в виде фатальных и нефатальных кровотечений, тромбоцитопении.

За указанный период наблюдения были зарегистрированы 75 неблагоприятных событий у 63 пациентов, из них у 51 пациента отмечено по 1 событию, и у 12 — по 2 неблагоприятных сердечно-сосудистых события (НС, ИМ, реваскуляризация). Распределение по типу событий представлено в табл. 2.

Кроме того, отмечено 3 случая геморрагических осложнений в виде малых кровотечений и 3 — тромбоцитопении (не включались в общее количество событий).

Генотипирование полиморфных сайтов T924C гена TBXA2R (rs4523) и C 807T гена гликопротеина Ia (rs1126643) проводили методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом длины рестрикционных фрагментов и электрофоретической схемой визуализации результата по описанной методике [7, 11]. ДНК для молекулярно-генетических исследований выделяли из цельной крови с использованием набора реактивов «ДНК-сорб-В» («Амплисенс», РФ) в соответствии с инструкцией. Амплификацию выделенной ДНК проводили в автоматическом режиме на термоциклере ТП4-ППР-01 «Терцик» с использованием набора реактивов GenePak PCR Core (Лаборатория Neogene, Украина) и специфичных праймеров (Thermo Scientific, Литва) [7, 11]. Для генотипирования указанных полиморфных сайтов полученные амплификаты подвергали гидролизу эндонуклеазами рестрикции: RsaI для T924C гена TBXA2R и BstVI для C807T гена ITGA2 (Thermo Scientific, Литва). Продукты рестрикции полиморфных участков генов TBXA2R и ITGA2 разделяли методом горизонтального электрофореза с последующей визуализацией результатов в УФ свете и фотографированием.

Анализ полученных данных проводили при помощи пакета статистических программ Excel for Windows и Statistica. Для количественных

Таблица 2. Неблагоприятные события у обследованных пациентов за период наблюдения

Вид события	Количество событий	% от общего количества неблагоприятных событий
Сердечно-сосудистая смерть	4	5,3
ИМ	8	10,7
НС	35	46,7
Острое нарушение мозгового кровообращения	3	4,0
Реваскуляризация	11	14,7
ФП	9	12,0
Рак	5	6,6

показателей проверку гипотезы о нормальном распределении проводили по показателю асимметрии. В случае нормального распределения данных статистические характеристики представляли в виде: количество наблюдений (n), среднее арифметическое ($M \pm \sigma$). Для оценки межгрупповых отличий качественных признаков использовали критерий χ^2 Пирсона. Для сравнения вероятности развития конечных точек в исследуемых группах пациентов рассчитывали отношения шансов (OR, odds ratio) с доверительным интервалом (CI) 95 %.

Характеристику общей тенденции стабильного течения заболевания у больных ИБС с разными генотипами исследованных полиморфных сайтов проводили путем анализа выживания с построением кумулятивных кривых по Каплану—Мейеру [1]. Оценку достоверности моделей проводили по тестам Вилкоксона—Пето, Кокса—Мантела и по лог-ранговому критерию. Для всех видов анализа отличия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Генотипы полиморфного сайта T924C (rs4523) гена TBXA2R (табл. 3) распределились следующим образом: ТТ-генотип — 12,9 %; СТ-генотип — 46,1 %, СС-генотип — 40,9 %, что соответствует равновесию Харди—Вайнберга ($X^2 = 0,0004$; $p = 0,98$) [15]. Для выявления возможной связи полиморфизма T924C гена TBXA2R с неблагоприятным течением заболевания был проведен анализ частоты развития неблагоприятных событий у пациентов с ИБС с разными генотипами указанного полиморфного сайта.

Установлено, что наименьшая частота развития общих и сердечно-сосудистых событий наблюдается у носителей гетерозиготного СТ-генотипа, а наибольшая — у пациентов с минорным ТТ-генотипом (табл. 3).

Таблиця 3. Частота розвитку неблагоприятних подій у пацієнтів з різними генотипами поліморфізму T924C гена TVXA2R (n = 271)

Вид події	СС (n = 111) СТ (n = 125) ТТ (n = 35)			Межгрупові відмінності, χ^2		
	1	2	3	1—2	1—3	2—3
Общі неблагоприятні події, n (%)	35 (31,5)	27 (21,6)	13 (37,1)	2,99 p=0,08	0,38 p = 0,54	3,52 p = 0,06
Серцево-судинні події, n (%)	33 (29,7)	22 (17,6)	13(37,1)	4,84 p = 0,03	0,68 p = 0,41	6,11 p = 0,01
ФП, n (%)	6 (4,5)	2 (1,6)	0	2,60 p = 0,11	1,97 p = 0,16	0,57 p = 0,45
Серцево-судинна смерть, n (%)	2 (1,8)	1 (0,8)	1(2,9)	0,47 p = 0,49	0,15 p = 0,70	0,74 p = 0,33
Рак, n (%)	2 (1,8)	5 (4,0)	0	0,99 p = 0,32	0,64 p = 0,42	1,45 p = 0,23

Примечание. Данные представлены в виде абсолютных и относительных частот — n (%).

Таблиця 4. Частота розвитку неблагоприятних подій у пацієнтів з різними генотипами поліморфізму C807T гена ITGA2 (n = 271)

Вид події	СС (n = 100)	СТ (n = 119)	ТТ (n = 52)	Межгрупові відмінності, χ^2		
				1—2	1—3	2—3
Общі неблагоприятні події, n (%)	28 (28,0)	32 (26,9)	15 (28,9)	0,03 p = 0,85	0,01 p = 0,91	0,07 p = 0,79
Серцево-судинні події, n (%)	27 (27,0)	29 (24,4)	14 (26,9)	0,20 p = 0,66	0,01 p = 0,99	0,13 p = 0,72
ФП, n (%)	5 (5,0)	3 (2,5)	0	0,95 p = 0,33	2,69 p = 0,10	1,33 p = 0,25
Серцево-судинна смерть, n (%)	2 (2,0)	1 (0,8)	1 (1,9)	0,54 p = 0,46	0,01 p = 0,97	0,37 p = 0,54
Рак, n (%)	1 (1,0)	3 (2,5)	1 (1,9)	0,70 p = 0,40	0,22 p = 0,64	0,06 p = 0,81

Примечание. Данные представлены в виде абсолютных и относительных частот — n (%).

Наиболее высокий риск развития сердечно-сосудистых событий отмечался у пациентов с гомозиготными генотипами: СС-генотип ($\chi^2 = 4,84$; $p = 0,03$), ТТ-генотип ($\chi^2 = 6,11$; $p = 0,01$) по сравнению с гетерозиготами, причем между собой группы гомозигот по распространенному и минорному аллелям достоверно не отличались ($\chi^2 = 0,68$; $p = 0,41$).

Поскольку при проведении предварительного анализа было установлено, что по ряду клинико-анамнестических характеристик пациенты с СТ-генотипом существенно не отличаются от диких гомозигот, на следующем этапе анализа носители СС- и СТ-генотипов были объединены в одну группу (n = 236). Частота развития ИМ и острого коронарного синдрома (ОКС) в группе носителей минорного ТТ-генотипа была достоверно выше, чем в объединенной группе с (СС + СТ)-генотипами: 34,0 % (12 событий у 35 пациентов) против 18,6 % (44 события у 236 пациентов) ($\chi^2 = 4,55$; $p = 0,033$).

Частота встречаемости генотипов СС, СТ и ТТ полиморфизма C807T гена ITGA2 составила 36,6, 44,9 и 18,5 % соответственно, что также достоверно не отклоняется от равновесия Харди–Вайнберга ($X^2 = 2,36$; $p = 0,12$) [15]. Достоверные различия частоты конечных точек в группах пациентов с разными генотипами полиморфизма C807T гена ITGA2 на протяжении периода наблюдения выявлены не были (табл. 4). Также не были выявлены отличия по частоте развития (ИМ + ОКС) в группе носителей (СС + СТ)-генотипов по сравнению с ТТ-генотипом:

20,5 % (45 из 219) против 25,0 % (13 из 52) соответственно ($\chi^2 = 0,74$; $p = 0,39$).

Неоднозначный характер полученных нами данных может быть обусловлен как недостаточным размером исследуемых групп, так и сложным характером взаимодействия других, не включенных в наше исследование, факторов и полиморфизмов, находящихся в неравновесном сцеплении с полиморфизмом T924C (rs4523) гена TVXA2R. Кроме того, учитывая полученные нами данные о наибольшей частоте развития неблагоприятных событий (в том числе смерти) и более раннем дебюте ИБС у носителей минорного ТТ-генотипа указанного полиморфизма, можно предположить, что часть пациентов с ТТ-генотипом, возможно, умирают в более молодом возрасте.

Для выявления связи между характером течения заболевания на фоне проводимой терапии и наличием определенных генотипов исследуемых полиморфизмов проводили анализ развития конечных точек в группах пациентов с различными генотипами и построением кумулятивных кривых по Каплану–Мейеру.

Установлено, что при 36-месячном периоде наблюдения относительное количество пациентов со стабильным течением заболевания является достоверно меньшим в группе с ТТ-генотипом полиморфизма T924C (rs4523) гена TVXA2R по сравнению с группой с (СС + СТ)-генотипами (рис. 1).

Таким образом, носители ТТ-генотипа полиморфизма T924C (rs4523) гена TVXA2R имеют достоверно худший трехлетний прогноз стабиль-

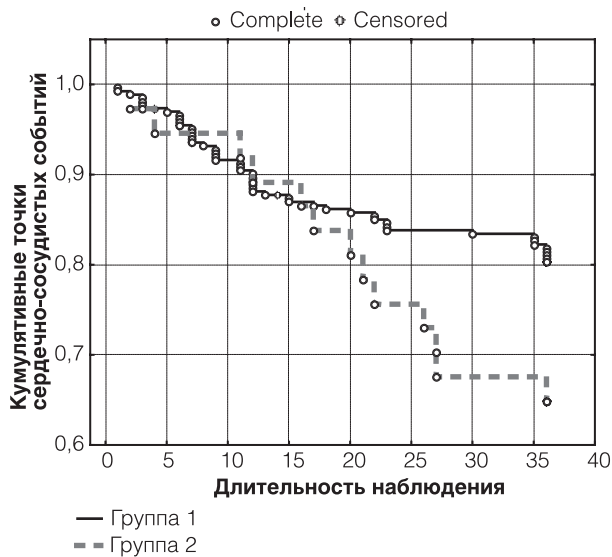


Рис. 1. Кривые выживания Каплана—Мейера у больных ИБС с разными генотипами полиморфизма T924C (rs4523) гена TBXA2R

Группа 1 — носители генотипов (CC + CT), группа 2 — носители генотипа TT. Значения критериев Кокса—Мантела = 2,04; $p = 0,04$; лог-рангового критерия = -2,04; $p = 0,04$; F-тест Кокса = 1,93; $p = 0,03$.

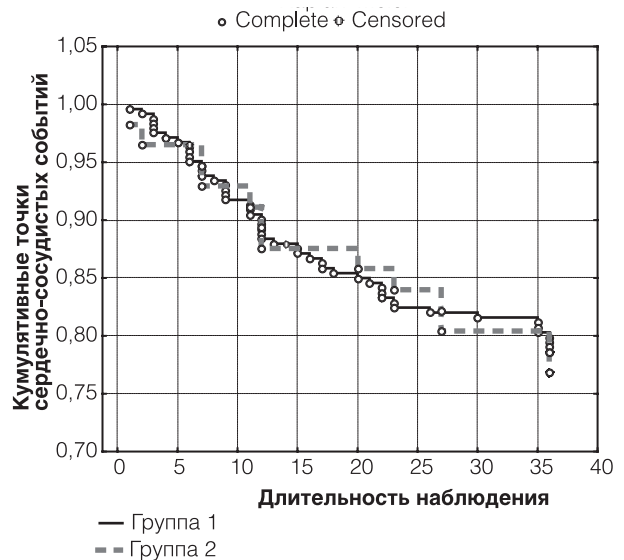


Рис. 2. Кривые выживания Каплана—Мейера у больных ИБС с разными генотипами полиморфизма C807T (rs1126643) гена ITGA2

Группа 1 — носители генотипов (CC + CT), группа 2 — носители генотипа TT. Значения критериев Кокса—Мантела = 0,24; $p = 0,81018$; лог-рангового критерия = -0,24; $p = 0,81$; F-тест Кокса = 1,10; $p = 0,41$.

ного течения заболевания по сравнению с дикими гомозиготами и гетерозиготами.

Построение кривых Каплана — Мейера в группах пациентов, распределенных в зависимости от генотипов полиморфного сайта C 807T (rs1126643) гена ITGA2, не выявило достоверных различий: относительное количество пациентов со стабильным течением заболевания в группе с (CC + CT)-генотипами не отличалось от группы с минорным TT-генотипом (рис. 2).

Таким образом, полиморфизм C 807T (rs1126643) гена ITGA2 не был связан с риском развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у пациентов с ИБС при 36-месячном наблюдении.

Для оценки вероятности развития сердечно-сосудистых событий у пациентов с разными сочетаниями генотипов исследуемых полиморфных сайтов рассчитывали OR. Установлено, что наличие TT-генотипа полиморфизма C 807T гена ITGA2 не связано с вероятностью развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий (OR = 1,07; 95 % CI [0,55–2,14]; $p = 0,84$). Связь между наличием TT-генотипа полиморфизма T924C гена TBXA2R и повышенной вероятностью развития сердечно-сосудистых событий выявляется только для 90 % уровня значимости (OR = 1,94; 95 % CI [0,94–4,11]; $p = 0,08$). Однако сочетание TT-генотипа полиморфизма C 807T гена ITGA2 и TT-генотипа полиморфизма T924C гена TBXA2R демонстрирует устойчивую

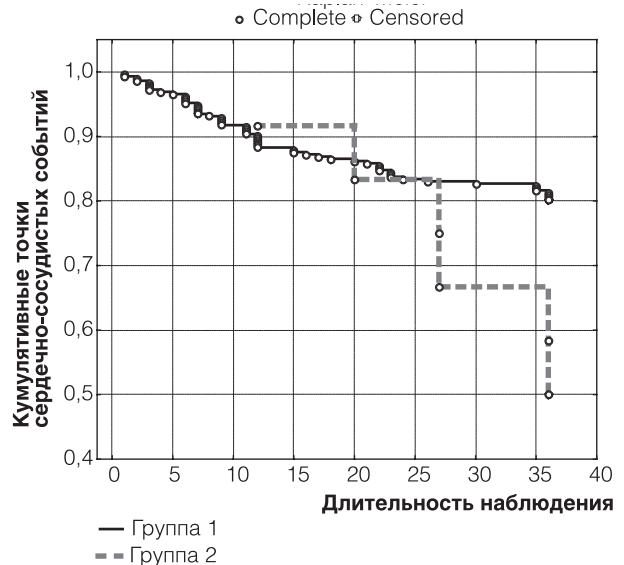


Рис. 3. Кривые выживания Каплана—Мейера у больных ИБС с разными комбинациями генотипов полиморфизмов T924C гена TBXA2R и C807T гена ITGA2

Группа 1 — носители одного и более С-аллелей по обоим полиморфным сайтам, группа 2 — носители гомозиготных минорных генотипов по обоим полиморфным сайтам (TT + TT). Значения критериев Кокса—Мантела = 2,40; $p = 0,03$; лог-рангового критерия = -3,48; $p = 0,02$; F-тест Кокса = 61,51; $p = 0,03$.

связь с повышенной вероятностью развития конечных точек (OR = 3,18; 95 % CI [1,03–9,72]; $p = 0,04$), что может быть проиллюстрировано также с использованием кривых Каплана—Мейера (рис. 3).

Выводы

1. Носители минорного генотипа ТТ полиморфизма Т924С (rs4523) гена ТВХА2R имеют достоверно более высокую вероятность развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий по сравнению с носителями (СС + СТ)-генотипов ($p < 0,05$).

2. Полиморфизм С807Т (rs1126643) гена ITGA2 не связан с риском развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у пациентов с ИБС при 36-месячном периоде наблюдения.

3. Комбинация ТТ-генотипа полиморфизма Т924С гена ТВХА2R и ТТ-генотипа полиморфизма С807Т гена ITGA2 связана с достоверным

повышением риска неблагоприятных сердечно-сосудистых событий.

Перспективы дальнейших исследований. Исследования полиморфизма генов тромбоцитарных рецепторов и гена, кодирующего основную мишень антитромбоцитарной терапии АСК — циклооксигеназу, дают возможность оценить относительный вклад их комбинаций в развитие гиперактивности тромбоцитов и ее сохранение на фоне антитромбоцитарной терапии у больных ИБС. Исследование ряда полиморфных маркеров (С50Т гена ЦОГ-1, Т924С гена ТВХА2R; С807Т гена ITGA2 и Т1565С гена ITGB3) позволяет приблизиться к определению индивидуального прогноза у больных ИБС.

Конфликта интересов нет. Участие авторов: концепция и дизайн исследования — О.Е. Запровальная; сбор материала — О.Е. Запровальная, В.В. Рябуха, Э.Н. Сердобинська-Канивец, О.В. Ткаченко, Т.Г. Оврах; обработка материала и написания текста — О.Е. Запровальная, Т.Н. Бондарь; статистическая обработка данных — О.Е. Запровальная, Т.Н. Бондарь; редактирование текста — О.Е. Запровальная.

Список литературы

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика / М.: Практика, 1999. — 459 с.
2. Agundez J.A., C. Martinez, D. Perez-Sala et al. Pharmacogenomics in aspirin intolerance // *Curr. Drug. Metab.* — 2009. — Vol. 10 (9). — P. 998—1008.
3. Cui H., Lin S., Chen X. et al. Correlation Between SNPs in Candidate Genes and VerifyNow-Detected Platelet Responsiveness to Aspirin and Clopidogrel Treatment // *Cardiovasc. Drugs. Ther.* — 2015. — Vol. 29 (2). — P. 137—146.
4. De Servi S., Servi, Crimi G., Calabrò P. et al. Relationship between diabetes, platelet reactivity, and the SYNTAX score to one-year clinical outcome in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndrome undergoing percutaneous coronary intervention // *EuroIntervention.* — 2016. — Vol. 12 (3). — P. 312—318.
5. Feher G., Feher A., Pusch G. et al. The genetics of antiplatelet drug resistance // *Clin. Genet.* — 2009. — Vol. 75. — P. 1—18.
6. Strisciunglio T., Gioia G., Biase C. et al. Genetically Determined Platelet Reactivity and Related Clinical Implications // *High Blood Press. Cardiovasc. Prev.* — 2015. — Vol. 22 (3). — P. 257—264.
7. Lu J.X., Lu Z.Q., Zhang S.L. et al. Polymorphism in Integrin ITGA2 is Associated with Ischemic Stroke and Altered Serum Cholesterol in Chinese Individuals // *Balkan. Med. J.* — 2014. — Vol. 31 (1). — P. 55—59.
8. Shao J., Fu Y., Yang W. et al. Thromboxane A2 receptor polymorphism in association with cerebral infarction and its regulation on platelet function // *Curry Neurovasc. Res.* — 2015. — Vol. 12 (1). — P. 15—24.
9. Kunicki T.J., Williams S.A., Salomon D.R. et al. Genetics of platelet reactivity in normal, healthy individuals // *J. Thromb. Haemost.* — 2009. — Vol. 7. — P. 2116—2122.
10. Gao F., Wang Z.X., Men J.L. et al. Effect of polymorphism and type II diabetes on aspirin resistance in patients with unstable coronary artery disease // *Chin. Med. J. (Engl.)* — 2011. — Vol. 124 (11). — P. 1731—1734.
11. Gleim S., Stitham J., Tang W.H. et al. Human thromboxane A2 receptor genetic variants: in silico, in vitro and «in platelet» analysis // *PLoS One.* — 2013. — Vol. 8 (6). — P. e67314. — Doi: 10.1371/journal.pone.0067314.
12. Goodman T., Ferro A., Sharma P. Pharmacogenetics of aspirin resistance: a comprehensive systematic review // *Br. J. Clin. Pharm.* — 2008. — Vol. 66 (2). — P. 222—232.
13. Pina-Cabral L.B., Carvalhais V., Mesquita B. et al. Allelic and genotypic frequencies of platelet glycoprotein polymorphisms in a Portuguese population // *Rev. Port. Cardiol.* — 2013. — Vol. 32 (2). — P. 111—115.
14. Postula M., Kaplon-Cieslicka A., Rosiak M. et al. Genetic determinants of platelet reactivity during acetylsalicylic acid therapy in diabetic patients: evaluation of 27 polymorphisms within candidate genes // *J. Thromb. Haemost.* — 2011. — Vol. 9 (11). — P. 2291—2301.
15. Rodriguez S.M., Gaunt T.R., Day I.N. Hardy-Weinberg Equilibrium Testing of Biological Ascertainment for Mendelian Randomization Studies // *Amer. J. Epidemiol.* — 2009. — Doi 10.1093/aje/kwn359.
16. Wang Z., Gao F., Men J. et al. Polymorphisms and high on-aspirin platelet reactivity after off-pump coronary artery bypass grafting // *Scand. Cardiovasc. J.* — 2013. — Vol. 47 (4). — P. 194—199.

О.Є. Запровальна, Т.М. Бондар, В.В. Рябуха, Е.М. Сердобінська-Канівець, О.В. Ткаченко, Т.Г. Оврах

ДУ «Національний інститут терапії імені Л.Т. Малої НАМН України», Харків

Прогностичне значення поліморфізму генів тромбоцитарних рецепторів для оцінки ризику розвитку несприятливих серцево-судинних подій у хворих на ішемічну хворобу серця

Мета дослідження — вивчити частоту поєднань генотипів поліморфних сайтів генів тромбоцитарних рецепторів (Т924С гена рецептора тромбоксану А2 і С807Т гена глікопротеїну Іа) та їх можливу асоціацію з ризиком розвитку серцево-судинних подій у хворих на ішемічну хворобу серця (ІХС).

Матеріали та методи. До дослідження було включено 271 хворого на хронічні форми ІХС, який перебував на стандартній медикаментозній терапії. Період спостереження для оцінки перебігу захворювання склав ($27,8 \pm 7,8$)

місяця. Кінцевими точками дослідження вважали загальну та серцево-судинну смертність, інфаркт міокарда, нестабільну стенокардію, необхідність в ревазуляризації міокарда, гостре порушення мозкового кровообігу. Генотипування поліморфних сайтів T924C гена рецептора тромбоксану TBXA2R (rs4523) і C807T гена глікопротеїну Ia (rs1126643) проводили методом полімеразної ланцюгової реакції з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів. Для оцінки загальної тенденції стабільного перебігу захворювання протягом періоду спостереження проводили побудову кумулятивних кривих за Капланом—Мейером.

Результати та обговорення. Розподіл генотипів поліморфізму T924C гена TBXA2R в обстеженій групі пацієнтів був наступним: TT-генотип — 12,9 %; CT-генотип — 46,1 %, CC-генотип — 40,9 %. Частота розвитку серцево-судинних подій у пацієнтів з TT-генотипом та CC-генотипом була вищою, ніж у TS-гетерозигот ($\chi^2 = 6,11$; $p = 0,01$ та $\chi^2 = 4,84$; $p = 0,03$ відповідно). Групи гомозигот за поширеним T і мінорним C алелями достовірно не відрізнялись ($\chi^2 = 0,68$; $p = 0,41$). При побудові кумулятивних кривих за Капланом—Мейером встановлено, що відносна кількість пацієнтів із стабільним перебігом захворювання протягом 36 міс у групі з TT-генотипом поліморфізму T924C гена TBXA2R була достовірно меншою, ніж у групі із (CC + CT)-генотипами (лог-ранговий критерій = $-2,04$; $p = 0,04$). Поширеність генотипів CC, CT й TT поліморфізму C807T гена ITGA2 складала 36,6, 44,9 та 18,5 % відповідно. Частота розвитку кінцевих точок у групах пацієнтів з різними генотипами поліморфізму C807T гена ITGA2 протягом періоду спостереження достовірно не відрізнялась. Побудова кривих Каплана—Мейера в групах пацієнтів з різними генотипами поліморфного сайту C807T гена ITGA2 не виявила достовірних відмінностей (лог-ранговий критерій = $-0,24$; $p = 0,81$). Поєднання TT-генотипу поліморфізму C807T гена ITGA2 і TT-генотипу поліморфізму T924C гена TBXA2R підвищує силу зв'язку з достовірністю розвитку кінцевих точок (лог-ранговий критерій = $-3,48$; $p = 0,02$).

Висновки. Носії мінорного TT-генотипу поліморфізму T924C гена TBXA2R мають достовірно гірший 36-місячний прогноз стабільного перебігу захворювання порівняно з гомозиготами за C-алелем та гетерозиготами. Поліморфізм C807T гена ITGA2 не пов'язаний з ризиком розвитку несприятливих серцево-судинних подій у пацієнтів з ІХС при 36-місячному спостереженні, але в комбінації з TT-генотипом поліморфізму T924C гена TBXA2R може посилювати ризики.

Ключові слова: поліморфізм, гени рецепторів тромбоцитів TBXA2R і ITGA2, серцево-судинні події, ішемічна хвороба серця.

O.Ye. Zaprovalna, T.M. Bondar, V.V. Ryabukha, E.M. Serdobinskaya-Kanivets, O.V. Tkachenko, T.G. Ovrach

SI «National Institute of Therapy named after L.T. Mala of NAMS of Ukraine», Kharkiv

Prognostic value of gene polymorphism of platelet receptors for the risk of adverse cardiovascular events in patients with coronary heart disease

Objective — to study the prevalence of gene polymorphisms of platelet receptors (T924C of thromboxane A2 receptor gene and C 807T of gene glycoprotein Ia) and their possible association with the risk of cardiovascular events in patients with coronary heart disease.

Materials and methods. The study involved 271 patients with chronic coronary heart disease (CHD). All patients were administered the standard drug therapy. The observation period was (27.8 ± 7.8) months. The overall and cardiovascular mortality, myocardial infarction, unstable angina, revascularization and acute cerebrovascular accident were endpoints of this study. Polymorphic sites T924C of thromboxane receptor gene TBXA2R (rs4523) and C 807T of glycoprotein Ia gene (rs1126643) genotyping was performed by polymerase chain reaction followed by restriction fragment length analysis. The risk of cardiovascular complications in CHD patients, depending on the genotype was evaluated by the Kaplan—Meier method.

Results and discussion. The distribution of genotypes of TBXA2R gene T924C polymorphism in the patients group: TT genotype — 12.9 %; CT genotype — 46.1 %, the SS genotype — 40.9. The incidence of cardiovascular events in patients with TT and CC genotype was higher than TS-heterozygote genotype ($\chi^2 = 6.11$, $p = 0.01$ and ($\chi^2 = 4.84$, $p = 0.03$ respectively). The patients groups with homozygous genotypes by widespread T and minor C alleles have not significant differences ($\chi^2 = 0.68$, $p = 0.41$). The relative number of patients with stable disease flow for 36 months in the group with the TT genotype of TBXA2R gene T924C polymorphism was significantly less than in the group with (CC + CT) genotypes by Kaplan—Meier method (log-rank test = -2.04 , $p = 0.04$). The prevalence of genotypes CC, CT and TT of ITGA2 gene C 807T polymorphism was 36.6, 44.9 and 18.5 % respectively. The incidence of end points in the groups of patients with different genotypes of ITGA2 gene C 807T polymorphism throughout the observation period did not differ significantly. Kaplan—Meier curves construction in groups of patients with different genotypes of ITGA2 gene C 807T polymorphic site revealed no significant differences (log-rank test = -0.24 , $p = 0.81$). The combination of the ITGA2 gene C 807T polymorphism TT genotype and TBXA2R gene T924C polymorphism TT genotype increases the stability of connection with the endpoints probability (log-rank test = -3.48 , $p = 0.02$).

Conclusions. It has been established, that TT genotype polymorphism T924C gene carriers had significantly worse TBXA2R 36-month prognosis for the stable course of the disease compared with the wild homozygotes and heterozygotes. It was revealed, that C 807T polymorphism ITGA2 gene was not associated with the risk of adverse cardiovascular events in patients with CAD at 36-month follow-up, but may increase the risks in combination with TT genotype polymorphism T924C TBXA2R gene.

Key words: polymorphism, platelet receptor genes TBXA2R and ITGA2, cardiovascular events, coronary heart disease.