НЕКОММЕРЧЕСКОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО «МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ КАРАГАНДЫ»

# АННОТАЦИЯ

диссертационной работы на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности: 6D110100 – Медицина

# Тема: «Ассоциация полиморфизма генов PON1, CYP2C19 с риском развития рестеноза коронарных артерий»

**Исполнитель:** Бодаубай Роза

# Научный руководитель:

Тайжанова Дана Жумагалиевна д.м.н., профессор кафедры внутренних болезней НАО МУК

**Научный консультант:** Акильжанова Айнур Рахметуловна, д.м.н., PhD., ассоцированный профессор, руководитель Лаборатории геномной и персонализированной медицины, ЧУ

«National Laboratory Astana», Назарбаев Университет, Астана, Казахстан.

**Зарубежный научный консультант:** Айвазян Александр Артемович д.м.н., доцент, руководитель клиники терапии университетского больничного комплекса “Мурацан” Ереванского Государственного медицинского университета им. “Мхитара Гераци”. Армения.

# Караганда 2022 год.

**Актуальность темы исследования:**

Заболеваемость ИБС в Республике Казахстан в последнее время имеет тенденцию к неуклонному росту. В 2011 году в Казахстане было зарегистрировано 51 974 новых случая ИБС.

Ишемическая (коронарная) болезнь сердца (ИБС) – заболевание, обусловленное недостаточностью кровоснабжения сердечной мышцы. Развитие современной медицины привело к возникновению новых, уникальных методов лечения ИБС – таких как ангиопластика и стентирование коронарных сосудов.

Эндоваскулярные методы лечения, такие как стентирование коронарных артерий, получили широкое распространение в лечении ИБС, однако рестенозирование в стенте является главным ограничением эффективности этого метода, и даже применение стентов с лекарственным покрытием не решило проблему окончательно.

Учитывая широкое распространение стентирования коронарных артерий в лечении ИБС, несомненно, актуальным является поиск новых предикторов развития рестеноза в стенте. Существуют основания считать, что генетические факторы, такие как полиморфизм генов, кодирующих некоторые ферменты и рецепторы, играют роль в увеличении риска развития рестеноза. В настоящее время известен ряд масштабных программ GENDER (Genetic Determinants of Restenosis), CAPARES (Coronary AngioPlasty Amlodipine REStenosis Study), RESEARCH, ISAR-STEREO-2 (Strut thickness effect on restenosis outcome), направленных на изучение генетики рестенозов. Развитие рестеноза в стенте также может косвенно зависеть от полиморфизмов в генах системы гемостаза, ренин-ангиотензиновой системы и антиоксидантной системы.

Ген PON1 локализован на длинном плече хромосомы 7 (7q21.3–q 22.1), он состоит из 27 тысяч пар нуклеотидов и содержит девять экзонов. В настоящее время выявлено 198 однонуклеотидных замен, в том числе 7 в промоторной и 5 в кодирующей областях гена PON1. Из всех полиморфных вариантов гена PON1 наибольшее клиническое значение имеют полиморфизмы L54M (rs854560) и Q192R (rs662).

Ген CYP2C19 имеет девять экзонов и является высоко полиморфным, с более чем 25 вариантами аллелей (они отмечаются звездочками \*), зарегистрированными в настоящее время в комитете по Номенклатуре аллелей цитохрома Р450 *(*[*http://www.cypalleles.ki.se/CYP2C19.htm*).](http://www.cypalleles.ki.se/CYP2C19.htm))

Дополнительно проанализированы и другие сайты (clinvar, dbsnp, pharmgkb, drugbank и др.) Так, проведен анализ с использование алгоритма в среде R statistics базы SNPedia на наличие вариаций гена PON1, CYP2C19, как предиктор риск развития ИБС и рестеноза коронарных артерии. Были получены данные распределения в различных популяциях следующих аллелей

- L54M (rs854560) и Q192R (rs662) rs12248560, rs41291556, rs41291556, rs72552267, rs4986893,

rs4244285, rs72558186 (А) представляет собой SNP CYP2C19, rs56337013.

Известно, что на частоту встречаемости гетерозиготных генотипов влияет этническая принадлежность. Так, имеются данные, что частота встречаемости гетерозиготных генотипов аллелей CYP1C19\*2GA (\*1/\*2) у азиатской популяции по данным различных авторов колеблется от 28% до 60%. В результате многочисленных научных работ отечественных и зарубежных исследователей было выявлено наличие разницы в распространенности полиморфизма изофермента CYP2C19 у разных этнических групп. Частота встречаемости данного аллели составляет около 12% у европейцев, 12% афроамериканцев и 29-35% у азиатов. По данным других источников распространенность аллели с генотипом CYP2C19\*2 составляет около 25—30% у европейцев и 50—60% у азиатов*.*

В Республике Казахстан имеются единичные исследования, отражающие отдельные аспекты изучаемой проблемы. В рамках магистерской диссертации Вистерничан О.А. (2014г) определены, что полиморфизм гена FGB (rs1800790) и полиморфизм генаTHBD у больных с рестенозированием коронарных артерий после стентирования могут рассматриваться как возможные генетические предикторы развития рестеноза у мужчин казахской национальности.

В исследовании Кульмырзаевой Н.К. (2016г) показано, что у пациентов с ОКС частота распределения аллели \*2(GA и AA) по полиморфному маркеру G681A гена CYP2C19 у казахской национальности, проживающих на территории Актюбинской области, составила 27% и 2% соответственно, тогда как частота распределению по аллелью \*3 (GA и AA) составила – 9% и 1% соответственно.

В данной исследовательской работы изучена ассоциация полиморфизма генов PON1, CYP2C19 с риском развития рестеноза коронарных артерий. Кроме того, исследован ассоциация полиморфизма генов PON1, CYP2C19 с риском развития рестеноза коронарных артерий у пациентов с хронической ИБС, у пациентов с ИБС со стентированием, у пациентов с ИБС с рестенозом после установки стента в сравнении с практически здоровыми.

# Цель исследования:

Оценить ассоциацию полиморфизма генов PON1, CYP2C19 с риском развития рестеноза коронарных артерий в казахской популяции.

# Задачи исследования:

* Провести анализ взаимосвязи сосудистых факторов роста (PDGF-АА, FGFs) с риском развития рестеноза коронарных артерии.
* Оценить полиморфизм генов - кодировщиков биотрансформационных ферментов при рестенозе коронарных артерий: PON1 L54M (rs854560), PON1 Q192R (rs662) и CYP2C19 (CYP2C19\*2 - rs4244285, CYP2C19\*3-rs4986893 и CYP2C19\*17-rs12248560).
* Провести анализ частоты встречаемости генетического полиморфизма в зависимости от типа наследования.

-Оценить корреляционные взаимосвязи между факторами риска ИБС, количественными показателями коронарографии и полиморфизмом генов.

# Научная новизна:

* Установлены диагностические признаки развития рестеноза и сосудисто-воспалительной активности после стентирования коронарных артерий при острых атеротромботических событиях и ИБС.
* Впервые выявлена ассоциация полиморфизма генов PON1, CYP2C19 с риском развития рестеноза коронарных артерии.
* Впервые на основе ассоциации полиморфизма генов PON1, CYP2C19 и комплексной оценки клинико-генетических показателей сосудистых факторов роста определены предикторы развития рестеноза.

# Практическая значимость проведенного исследования:

* Увеличение значения факторов сосудистого роста (PDGF-АА, FGFs) при рестенозе коронарных артерий позволяет рекомендовать их в качестве маркеров дестабилизации миокарда.
* Раннее генетическое тестирование позволяет определить группу пациентов с риском развития нестабильного типа ИБС и потенциального риска развития рестеноза коронарных артерии.
* Установление корреляционной связи между полиморфизмом генов с совокупностью факторов риска, способствует построению критериев, определяющих показания к проведению раннее молекулярно-генетической диагностики.
* Результаты исследования внедрены в клиническую работу кардиологического отделения КГП «Многопрофильной больницы №1» г. Караганды, в практическую работу кафедры внутренних болезней НАО “МУК”.

Диссертационная работа выполнена в рамках Программно-целевого финансирования МОН РК br05236771-OT-18 “Персонифицированный подход к управлению рядом важных заболеваний”.

# Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

* 1. Пациенты с рестенозом внутри ранее установленного стента имеют изменения в лабораторных анализах, у них выше показатели хронического воспаления, у пациентов женского пола чаще возникает рестеноз внутри стента при диагнозе, относящемся к хроническим формам ишемической болезни сердца.
  2. Состояние тромбоцитарного фактора роста и носительство полиморфизмовPON1, CYP2C19 – предикторы развития неблагоприятных исходов у пациентов после чрескожного коронарного вмешательства.
  3. Прогрессирование коронарного атеросклероза через 12 месяцев после стентирования коронарных артерий у пациентов со стабильной стенокардией сопряжено с концентрацией в крови ХС ЛНП через 12 месяцев после вмешательства. Пациенты с содержанием ХС ЛНП в крови ниже 1,8 ммоль/л через 12 месяцев после стентирования достоверно реже демонстрируют прогрессирование коронарного атеросклероза в сравнении с пациентами, имеющими более высокое содержание ХС ЛНП в крови.
  4. Выявление генетических полиморфизмов у пациентов после стентирования коронарных артерий рекомендуется в качестве перспективных предикторов риска развития рестеноза после установки стента.

# Внедрение в практику

По материалам диссертации получено 2 свидетельство о регистрации прав на объект авторского права KZ №13260. Свидетельство о внесении сведений в государственный реестр прав на объекты, охраняемые авторским правом. 17 ноября 2020г. «Анкета оценки риска осложнении на фоне двойной антиагрегантной терапии у кардиологических пациентов», авторы Бодаубай Р., Тайжанова Д.Ж. Вистерничан О.А., Калимбетова А.Б. (Приложение А). KZ №13249. Свидетельство о внесении сведений в государственный реестр прав на объекты, охраняемые авторским правом. 16 ноября 2020г. «Анкета оценки факторов риска при фибрилляции предсердия» Тайжанова Д.Ж. Базарова Н.К., Бодаубай Р., Калимбетова А.Б. (Приложение Б).

Имеются акты внедрения результатов научно-исследовательской работы в практическую деятельность кардиологический отделений КГП «Многопрофильная больница №1» Карагандинской области (Приложение В, Г).

# Апробация работы

Основные положения и результаты диссертационной работы докладывались и обсуждались на международных конференциях: XI конгресс кардиологов Республики Казахстан. 5-7 июня 2019 года, г. Алматы. Казахстан; International Conference Modern Molecular-Biochemical Markers in Clinical and Experimental Medicine-2019, 07-09 November 2019, Prague, Czech Republic; ESC Heart & Stroke 2020.Barcelona, 24-25 January 2020; Российский национальный кардиологический конгресс в г. Казань, 29 сентября-1 октября 2020 г; Санкт-Петербург

кардиологов Российской национальной конгресс, 21-23 октября 2020 года; Российский национальный конгресс кардиологов г. Санкт-Петербург, 21-23 октября 2020 года.

# Публикации

По материалам диссертации опубликовано 28 научных работ, из них рекомендованных комитетом по контролю в сфере образования и науки МОН РК – 3 работы, в изданиях, не имеющих нулевого Impact Factor и входящих в базу данных Scopus опубликовано 4 работы, в том числе 3 статьи (1 статья принята в публикации), 1 тезис опубликован в журнале база данных Clarivates Analytics. 2 свидетельство об авторском праве.

**Материалы и методы исследования Дизайн исследования:** случай-контроль

Исследовательская работа частично выполнена по программно-системному финансированию “персонифицированный подход к управлению рядом важных заболеваний” с регистрационным номером BR05236771-OT-18, проведенному в рамках научно- исследовательской работы НАО «МУК». Научное исследование принято решением Комитета по биоэтики НАО «МУК». (протокол №12 от 06.02.2019 год).

Обследование больных проводился в поликлиниках города Караганды и на базе КГП

«Многопрофильная больница №1» г. Караганды.

Молекулярно-генетические исследования проводился на базе лаборатории коллективного пользования НАО “МУК” (PON1 Q192R (rs662) и CYP2C19 (CYP2C19 \* 2-rs4244285,

CYP2C19 \* 3-rs4986893 и CYP2C19\*17 - rs12248560), в лаборатории геномной и персонализированной медицины, ЧУ «National Laboratory Astana», Назарбаев Университет, Нур-Султан (PON1 L54M (rs854560)).

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием программ STATISTICA 8 и IBM SPSS Statistics 20. При проверке нормальности распределения использованы методы описательной статистики, квантильные диаграммы, гистограммы и критерий Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллиефорса и критерия Шапиро-Уилка. В случае превышения значений статистической значимости рассчитанных критериев 0,01 (p>0,01), фактическое распределение формально считалось не отличающимся от нормального. Средние тенденции описывались средним значением и стандартным отклонением. Для данных с распределением, отличающимся от нормального, статистическую значимость различий в группах определяли с помощью критерия Краскела-Уоллеса и критерия Манна- Уитни. Различия считали статистически значимыми при р <0,01. Анализ качественных данных проводили с помощью х2 Пирсона с поправкой Йетса. Для проведения корреляционного анализа использовался метод ранговой корреляции Спирмена.

# Выводы:

1. Уровень сосудистого фактора роста - PDGF-AA был увеличен у пациентов рестенозом коронарных артерии: в I – группе 5188,6 [3676,1: 6701,1], II – группе - 6665,7 [4577,9:8753,5], III- группе - 3951,0 [2768,4: 5133,5]. Выявлена слабая прямая корреляционная взаимосвязь между рестенозом коронарных артерии и повышенным уровням PDGF –ВВ после имплантации стента (r=0,43, р=0,001).
2. Оценка полиморфизма генов по полу показала, что среди женщин преимущественно определяются следующие полиморфизмы: PON1 Q192R (rs662) - 95%, PON1 L54M (rs854560)

* 81%, CYP2C19\*3 - 81%. Частота распространения полиморфизма генов среди мужчин встречалась чаще, чем среди женщин: PON1 l54M (rs854560) - 95%, PON1 Q192R (rs662) - 97%, CYP2C19\*3 - 88%, CYP2C19\*2 - 88%, CYP2C19\*17 - 69%.

1. Определены три модели наследования (доминантной, рецессивной и лог-аддитивной) генетического полиморфизма в риске развития рестеноза коронарных артерии:

* доминантный модель по генотипу T/C-C/C (rs12248560) OR 95% ДИ - 0.52 [0.24-1.12], p ≤ 0.09;
* лог-аддитивный модель по генотипу трем генотипом (rs12248560) OR 95% ДИ - 0.54 [0.29- 0.99], p ≤ 0.03;
* рецессивный модель по генотипу A/A (rs4986893) OR 95% ДИ - 0.31 [0.08-1.14], p ≤ 0.05;
* рецессивный модель по генотипу G/G-A/G (rs4244285) OR 95% ДИ - 0.32 [0.09-1.15], p ≤ 0.05;
* доминантный модель по генотипу C/T-C/C (rs662) OR 95% ДИ - 0.45 [0.17-1.2] p ≤ 0.09;

1. При корреляционном анализе выявлены следующие взаимосвязи между факторами риска развития ИБС и генетическими полиморфизмами, повышающими риск развития рестеноза коронарных артерии:

* прямая корреляционная связь (r=1,153; r=0,973) с полиморфными генами CYP2C19\*2, PON1 (Q192R).
* обратная слабая связь с факторами риска и CYP2C19\*17: курение r=-0,2, алкоголь r=-0,14, предрасположенность к ИБС r=-0,14;
* прямая сильная связь с рестенозом коронарных артерии с полиморфным типом гена CYP2C19\*3 (r=2.774);
* при оценке лабораторных показателей выявлена слабая обратная связь между липидограммой, показателями свертываемости крови и генетическим полиморфизмом: ТТЛП с PON1(L55M) r=0,13; тромбоциты-r=0,11; фибриноген - r=-0,12; ПВ - r=0,15; МНО- r=0,11. между факторами риска с PON1(Q192R); слабая обратная связь-R=-0,14; ПТИ - r=0,12; ПВ - r=-0,13;
* между CYP2C19\*17 и ЛПНП - r=0,14; между CYP2C19\*3 и триглицеридами - r=0,14; ПТИ - r=0,17; CYP2C19 \* 2 и ПТИ-r=0,12 - слабая положительная корреляционная связь.