

Получена: 12 июня 2018 / Принята: 19 августа 2018 / Опубликовано online: 31 октября 2018

УДК 616.12-075.8-071-08

## РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ НЕКОТОРЫХ ГЕНОВ, СВЯЗАННЫХ С ФУНКЦИЕЙ ПЛАЗМЕННО-ТРОМБОЦИТАРНОГО ЗВЕНА ГЕМОСТАЗА, ПРИ АСПИРИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ В КАЗАХСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Людмила К. Каражанова <sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0002-4719-6034>

Шолпан Т. Жукушева <sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0003-1902-8284>

Эльмира И. Есимбекова <sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0002-4426-4994>

Миргул А. Капакова <sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0003-4186-8933>

Кафедра кардиологии и интервенционной аритмологии,  
Государственный медицинский университет города Семей,  
г. Семей, Республика Казахстан

### Резюме

**Актуальность темы исследования:** Аспирин является наиболее распространенным антитромбоцитарным препаратом в мировой клинической практике. Он является средством первой линии при лечении острых форм сосудистой недостаточности, связанной с атеросклерозом артерий. Кроме того, наряду с антигиперхолестеринемическими препаратами, аспирин чаще всего используется для первичной и вторичной профилактики этих состояний. Достаточно распространенным в популяции состоянием оказывается снижение эффективности аспирина, определяемое термином «аспиринорезистентность». Главной причиной аспиринорезистентности считают генетические особенности пациентов, структура которых зависит от конкретной популяции.

**Цель работы:** Определение частоты и структуры генетических факторов, обуславливающих индивидуальную предрасположенность к развитию аспиринорезистентности, у больных ишемической болезнью сердца в казахской популяции.

**Материалы и методы:** Дизайн – поперечное клиничко-генетическое исследование. В исследование включены 98 больных казахской национальности диагнозом ИБС (79 мужчин, 19 женщин; средний возраст 58,6±9,7 года). Контрольную группу составили практически 100 здоровых лица (доноры) казахской национальности, сопоставимые по полу и по возрасту с группой исследования. Генетические исследования проводились для определения полиморфизма Leu33Pro гена  $\beta 3$  интегрин (ITGB3), полиморфизма - Thr145Met гена тромбоцитарного гликопротеина 1b,  $\alpha$ -субъединицы (GP1BA), мутации C786T гена синтазы окиси азота 3 (NOS3), мутации АДФ-рецептора тромбоцитов (P2RY12, H1/H2); гена интегрин альфа-2 (гликопротеин Ia/IIa тромбоцитов) (ITGA2), мутация C807T (нарушение синтеза белка).

Статистический анализ. Качественные данные сравнивались с помощью критерия  $\chi^2$ . Частота аллелей оценивались по методу подсчета гена, а  $\chi^2$  был использован для выявления отклонений от равновесия Харди-Вайнберга. Полиморфизмы, связанные с ИБС, были дополнительно проанализированы методом многомерной логистической регрессии.

**Результаты исследования:** В группе контроля частота мутантного аллеля по изученным полиморфизмам составила в гене ITGB3 (Leu33Pro) 14,5%, в гене GP1BA (Thr145Met) – 16,5%, в гене NOS3 (C786T) – 41,5%, в гене H1/H2 (P2RY12) – 27,0%, что значительно ниже таковых частот в обследуемой группе (30,1%, 45,9%, 63,8% и 41,3% соответственно,  $p < 0,05$ ). Исключение составил ген C807T (ITGA2), где различия с группой обследованных пациентов были незначимыми.

При анализе частоты полиморфизмов были выявлены значимые превышения частот мутантных аллелей ITGB3, GP1BA, NOS3 в гомозиготной форме ( $OR=1,37$ ;  $=1,93$ ;  $=2,16$  соответственно,  $p < 0,001$ ) у больных с аспиринорезистентностью. В меньшей степени различались частоты полиморфизмов гена H1/H2 ( $OR=1,15$ ,  $p=0,01$ ) и не было различий по гену ITGA2. Значимая зависимость содержания в крови фибриногена имела место только от (и генотипа GP1BA\_Thr145Met ( $p=0,040$ )).

### Выводы:

1. Развитие аспиринорезистентности у больных ИБС в казахской популяции ассоциировано с наличием мутаций ITGB3\_Leu33Pro, GP1BA\_Thr145Met, NOS3\_C786T и P2RY12\_H1H2.

2. Наибольшие различия по частоте полиморфизмов определены для мутации Thr145Met в гене GP1BA.

3. Имеются взаимосвязи исследованных полиморфизмов гена GP1BA не только с аспиринорезистентностью, но и с повышением содержания в крови фибриногена.

**Ключевые слова:** ишемическая болезнь сердца; аспиринорезистентность; генетика.

Summary

**THE PREVALENCE OF POLYMORPHISMS OF SOME GENES ASSOCIATED WITH THE FUNCTION OF PLASMA-PLATELET HEMOSTASIS, WITH ASPIRIN RESISTANCE IN THE KAZAKH POPULATION**

**Lyudmila K. Karazhanova** <sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0002-4719-6034>

**Sholpan T. Zhukusheva** <sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0003-1902-8284>

**Elmira I. Esimbekova** <sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0002-4426-4994>

**Mirgul A. Kapakova** <sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0003-4186-8933>

<sup>1</sup> Department of Cardiology and Interventional Arrhythmology, State Medical University of Semey, Semey, Republic of Kazakhstan

**The relevance of the research topic:** Aspirin is the most common antiplatelet drug in world clinical practice. It is a first-line agent in the treatment of acute forms of vascular insufficiency associated with atherosclerosis of the arteries. In addition, along with antihypercholesterol drugs, aspirin is most often used for primary and secondary prevention of these conditions. A rather common condition in a population is a decrease in the effectiveness of aspirin, defined by the term «aspirin resistance». The main cause of aspirin resistance is considered to be the genetic characteristics of patients, whose structure depends on the specific population.

**Objective:** To determine the frequency and structure of the genetic factors that determine an individual predisposition to develop of aspirin resistance, in patients with coronary heart disease in the Kazakh population.

**Materials and methods:** Design – cross-sectional clinical-genetic study. The study included 98 patients of Kazakh nationality with a diagnosis of CHD (79 men, 19 women; mean age 58.6±9.7 years). The control group consisted of almost 100 healthy person (the donor) of Kazakh nationality, comparable in sex and age to a study group. Genetic studies were performed to determine the Leu33Pro polymorphism of the β3 integrin gene (ITGB3), the Thr145Met polymorphism of the platelet glycoprotein 1b gene, α-subunit (GP1BA), C786T mutation of the gene 3 of nitric oxide synthase (NOS3), m utatsii platelet ADP-receptor (P2RY12, H1/H2);gene and integrin alpha-2 (platelet glycoprotein Ia/IIa) (ITGA2), mutation C807T (disruption of protein synthesis).

**Statistical analysis.** Qualitative data were compared using the χ<sup>2</sup> test. The frequency of alleles was estimated by the method of gene counting, and χ<sup>2</sup> was used to detect Hardy-Weinberg deviations from the equilibrium. Polymorphisms associated with CHD were further analyzed by multidimensional logistic regression.

**The results of the study:** In the control group, the frequency of the mutant allele for the studied polymorphisms was 14.5% in the ITGB3 (Leu33Pro) gene, 16.5% in the CP1BA (Thr145Met) gene, 41.5% in the NOS3 (C786T) gene, and H1/H2 (P2RY12) - 27.0%, which is significantly lower than those in the surveyed group (30.1%, 45.9%, 63.8% and 41.3%, respectively, p<0.05). The exception wasthe C807T gene (ITGA2), where the differences with the group of examined patients were insignificant.

When analyzing the frequency of polymorphisms, significant frequencies of mutant alleles ITGB3, CP1BA, NOS3 in the homozygous form (OR=1,37; =1.93; =2.16, respectively, p<0.001) were revealed in patients with aspirin resistance. The frequencies of the H1/H2 gene polymorphisms differed to a lesser degree (OR = 1.15, p = 0.01) and there were no differences in the ITGA 2 gene. Wnachimaya dependence in blood fibrinogen occurred only on (and genotype GP1BA\_Thr 145 Met (p = 0.040).

**Findings:**

1. The development of aspirin resistance in IHD patients in the Kazakh population is associated with the presence of mutations ITGB3\_Leu33Pro, GP1BA\_Thr145Met, NOS3\_C786T and P2RY12\_H1H2.

2. The largest differences in the frequency of polymorphisms are determined for the Thr145Met mutation in the GP1BA gene.

3. There are relationships among the studied polymorphisms of the GP1BA gene not only with aspirin resistance, but also with an increase in the content of fibrinogen in the blood.

**Key words:** coronary heart disease; aspirin resistance; genetics.

Түйіндеме

**ГЕМОСТАЗ ЖҮЙЕСІНІҢ ПЛАЗМАЛЫ-ТРОМБОЦИТАРЛЫ ФУНКЦИЯСЫМЕН БАЙЛАНЫСТЫ ГЕНДЕР ПОЛИМОРФИЗМІНІҢ АСПИРИНГЕ ТӨЗІМДІЛІГІ БАР ҚАЗАҚ ПОПУЛЯЦИЯСЫ АРАСЫНДА ТАРАЛУЫ**

**Людмила Қ. Қаражанова** <sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0002-4719-6034>

**Шолпан Т. Жукушева** <sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0003-1902-8284>

**Эльмира И. Есімбекова** <sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0002-4426-4994>

**Миргул А. Қапақова** <sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0003-4186-8933>

**Кардиология және интервенциялық аритмология кафедрасы,  
Семей қ. Мемлекеттік медицина университеті,  
Семей қ., Қазақстан Республикасы.**

**Кіріспе:** Медициналық жоғары оқу орнында оқу студенттердің шиеленіскен бейімделуінің қиындауына байланысты психикалық жағдайының өзгеруіне әкеледі. Осының салдары аддикцияларға осалдық және тәуелді мінез-құлықтың дамуына ықтимал болуы мүмкін.

**Зерттеу мақсаты:** Семей қаласының мемлекеттік медицина университетінің (Семей қ.ММУ) студенттері арасында тәуелділік қауіп-қатер таралуын, оның ішінде олармен өзара байланысты әлеуметтік-психологиялық факторлар контекстінде анықтау.

**Материалдар мен әдістер:** Семей қ.ММУ-нің бірінші курсының 643 студенттерінен сауалнама көмегімен біртегіз кросс-секционды бағалау өткізілді. Іріктеу тұтас әдістермен құрылған. Әлеуметтік, психометриялық және статистикалық әдістер қолданылды. Бағалау құралдары ретінде Бек шкаласы, Пейкельдің суицидтік шкаласы және Лозованың сауалнамасы қолданылды. Статистикалық әдіс суреттейтін статистика алынды, яғни сандық айнымалы үшін орта және стандартты ауытқу әдісі, ал бөлікті сапалық айнымалы алынды. Салыстырмалы статистика жұптастыру таблицасы арқылы жасалынды. Корреляциялық талдау анализ Спирмен коэффициент көмегімен жасалынды. Логистикалық регрессияны аддикцияның даму қаупіне әлеуметтік-психологиялық факторлардың әсерін анықтау үшін қолданылды.

**Нәтижелер.** Оқушылардың демографиялық портретіне сипаттама берілді. Сұралғандардың 14% депрессия белгілері туралы хабарлады. Қыздар мен ұлдар арасында депрессивті симптомдар бойынша айырмашылық анықталған жоқ. Аддиктивті бейімділік белгілері мінез-құлық және химиялық тәуелділіктерге қатысты бір мезгілде анықталған. Мінез-құлықтық тәуелділіктер арасында жиі кездеседі: салауатты өмір салтына тәуелділік (81%), махаббаттық (66,8%), тағамдық (62,2%) және діни тәуелділік (61,9%). Алкоголизм бойынша осалдық 2,3%, нашақорлық бойынша - 2,6% деңгейінде болды. Белгілі бір тәуелділіктер мен сұралғандардың жынысының өзара байланысы анықталды. Регрессиялық талдау шеңберінде тәуелділік қауіп-қатерімен өзара байланысы бар нақты предикторлар айқындалды.

**Қорытынды.** Скринингтік іс-шараларды күшейту және аддикциялардың нақты тәуекелдерінің алдын алу бойынша интервенциялық технологияларды енгізу, оның ішінде медициналық жоғары оқу орындарының студенттерінде негізгі өзара байланысты факторлар контекстінде енгізу.

#### **Библиографическая ссылка:**

*Каражанова Л.К., Жукушева Ш.Т., Есімбекова Э.И., Қапақова М.А.* Распространенность полиморфизмов некоторых генов, связанных с функцией плазменно-тромбоцитарного звена гемостаза, при аспиринорезистентности в казахской популяции // Наука и Здравоохранение. 2018. 5 (Т.20). С. 164-171.

*Karazhanova L.K., Zhukusheva Sh.T., Esimbekova E.I., Kapakova M.A.* The prevalence of polymorphisms of some genes associated with the function of plasma-platelet hemostasis, with aspirin resistance in the kazakh population. *Nauka i Zdravookhranenie* [Science & Healthcare]. 2018, (Vol.20) 5, pp. 164-171.

*Қаражанова Л.Қ., Жукушева Ш.Т., Есімбекова Э.И., Қапақова М.А.* Гемостаз жүйесінің плазмалы-тромбоцитарлы функциясымен байланысты гендер полиморфизмінің аспиринетөзімділігі бар қазақ популяциясы арасында таралуы // Ғылым және Денсаулық сақтау. 2018. 5 (Т.20). Б. 164-171.

#### **Актуальность.**

Необходимым, одним из важнейших и наиболее доказательным подходом к лечению ишемической болезни сердца (ИБС) является применение препаратов, нормализующих функцию сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза [3, 12, 22]. Учитывая очень большую численность лиц, подлежащих первичной и вторичной профилактике артериальных тромбозов, наиболее целесообразным является использование широко распространенных и выгодных экономически препаратов ацетилсалициловой кислоты [4,7,10]. Их относят к средствам первого ряда практически во всех комплексных исследованиях, связанных с патологиями, обусловленными атеросклерозом. Однако, по данным полученным в последнее десятилетие, профилактика агрегации

тромбоцитов далеко не всегда оказывается эффективной [26]. Ведущую роль в снижении ее результатов играет так называемый феномен аспиринорезистентности. Он заключается в резком уменьшении или отсутствии действия ацетилсалициловой кислоты на агрегацию тромбоцитов [2,5,11]. Продолжающаяся дискуссия относительно роли резистентности к антиагрегантам в отношении кардиоваскулярного риска [14] не меняет общей установки на осуществление эффективной антиагрегантной терапии при всех формах ИБС.

До настоящего времени определение эффектов аспирина в клинике ограничено необходимостью неоднократного анализа, особенностями фармакокинетики и фармакодинамики салицилатов, малой распространенностью и высокой стоимостью

соответствующих препаратов в жидкой форме, которая позволяет осуществлять исследование *in vitro* [16,19]. Большая вариабельность исследуемых показателей агрегации тромбоцитов, необходимость организации неоднократного исследования показателей тромбоцитарного гемостаза в стандартных условиях для определения результативности антиагрегантной терапии аспирином *in vivo* также является препятствием для прямого выявления аспиринорезистентности [1].

В то же время имеются данные о том, что снижение чувствительности тромбоцитарного звена гемостаза к аспирину ассоциировано с нарушениями функции ряда белков, определяемого наличием генетических изменений [21,25,27].

**Цель работы:** Определение частоты и структуры генетических факторов, обуславливающих индивидуальную предрасположенность к развитию аспиринорезистентности, у больных ишемической болезнью сердца в казахской популяции.

**Материалы и методы исследования:**

Дизайн – поперечное клинико-генетическое исследование.

В исследование включены 98 больных казахской национальности диагнозом ИБС (79 мужчин, 19 женщин; средний возраст 58,6±9,7 года). Алгоритм обследования включал сбор жалоб, анамнеза, клинический осмотр, запись электрокардиограмм (ЭКГ), контроль показателей системной гемодинамики, проведение эхокардиографии, коронарографии, суточного мониторирования ЭКГ, биохимических показателей крови.

Клиническая характеристика исследуемых больных представлена в таблице 1.

Таблица 1.

**Клиническая характеристика больных.**

Параметры	Группа больных, n=98	
	абс.	%
Мужчины	79	80,6
Женщины	19	19,4
Возраст, лет	58,6±9,7	
Индекс массы тела	30,3±3,1	
Семейный анамнез	14	14,3
Курение	46	46,9
Систолическое АД, мм рт.ст.	136,9±13,6	
Диастолическое АД, мм рт.ст.	83,2±6,6	
Холестерин, ммоль/л	5,7±1,0	
Триглицериды, ммоль/л	1,8±0,7	
Фибриноген, мг/л	3116,6 ±118,1	
Дислипидемия	52	53,1
Нестабильная стенокардия	35	35,7
Постинфарктный кардиосклероз	90	91,8
Реваскуляризация миокарда	51	52,0
Артериальная гипертензия	74	75,5
Ишемический инсульт	10	10,2
Сахарный диабет	7	7,1

Структура обследованных больных ИБС: постинфарктный кардиосклероз – 90; нестабильная стенокардия – 22, из них после реваскуляризации миокарда – 51 пациент. Основные факторы риска ИБС:

артериальная гипертензия I-II степени диагностирована у 75, у 10 – перенесенный ишемический инсульт, сахарный диабет 2 типа выявлен у 6 пациентов. У всех больных получено информированное согласие на участие в исследовании.

Контрольную группу составили практически 100 здоровых лица (доноры) казахской национальности, сопоставимые по полу и по возрасту с группой исследования.

Молекулярно-генетическое исследование включало: выделение ДНК, определение качества и концентрации ДНК, электрофорез в 1-1,5% агарозном геле для качественного анализа ДНК, дизайн праймеров, полимеразно-цепная реакция - ПЦР, анализ отсекуированных участков, также диагностикумы НПФ ЛИТЕХ, Москва (Россия) для амплификации ПЦР с последующей детекцией продуктов амплификации фрагментов ДНК в 1-1,5% агарозном геле (GelDoc. BioRad, США). Результат оценивался как нормальная гомозигота (0), гетерозигота (1), мутантная гомозигота (3). Генетические исследования проводились для определения полиморфизма Leu33Pro гена β3 интегрин (ITGB3), полиморфизма - Thr145Met гена тромбоцитарного гликопротеина 1b, α-субъединицы (GP1BA), мутации C786T гена синтазы окиси азота 3 (NOS3), мутации АДФ-рецептора тромбоцитов (P2RY12, H1/H2); гена интегрин альфа-2 (гликопротеин Ia/Ia тромбоцитов) (ITGA2), мутация C807T (нарушение синтеза белка).

**Статистическая обработка.** Статистический анализ полученных результатов проводился с использованием программы SPSS19.0 (SPSS, JAPAN) и Microsoft Excel 2007. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ . Для описания относительного риска развития заболевания рассчитывали отношение шансов (OR). Как отсутствие ассоциации рассматривали  $OR = 1$ , как положительную ассоциацию –  $OR > 1$  и  $OR < 1$  – как отрицательную ассоциацию аллеля или генотипа с заболеванием (пониженный риск развития патологии). Доверительный интервал (CI) представляет собой интервал значений, в пределах которого с вероятностью 95% находится ожидаемое значение OR.

Качественные данные сравнивались с помощью критерия  $\chi^2$ . Частота аллелей оценивались по методу подсчета гена, а  $\chi^2$  был использован для выявления отклонений от равновесия Харди-Вайнберга.

Распределение генотипов каждого полиморфизма сравнивали между субъектами с ИБС и контроля по  $\chi^2$  (3x2). Полиморфизмы, связанные с ИБС, были дополнительно проанализированы методом многомерной логистической регрессии. Каждый генотип оценивался в соответствии с доминантной, рецессивной, добавочной 1 (гетерозиготы по сравнению с гомозиготой дикого типа), и добавочной 2 (вариант гомозигот по сравнению с гомозиготой дикого типа) генетической модели.

**Результаты исследования:**

Частоты аллелей полиморфизмов Leu33Pro гена ITGB3, Thr145Met гена GP1BA, C786T гена NOS3, H1/H2 гена P2RY12 и C807T ген ITGA2 по результатам генетического обследования 98 больных ИБС и 100 контрольных лиц представлены в таблице 2.

Таблица 2.

Частота аллелей при анализе полиморфизмов Leu33Pro в гене ITGB3, Thr145Met в гене GP1BA, C786T в гене NOS3, H1/H2 в гене P2RY12, C807T в гене ITGA2 в исследуемых группах.

Полиморфизм	Аллели <sup>а</sup>	Частота аллелей, %		$\chi^2$	p-value
		группа больных	контрольная группа		
Leu33Pro в гене ITGB3	0	69,9	85,5	13,94	<0,006
	1	30,1	14,5		
Thr145Met в гене GP1BA	0	54,1	83,5	40,01	<0,001
	1	45,9	16,5		
C786T в гене NOS3	0	36,2	58,5	19,70	<0,001
	1	63,8	41,5		
H1/H2 в гене P2RY12	0	58,7	73,0	9,04	0,021
	1	41,3	27,0		
C807T в гене ITGA2	0	66,8	76,0	4,08	0,074
	1	33,2	24,0		

В группе контроля частота мутантного аллеля по изученным полиморфизмам составила в гене ITGB3 (Leu33Pro) 14,5%, в гене GP1BA (Thr145Met) – 16,5%, в гене NOS3 (C786T) – 41,5%, в гене H1/H2 (P2RY12) – 27,0%, что значительно ниже таковых частот в обследуемой группе (30,1%, 45,9%, 63,8% и 41,3% соответственно). Исключение среди обследованных генов составил C807T (ITGA2), где различия с группой обследованных пациентов были незначимыми.

Таким образом, в основной группе больных имела место значительно большая встречаемость мутантных гомо- и гетерозиготных форм.

Частота встречаемости и анализ ассоциации частоты генотипов и аллелей TGB3, GP1BA, NOS3, P2RY12, ITGA2 в группе больных ИБС и в контрольной группе с учетом статистической значимости по критерию Пирсона приведены в таблице 3.

Таблица 3.

Частота генотипов при анализе полиморфизмов Leu33Pro в гене ITGB3, Thr145Met в гене GP1BA, C786T в гене NOS3, H1/H2 в гене P2RY12, C807T в гене ITGA2 в исследуемых группах.

Полиморфизм	Генотип <sup>а</sup>	Частота генотипа, %		$\chi^2$	p-value
		группа больных	контрольная группа		
Leu33Pro в гене ITGB3	0	54,1	74,0	17,51	0,001
	1	31,6	23,0		
	2	14,3	3,0		
Thr145Met в гене GP1BA	0	35,7	69,0	24,48	0,001
	1	46,9	29,0		
	2	17,3	2,0		
C786T в гене NOS3	0	15,3	33,0	19,98	0,001
	1	41,8	51,0		
	2	42,9	16,0		
H1/H2 в гене P2RY12	0	41,8	48,0	14,28	0,01
	1	33,7	42,0		
	2	24,5	6,0		
C807T в гене ITGA2	0	52,0	60,0	4,48	0,106
	1	29,6	32,0		
	2	18,4	8,0		

**Примечание:** <sup>а</sup> - 0 – гомозиготный немутантный вариант,  
 1 – гетерозиготный вариант,  
 2 – гомозиготный мутантный вариант

При анализе значимости наличия мутантной аллели Leu33Pro было выявлено 23 гетерозиготы среди 100 здоровых лиц и 32 среди 98 больных ИБС (53 нормальных гомозиготы и 14 мутантных гомозигот). Различия между группами по примененным статистическим критериям были значимыми ( $\chi^2=17,5$ ;  $p<0,001$ ).

При анализе значимости наличия мутантной аллели Thr145Met было выявлено 29 гетерозигот среди 100 здоровых лиц и 46 среди 98 больных ИБС (35 немутантных гомозигот и 17 мутантных гомозигот). Различия между группами по критерию Пирсона были статистически значимы ( $\chi^2=24,5$ ;  $p<0,001$ ). При анализе значимости наличия мутантной аллели C786T было выявлено 83 мутации в гетерозиготной и гомозиготной

форме среди 98 больных ИБС и 67 среди 100 здоровых лиц. Различия между группами по критерию Пирсона были статистически значимы ( $\chi^2=19,98$ ;  $p<0,001$ ).

По наличию мутантной аллели Н1/Н2 различия между группами больных ИБС и здоровыми лицами оказались также значимыми ( $\chi^2=14,3$ ,  $p<0,01$ ). Выявленные очень высокие показатели статистической значимости при использовании принятой методики свидетельствует о преимущественной клинической значимости мутантного гена в гомозиготном состоянии.

Наименее выраженные различия между основной и контрольной группой были зарегистрированы по частоте мутантной аллели и гомозиготного мутантного генотипа в отношении С807Т. По частоте аллели различия находились на границе статистической значимости ( $\chi^2=4,48$ ,  $p<0,001$ ), а по частоте нахождения мутантного гена в гомозиготном состоянии были ненамного более значимыми ( $\chi^2=5,01$ ,  $p<0,05$ ) (данные анализа по полиморфизмам статически достоверности низкий, возможно за счет количества образцов).

Результаты анализа частоты генотипов и аллелей полиморфизмов Leu33Pro в гене ITGB3, Thr145Met в гене GP1BA, C786T в гене NOS3, H1/H2 в гене P2RY12, C807T в гене ITGA2 в исследуемых группах больных и контроля в зависимости от моделей показало, что распределение генотипов полиморфизма Leu33Pro в гене ITGB3 соответствовало равновесию Харди-Вайнберга ( $p=0,018$  и  $p=0,029$  в группе больных и контроля, соответственно). Частота мутантной аллели С в группе больных было выше в сравнении с контрольной группой (30% и 12% соответственно). В случае С-полиморфизма тромбоциты приобретают повышенную склонность к агрегации, поэтому носители этого варианта имеют повышенный риск тромбообразования с такими последствиями, как инфаркт миокарда, развитие острого коронарного синдрома. В то же время у пациентов с этим вариантом полиморфизма отмечается низкая эффективность применения в качестве антиагрегантов таких препаратов, как аспирин и плавикс [5,24].

Генотипы полиморфизма Thr145Met в гене GP1BA распределялись согласно равновесию Харди-Вайнберга, ( $p=0,84$  и  $p=0,34$  в группе больных и контроля, соответственно). Несмотря на то, что частота мутантного аллеля в группе больных ИБС была в 8 раз выше, чем в контрольной группе (17% и 2%), анализ распределения генотипов в группах больных и контроля по различным моделям не выявил ассоциации с заболеванием.

Распределение генотипов полиморфизма C786T в гене NOS3 у больных ИБС (43%, 42%, 15% соответственно) и группе контроля (16%, 51%, 33% соответственно) не отличалось от частот распределения генотипов согласно равновесию Харди-Вайнберга  $p=0,68$  и  $p=0,39$  в группе больных и контроля, соответственно).

Частоты распределения генотипов H1/H2 в гене P2RY12 в группе больных ИБС (42%, 34%, 24% соответственно) и группе контроля (42%, 58% и 0% соответственно) подчинялись закону Харди-Вайнберга ( $p=0,0036$  и  $p=0,0001$  в группе больных и контроля, соответственно). Выявлена ассоциация генотипов H2

данного полиморфизма с риском развития ИБС как по кодоминантной модели (OR=3.75, 95% CI (0.14-99.88),  $p=0,55$ ), так и по доминантной модели (OR=2.78 95% CI (0.11-70.93),  $p=0,52$ ).

Таким образом у пациентов ИБС казахской национальности с наличием аспиринорезистентности были выявлены ассоциации с генотипом H2 полиморфизма гена рецептора АДФ P2Y12.

Распределение генотипов полиморфизма C807T в гене ITGA2 подчинялось равновесию Харди-Вайнберга в группах больных и контроля ( $p=0,0015$  и  $p=0,27$  соответственно). Не выявлено статистически значимой ассоциации аллелей полиморфизма C807T в гене ITGA2 с развитием аспиринорезистентности у больных ИБС вне зависимости от модели анализа. Наличие Т-аллеля ассоциируется с увеличением скорости адгезии тромбоцитов, что может являться фактором риска тромбофилии [13]. В нашем исследовании генотип ТТ встречался в два раза чаще у больных ИБС (18%), чем у лиц группы контроля (8%). В работах различных исследователей показана ассоциация наличия аллеля Т и риска развития инфаркта миокарда, ишемического инсульта и тромбоэмболии, особенно в более молодом возрасте [23].

Результаты анализа неравновесного сцепления показывают, что полиморфизм гена GP1BA Thr145Met находится в неравновесном сцеплении с полиморфизмом C786T гена NOS3,  $p=0,0029$ , и полиморфизмом H1/H2 гена P2RY12,  $p=0,015$ . Отмечено, что при наличии носительства мутантных аллелей по данным полиморфизмам у одного и того же пациента, увеличивается риск заболевания ИБС.

При анализе корреляционных взаимосвязей изученных параметров среди контрольной группы выявлены слабые, но статистически значимые корреляции между уровнем холестерина в крови и уровнем триглицеридов ( $r=0,246$ ,  $p=0,014$ ), содержанием холестерина и уровнем систолического АД ( $r=0,407$ ,  $p=0,001$ ) и величинами систолического и диастолического АД ( $r=0,258$ ,  $p=0,010$ ). По остальным параметрам статистически значимых связей не выявлено.

При анализе корреляционных взаимосвязей изученных параметров среди группы больных ИБС с аспиринорезистентностью выявлены сильные статистически значимые корреляции между уровнем холестерина в крови и уровнем триглицеридов ( $r=0,727$ ;  $p=0,001$ ), а также корреляционные взаимосвязи между уровнем холестерина и уровнем фибриногена ( $r=0,283$ ;  $p=0,004$ ). Уровень систолического АД и диастолического АД показали сильные корреляционные взаимосвязи ( $r=0,803$ ;  $p=0,001$ ). Причем в сравнении с лицами контрольной группы корреляционные взаимосвязи в группе больных ИБС были выше.

Для изучения возможных детерминант уровня фибриногена у больных ИБС нами был проведен анализ множественной регрессии, включая фибриноген как зависимую переменную, а пол, возраст, уровень холестерина, триглицеридов, индекс массы тела, генотипы полиморфизмов - как предикторы, данные которых представлены в таблице 4.

Таблица 4.

**Анализ множественной регрессии переменных, ассоциированных с уровнем фибриногена у больных ИБС.**

Показатель	Стандартный коэффициент	t	P
	Бета		
(Константа)		1,354	0,179
Возраст	-0,100	-0,884	0,379
Холестерин	0,358	2,581	<b>0,012</b>
Триглицериды	-0,109	-0,778	0,439
ДАД	-0,004	-0,025	0,980
САД	0,062	0,353	0,725
ИМТ	-0,147	-1,534	0,129
Пол	0,159	1,499	0,137
ITGB3_Leu33Pro	0,197	1,863	0,066
GP1BA_Thr145Met	-0,230	-2,083	<b>0,040</b>
NOS3_C786T	0,082	0,833	0,407
P2RY12_H1H2	0,015	0,135	0,893
ITGA2_C807T	0,046	0,461	0,646

При использовании данной модели анализа установлено, что статистически значимая зависимость содержания в крови фибриногена имела место только от двух параметров – содержания холестерина (beta=0,358, p=0,012) и генотипа GP1BA\_Thr145Met (beta=-0,230, p=0,040).

**Заключение:**

Таким образом, в результате проведенного исследования было выявлено наличие ряда существенных отличий частоты мутантных аллелей генов ITGB3, GP1BA, NOS3, P2RY12 у пациентов, страдающих ИБС, перенесших острую форму данного заболевания и имеющих признаки аспирино-резистентности в сравнении с популяционным контролем. Следует указать, что в рамках работы мы не могли оценить конкретного вклада каждого из исследованных полиморфизмов в развитие аспирино-резистентности, как не оценивали и степень ее выраженности. С другой стороны, для большинства зарубежных исследований также характерна лишь констатация наличия данного синдрома без уточнения его тяжести и потенциальной клинической значимости [5,9,15]. С другой стороны, частота исследованных аллелей при кроссфакторном анализе значимо не отличалась от равновесного распределения, что свидетельствует в пользу независимости каждого из генетических факторов в генезе аспирино-резистентности [8].

Исходя из результатов работы, мы полагаем, что комплексный генетический анализ, включающий определение наличия наиболее распространенных мутантных аллелей генов ITGB3, GP1BA, NOS3, P2RY12 в исследованной популяции позволит выявить потенциальные группы риска развития тромботических осложнений среди больных ИБС, подвергающихся аспиринотерапии. Этот подход рекомендован в ряде зарубежных исследований [17,20].

Как показывают результаты анализа множественной регрессии, наличие исследованной мутации в гене GP1BA связано также с уровнем фибриногена, который относится к числу предикторов тромботических осложнений у пациентов, перенесших острый коронарный синдром [18].

**Выводы**

1. Развитие аспирино-резистентности у больных ИБС в казахской популяции ассоциировано с наличием мутаций ITGB3\_Leu33Pro, GP1BA\_Thr145Met, NOS3\_C786T и P2RY12\_H1H2.

2. Наибольшие различия по частоте полиморфизмов определены для мутации Thr145Met в гене GP1BA.

3. Имеются взаимосвязи исследованных полиморфизмов гена GP1BA не только с аспирино-резистентностью, но и с повышением содержания в крови фибриногена.

**Литература:**

1. Amsallem M., Manzo-Silberman S., Dillinger J.G., Sideris G., Voicu S., Bal dit Sollier C., Drouet L., Henry P. Predictors of high on-aspirin platelet reactivity in high-risk vascular patients treated with single or dual antiplatelet therapy. *Am J Cardiol.* 2015 May 1;115(9):1305-10.
2. Bhatt D.L. My Approach to the patient with CAD and aspirin resistance. *Trends Cardiovasc Med.* 2017 Oct;27(7):518-519.
3. Dąbrowski R., Dobrowolski M. Stable coronary artery disease - medical treatment. *Pol Merkur Lekarski.* 2017 Nov 23;43(257):228-231.
4. Dash D. Current Status of Antiplatelet Therapy in Acute Coronary Syndrome. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem.* 2015;13(1):40-49.
5. Floyd CN, Ferro A. Antiplatelet drug resistance: Molecular insights and clinical implications. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2015 Jul;120:21-7.
6. Floyd C.N., Ferro A. The PIA1/A2 polymorphism of glycoprotein IIIa in relation to efficacy of antiplatelet drugs: a systematic review and meta-analysis. *Br J Clin Pharmacol.* 2014 Mar;77(3):446-57.
7. Gachet C. Antiplatelet drugs: which targets for which treatments? *J Thromb Haemost.* 2015 Jun;13 Suppl 1:S313-322.
8. Gallego-Fabrega C., Krupinski J., Fernandez-Cadenas I. Genestroke Consortium, Consorcio Español para el Estudio Genético del Ictus. Drug resistance and secondary treatment of ischaemic stroke: The genetic component of the response to acetylsalicylic acid and clopidogrel. *Neurologia.* 2015 Nov-Dec;30(9):566-73.

9. Gratsianskii N.A. Antiplatelet therapy in coronary heart disease. Some problems and achievements. *Kardiologiya*. 2010;50(6):4-21.
10. Grove E.L., Würtz M., Thomas M.R., Kristensen S.D. Antiplatelet therapy in acute coronary syndromes. *Expert Opin Pharmacother*. 2015;16(14):2133-2147.
11. Han YL. Aspirin resistance in coronary heart disease: Current understandings and strategies. *J Transl Int Med*. 2016 Apr 1;4(1):7-10.
12. Harari R., Baber U. Optimal Antiplatelet Therapy in ST-Segment Elevation Myocardial Infarction. *Interv Cardiol Clin*. 2016 Oct;5(4):481-495.
13. Kunicki T.J., Williams S.A., Nugent D.J., Harrison P., Segal H.C., Syed A., Rothwell P.M. Lack of association between aspirin responsiveness and seven candidate gene haplotypes in patients with symptomatic vascular disease. *Thromb Haemost*. 2009 Jan;101(1):123-33.
14. Larsen S.B., Grove E.L., Neergaard-Petersen S., Würtz M., Hvas A.M., Kristensen S.D. Reduced antiplatelet effect of aspirin does not predict cardiovascular events in patients with stable coronary artery disease. *J Am Heart Assoc*. 2017 Aug 5;6(8).
15. Manolis AS, Manolis TA, Papadimitriou P, Koulouris S, Melita H. Combined antiplatelet therapy: still a sweeping combination in cardiology. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*. 2013 Jun;11(2):136-67.
16. Michelson A.D., Bhatt D.L. How I use laboratory monitoring of antiplatelet therapy. *Blood*. 2017 Aug 10;130(6):713-721.
17. Mukarram O., Akhtar N., Junaid A., Mohyuddin A. A study into the genetic basis of aspirin resistance in Pakistani patients with coronary artery disease. *Pak J Pharm Sci*. 2016 Jul;29(4):1177-82.
18. Peng Y., Xia T.L., Li Y.M., Huang F.Y., Chai H., Wang P.J., Liu W., Zhang C., Pu X.B., Chen S.J., Chen M., Huang D.J. Fibrinogen is related to long-term mortality in Chinese patients with acute coronary syndrome but failed to enhance the prognostic value of the GRACE score. *Oncotarget*. 2017 Mar 28;8(13):20622-20629.
19. Pettersen A.A., Arnesen H., Seljeflot I. A brief review on high on-aspirin residual platelet reactivity. *Vascul Pharmacol*. 2015 Apr-Jun;67-69:6-9.
20. Ross S., Nejat S., Paré G. Use of genetic data to guide therapy in arterial disease. *J Thromb Haemost*. 2015 Jun;13 Suppl 1:S281-289.
21. Vasudeva K., Chaurasia P., Singh S., Munshi A. Genetic Signatures in Ischemic Stroke: Focus on Aspirin Resistance. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2017; 16(9): 974-982.
22. Villanueva T. Optimal Duration of Antiplatelet Therapy Following Acute Coronary Syndrome. *J Fam Pract*. 2017 Dec;66 (12 Suppl).
23. Weng Z., Li X., Li Y., Lin J., Peng F., Niu W. The association of four common polymorphisms from four candidate genes (COX-1, COX-2, ITGA2B, ITGA2) with aspirin insensitivity: a meta-analysis. *PLoS One*. 2013 Nov 14;8(11):e78093.
24. Xu Z.H., Jiao J.R., Yang R., Luo B.Y., Wang X.F., Wu F. Aspirin resistance: clinical significance and genetic polymorphism. *J Int Med Res*. 2012;40(1):282-292.
25. Xue M., Yang X., Yang L., Kou N., Miao Y., Wang M., Ren J., Zhao Q. rs5911 and rs3842788 Genetic Polymorphism, Blood Stasis Syndrome, and Plasma TXB2 and hs-CRP Levels Are Associated with Aspirin Resistance in Chinese Chronic Stable Angina Patients. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2017;2017:9037094.
26. Zhang L., Ma X., You G., Zhang X., Fu Q. A Novel Multiplex HRM Assay to Detect Clopidogrel Resistance. *Sci Rep*. 2017 Nov 22;7(1):16021.
27. Zhao Z., Li X., Sun S., Mei S., Ma N., Miao Z., Zhao M., Peng S. Impact of genetic polymorphisms related to clopidogrel or acetylsalicylic acid pharmacology on clinical outcome in Chinese patients with symptomatic extracranial or intracranial stenosis. *Eur J Clin Pharmacol*. 2016 Oct; 72(10): 1195-1204.

**Контактная информация:**

**Жукушева Шолпан Турганбаева** – доцент кафедры кардиологии и интервенционной аритмологии, Государственный медицинский университет города Семей, г. Семей, Республика Казахстан

**Почтовый адрес:** 071400, Республика Казахстан, г. Семей, улица Абая 103.

**E-mail:** sholpan.nur@mail.ru,

**Телефон:** +7747-303-1663