

УДК 616.127–005.8–036

**АССОЦИАЦИИ ВАРИАБЕЛЬНЫХ САЙТОВ (RS4343 И RS4291)  
ГЕНА АНГИОТЕНЗИНПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА  
С НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ ГОСПИТАЛЬНЫМ ИСХОДОМ У БОЛЬНЫХ  
ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ БЕЗ ПОДЪЕМА СЕГМЕНТА ST**

<sup>1,3</sup>Бернс С.А., <sup>1</sup>Шмидт Е.А., <sup>1</sup>Макеева О.А., <sup>1</sup>Нагирняк О.А., <sup>2</sup>Клименкова А.В.,  
<sup>1</sup>Жидкова И.И., <sup>1</sup>Барбараш О.Л.

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, e-mail: svberns@yandex.ru;

<sup>2</sup>ГБУЗ «Кемеровский областной клинический кардиологический диспансер  
им. акад. Л.С. Барбараша», Кемерово;

<sup>3</sup>ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет  
им. А.И. Евдокимова», Москва

В работе изучена ассоциация переменных сайтов генов эндотелиальной дисфункции: ангиотензин-превращающего фермента (ACE) [rs4291 и rs4343] с неблагоприятным госпитальным исходом у больных с острым коронарным синдромом без подъема сегмента ST (ОКСбпST). В исследование было включено 188 пациентов с ОКСбпST. Проведено генотипирование переменных сайтов генов: ACE (rs4291 и rs4343) методом TaqMan. Установлено, что у больных ОКСбпST неблагоприятный госпитальный исход ассоциирован с наличием гиперхолестеринемии, стенозирующего коронарного атеросклероза, а также носительством аллели G и генотипа G/G rs4343 и аллели T и генотипа T/T rs4291 гена ACE.

**Ключевые слова:** неблагоприятный госпитальный исход ОКСбпST, rs4291 и rs4343 гена ACE

**ASSOCIATION RS4343 AND RS4291 ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME GENE  
WITH ADVERSE HOSPITAL OUTCOMES IN PATIENTS WITH ACUTE CORONARY  
SYNDROME WITHOUT ST-SEGMENT ELEVATION**

<sup>1,3</sup>Berns S.A., <sup>1</sup>Shmidt E.A., <sup>1</sup>Makeeva O.A., <sup>1</sup>Nagirnjak O.A., <sup>2</sup>Klimenkova A.V.,  
<sup>1</sup>Zhidkova I.I., <sup>1</sup>Barbarash O.L.

<sup>1</sup>Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, e-mail: svberns@yandex.ru;

<sup>2</sup>Kemerovo Cardiology Dispensary, Kemerovo;

<sup>3</sup>Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimova, Moscow

In the study, we investigated the association of the variable sites of genes of endothelial dysfunction: angiotensin-converting enzyme (ACE) [rs4291 and rs4343] with adverse hospital outcomes in patients with acute coronary syndrome without ST elevation ST (nonST-ACS). The study included 188 patients with nonST-ACS. A genotyping variable gene sites ACE (rs4291 and rs4343) were by TaqMan. It was found that patients with hospital adverse outcomes associated with the presence of hypercholesterolemia, atherosclerosis of coronary stenosis and carriage of the G allele and genotype G/G rs4343 and allele T and genotype T/T rs4291 ACE gene.

**Keywords:** nonST-ACS; adverse hospital outcomes, rs4291 and rs4343 of ACE gene

По смертности острый коронарный синдром без подъема сегмента ST (ОКСбпST) занимает первое место в экономически развитых странах [3]. При изучении звеньев патогенеза острого коронарного синдрома (ОКС) особое внимание отводится дисфункции эндотелия (ДЭ), так как фаза повреждения сосудистой стенки является одной из первых. В настоящее время ДЭ рассматривается не только как составная часть патологического процесса, но и как первичный пусковой механизм развития ОКС. Прогрессирование атеросклероза напрямую или косвенно связано с функциями эндотелия, нарушение которых приводит к повышенной тромбогенности сосудистой стенки, воспалительным изменениям, вазореактивности и нестабиль-

ности атеросклеротической бляшки. Поэтому эндотелий рассматривается как мишень для лекарственного воздействия, профилактики и лечения ОКС [9].

В настоящее время стратегия исследования генетической составляющей многофакторных заболеваний включает в себя поиск переменных сайтов в важнейших генах-кандидатах и оценку их ассоциации с заболеванием или вариантами клинического течения. Важную роль в формировании ДЭ играют компоненты ренин-ангиотензиновой системы (РАС) и, в первую очередь, ген ангиотензинпревращающего фермента (АПФ). Уровень АПФ примерно на 50% контролируется генетически [4]. Имеются данные литературы об ассоциации

вариабельного сайта гена ангиотензинпревращающего фермента (АСЕ) со стабильными формами ишемической болезни сердца (ИБС) и инфарктом миокарда (ИМ) [6] и внезапной смертью [2]. Межиндивидуальные различия генотипов rs4291 и rs4343 гена АСЕ, кодирующих продукцию АПФ, могут определять выраженный характер ЭД и обуславливать неблагоприятное течение заболевания в госпитальном и отдаленном периоде у пациентов ОКСбпСТ.

**Цель исследования:** изучить ассоциацию вариабельных сайтов rs4291 и rs4343 гена АСЕ с неблагоприятным госпитальным исходом у больных ОКСбпСТ.

### Материалы и методы исследования

С 2009 года в Научно-исследовательском институте «Комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» и на базе МБУЗ «Кемеровский кардиологический диспансер» создан регистр, в который включались пациенты с ОКСбпСТ. Протокол данного исследования одобрен этическим комитетом Кемеровского кардиологического диспансера. Критериями включения участников исследования являлись: 1) подписанная пациентом форма информированного согласия на участие в исследовании; 2) возраст старше 18 лет; 3) возникшие в течение 48 часов до госпитализации Q-необразующий ИМ или нестабильная стенокардия (НС). Критерием исключения явился ОКСбпСТ, осложнившийся чрескожное коронарное вмешательство (ЧКВ) или коронарное шунтирование (КШ), а также наличие острых или обострение хронических воспалительных заболеваний, почечной и печеночной недостаточности, заболеваний легких и онкологической патологии. За период с 15.01.2009 по 28.12.2009 в регистр включено 415 последовательно госпитализированных пациентов с ОКСбпСТ. Схема обследования пациентов включала стандартный перечень лабораторно-инструментальных методов для стационара кардиологического профиля. Среди пациентов 248 (59,8%) были мужчинами, со средним возрастом 62 (53;71) года, 170 пациентов (40,9%) являлись курильщиками, 325 пациента (78,3%) имели в анамнезе стенокардию, 373 (89,8%) больных – АГ, 153 (36,8%) пациентов – перенесенный ИМ. Сахарный диабет 2 типа был выявлен в 80 (19,2%) случаев, а ишемический инсульт в анамнезе – в 12,0% (n=50) случаях. В условиях стационара все пациенты при отсутствии противопоказаний получали антикоагулянтную, антиагрегантную терапию, бета-блокаторы, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, статины. Коронароангиографию (КАГ) проводили в случае пись-

менного согласия на выполнение КАГ и чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ) со стентированием. В госпитальном периоде экстренное ЧКВ проводилось 185 (44,6%) пациентам. В плановом порядке проведение КШ рекомендовано 88 (21,2%), а ЧКВ – 51 (12,3%) пациентам. Для проведения генотипирования была сформирована выборка пациентов (n=188), значимо не отличающаяся по клиническим характеристикам от больных регистра.

Забор крови для генотипирования по вариабельным сайтам гена АСЕ (rs4291 и rs4343) производился в течение госпитального периода. Дезоксирибонуклеиновая кислота выделялась из лейкоцитов крови модифицированным методом фенол/хлороформной экстракции по методу Т. Маниатис. Генотипирование проводили методом TaqMan-проб на приборе «iCycler iQ» (BIO-RAD, США) посредством полимеразной цепной реакции для TaqMan-генотипирования выполнялась согласно инструкции Applied Biosystems, США. Распределения генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие ожидаемым при равновесии Харди-Вайнберга с помощью критерия  $\chi^2$ . Для изучения популяционной распространенности указанных генетических вариантов была изучена группа контроля относительно здоровых индивидуумов, состоящая из 187 человек.

Статистический анализ результатов исследования проводился с помощью программ: STATISTICA версии 8.0 компании StatSoft, Inc (США) и калькулятора Генэксперт. Две независимые группы по количественному признаку сравнивались при помощи U-критерия Манна-Уитни. Анализ различия относительных показателей осуществлялся при помощи критерия  $\chi^2$  Пирсона или критерия Фишера с двусторонней доверительной вероятностью в том случае, если в какой-либо из подгрупп количество наблюдений было менее 5. Рассчитывался относительный риск (OR) с 95% доверительным интервалом (CI). Различия в сравниваемых группах считались достоверными при уровне двусторонней статистической значимости (p) менее 0,05.

### Результаты исследования и их обсуждение

В изучаемой выборке (n=188) были проанализированы следующие «конечные точки» (КТ): показатели общей смертности, наличие повторных НС, ИМ, ОНМК – эти события расценивались как неблагоприятный исход. На госпитальном этапе выявлено 24 (15,9%) пациентов с неблагоприятным исходом и 164 (87,20%) – с благоприятным. Структура КТ представлена в табл. 1.

**Таблица 1**

Структура неблагоприятных исходов на госпитальном и годовом этапе наблюдения у больных ОКСбпСТ

Конечные точки на госпитальном этапе	Пациенты, n=188
Нефатальный инфаркт миокарда, n (%)	6 (3,19)
Летальность, n (%)	5 (2,65)
Ишемический инсульт, n (%)	1 (0,53)
Рецидивирующая ишемия миокарда (нестабильная стенокардия), n (%)	12 (6,38)

При оценке клинических факторов и морфологических особенностей коронарного русла в группах пациентов с различным госпитальным исходом, установлено, что пациенты с ОКСбпСТ с неблагоприятным исходом, несмотря на более молодой возраст, чаще имели реваскуляризирующие процедуры в анамнезе, гиперхолестеринемию, значимые стенозы коронарных артерий, в частности, совокупное поражение трех коронарных артерий со стенозами более 50% (табл. 2).

троль соответствовало равновесию Харди-Вайнберга.

В табл. 3 представлено распределение частот исследуемых генотипов в подгруппах больных в зависимости от развития и отсутствия «конечных точек» к концу госпитального этапа. При изучении ассоциаций варибельного сайта rs4343 гена ACE было установлено, что носительство аллели G в 2,27 раз ( $p=0,008$ ), а гомозиготный генотип G/G в 3,18 раз ( $p=0,02$ ) увеличивают риск неблагоприятного течения госпитального

Таблица 2

Клинические и инструментальные предикторы неблагоприятного госпитального течения заболевания у больных ОКСбпСТ

Факторы риска	Неблагоприятный исход, n= 24	Благоприятный исход, n= 164	P
Клинико-anamнестические характеристики			
Возраст, Med (25;75)	57 (53; 61)	61 (56; 67)	0,007
ИМТ, Med (25;75)	28,6 (23,7; 32,4)	29,8 (24,2; 33,8)	0,29
Курение, n (%)	13 (54,16)	70 (42,68)	0,27
АГ, n (%)	21 (87,5)	138 (84,1)	0,47
Мужчины, n (%)	17 (70,8)	92 (56,0)	0,17
Гиперхолестеринемия, n (%)	12 (50,0)	53 (32,3)	0,08
Наличие СД 2 типа, n (%)	5 (20,8)	27 (16,4)	0,38
ФВ ЛЖ, Med (25;75)	57,2 (46,7; 63,1)	55,9 (49,3; 64,8)	0,31
Стенокардия в анамнезе, n (%)	17 (70,8)	123 (75,0)	0,66
ПИКС в анамнезе, n (%)	9 (37,5)	45 (27,4)	0,31
ОНМК в анамнезе, n (%)	4 (16,6)	12 (7,3)	0,12
ЧКВ в анамнезе, n (%)	4 (16,6)	7 (4,2)	0,036
КШ в анамнезе, n (%)	4 (16,6)	6 (3,6)	0,025
Ангиографические особенности коронарного русла			
КАГ в госпитальном периоде, n (%)	23 (95,8)	142 (86,5)	0,19
ЧКВ госпитально, n (%)	11 (45,8)	72 (43,9)	0,85
Наличие стенозов КА, n (%)	21 (87,5)	115 (70,1)	0,039
Наличие стенозов трех КА > 50%, n (%)	6 (25,0)	15 (9,14)	0,021
Поражение 1 КА, n (%)	6 (25,0)	42 (25,6)	0,94
Поражение 2-х КА, n (%)	6 (25,0)	33 (20,1)	0,58
Поражение 3-х КА, n (%)	9 (37,5)	40 (24,3)	0,17

В группу контроля вошло 187 относительно здоровых индивидуума – русские жители г.Кемерово на основании паспортных и анкетных данных, выразившие добровольное согласие на участие в исследовании. Средний возраст обследованных составил  $45,0 \pm 9,1$  лет и не отличался в подгруппах мужчин и женщин:  $45,6 \pm 9,1$  лет и  $44,7 \pm 9,2$  лет, соответственно. Распределение частот генотипов в группе случай-кон-

троля у больных ОКСбпСТ. Равновесие Харди-Вайнберга соблюдено (уровень значимости теста для случаев и контролей  $p > 0,05$ ). Также показано, что генотип T/T и аллель T варибельного сайта rs4291 гена ACE ассоциированы с наличием КТ на госпитальном этапе. Так, носительство аллели T увеличивало риск неблагоприятного госпитального исхода в два раза ( $p=0,02$ ), а наличие гетерозиготного генотипа T/T – в 3,34 раза ( $p=0,04$ ).

Таблица 3

Оценка частоты генотипов и аллелей гена ACE (rs4343 и rs4291) и их ассоциаций с наличием неблагоприятного исхода на госпитальном этапе у больных ОКСбпСТ

Генотип/ Аллель	Неблагоприятный госпитальный исход, n=24	Благоприятный госпитальный исход, n=164	$\chi^2$	p	OR	95% CI
Генотипы ACE rs4343	Общая модель наследования					
A/A	4 (16,6%)	58 (35,3%)	7,53	0,02	0,37	0,12 – 1,12
A/G	11 (45,8%)	80 (48,7%)			0,89	0,38 – 2,10
G/G	9 (37,5%)	26 (15,8%)			3,18	1,26 – 8,04
Аллели	Мультипликативная модель					
A	19 (39,6%)	196 (59,7%)	6,96	0,008	0,44	0,24 – 0,82
G	29 (60,4%)	132 (40,3%)			2,27	1,22 – 4,21
Генотипы ACE rs4291	Общая модель наследования					
A/A	7 (29,2%)	76 (46,3%)	6,61	0,04	0,48	0,19 – 1,21
A/T	10 (41,7%)	70 (42,7%)			0,96	0,40 – 2,29
T/T	7 (29,1%)	18(11,0%)			3,34	1,22 – 9,14
Аллели	Мультипликативная модель					
A	24 (50%)	222 (67,7%)	5,79	0,02	0,48	0,26 – 0,88
T	24 (50%)	106 (32,3%)			2,09	1,14 – 3,86

В ходе нашего исследования было показано влияние на неблагоприятный госпитальный исход пациентов ОКСбпСТ не только наличие значимых стенозов коронарных артерий, но и носительство генотипа G/G rs4343 и T/T rs4291 гена ACE. В опубликованных ранее работах показано, что полиморфные варианты данного гена ассоциированы как с высоким риском развития, так и с неблагоприятным течением ОКС [5]. В последнее время также получены данные о влиянии изучаемых генов на долгосрочный прогноз. Так, в исследовании Зыкова М.В. с соавторами (2012) получены данные о связи варибельного сайта rs4343 гена ACE с прогрессированием атеросклеротического поражения сонных артерий в течение 4-летнего наблюдения у 165 пациентов с ОКС с подъемом сегмента ST, а генотипа T/T и аллели T варибельного сайта rs4291 с наличием и выраженностью стенозов периферических артерий (более 30%) и смертностью в течение года [1]. В работе Jia E.Z. с соавторами (2014) была показана связь варибельного сайта rs4343 со смертностью от всех причин среди пациентов с ангиографически подтвержденным коронарным атеросклерозом [7]. Кроме того, установлено, что повышенный уровень ангиотензина-II в плазме крови был связан с более высокой смертностью в отдаленном периоде (9,6 лет)

от всех причин, даже после поправки только на летальные исходы по сердечно-сосудистой причине. В Японии проведено девятилетнее наблюдение (2011), результаты которого показали взаимосвязь варибельного сайта rs4343 (ОШ=1,226 (1,024–1,468), p=0,027) с долгосрочной смертью, независимо от причины [10]. В работе Макеевой О.А. с соавторами (2013), проведенной на выборке из 165 больных ОКС с подъемом ST-сегмента, показано, что аллель T rs4291 гена ACE является фактором риска для сердечно-сосудистой смерти в течение одного года после ИМ с подъемом сегмента ST [8]. Неблагоприятная роль носительства аллели T и генотипа T/T rs4291 гена ACE в отношении развития неблагоприятного госпитального исхода также показано и в нашей работе.

### Заключение

Таким образом, установлено, что у больных ОКСбпСТ неблагоприятный госпитальный исход ассоциирован с наличием гиперхолестеринемии, стенозирующего коронарного атеросклероза, в том числе и совокупного поражения трех коронарных артерий, а также носительством аллели G и генотипа G/G rs4343 и аллели T и генотипа T/T rs4291 гена ACE.

**Список литературы**

1. Зыков М.В. Генетические маркеры прогрессирования атеросклероза экстракраниальных артерий у больных, перенесших острый коронарный синдром с подъемом сегмента ST / М.В. Зыков, И.С. Быкова, Р.Р. Салахов и др. // Инновационный конвент «Кузбасс: образование, наука, инновации». – 2012. – № 2 – С. 36.
2. Мартынович Т.В. Анализ полиморфизма генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями / Т.В. Мартынович, Н.С. Акимова, Э.А. Федотов, и др. // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – №3. – С.25.
3. Ратманова А. Рекомендации ACC/AHA/SCAI по чрезкожным коронарным вмешательствам: что нового? // Medicine Review (Клинические рекомендации). – 2008. – № 1. – С. 9–19.
4. Трубникова Е. В. Однонуклеотидный полиморфизм в геноме человека – важный объект молекулярно-генетических исследований в медицинской генетике [Электронный ресурс] / Е.В. Трубникова, Е.В. Кохтенко, Я.С. Куприянова. – URL: [http://www.rusnauka.com/8\\_NIT\\_2008/Tethis/Biologia/27460.doc.htm](http://www.rusnauka.com/8_NIT_2008/Tethis/Biologia/27460.doc.htm) (27.05.2013).
5. Baruah S. Insertion/Insertion Genotype of Angiotensin I-Converting-Enzyme Gene Predicts Risk of Myocardial Infarction in North East India / S. Baruah, M.S. Chaliha, P.K. Borah, R. Rajkakat, P.K. Borua, J. Mahanta // Biochem. Genet. 2016. Vol. 54(2). P. 134–46. (6)
6. Fatini C. Searching for a better assessment of the individual coronary risk profile: the role of angiotensin-converting enzyme, angiotensin II type 1 receptor and angiotensinogen gene polymorphisms / C. Fatini, R. Abbate, G. Pepe et al. // Eur. Heart J. 2000. Vol. 21. P. 633–638.
7. Jia E.Z. Renin–angiotensin–aldosterone system gene polymorphisms and coronary artery disease: detection of gene–gene and gene–environment interactions [Electronic resource] / E.Z. Jia, Z.X. Xu, C.Y. Guo. – URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.
8. Makeeva O.A. The role of genetic factors in the prediction of myocardial infarction complications within one year follow up [Electronic resource] / O.A. Makeeva, M.V. Zыков, M.V. Golubenko. – URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.
9. Niccoli G., Lanza G., Spaziani C. Plasma levels of thromboxane A2 on admission are associated with no–reflow after primary percutaneous coronary intervention // Eur. Heart J. 2008. Vol. 29 (15). P. 1843–1850.
10. Vecoli C. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms in cardiovascular disease [Electronic resource] / C. Vecoli. – URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.