

## АССОЦИАЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ И ВИДА ПРОВОДИМОЙ ТЕРАПИИ С ПРОГНОЗОМ У ПАЦИЕНТОВ С ИНФАРКТОМ МИОКАРДА

В.А. Снежицкий, В.С. Гольшко

УО "Гродненский государственный медицинский университет", Гродно, Беларусь

*В статье рассматривается ассоциация полиморфизмов промоторных участков генов цитокинов IL-10 (G-1082A), TNF $\alpha$  (G-308A) и вида комплексного лечения с прогнозом наступления неблагоприятных сердечно-сосудистых исходов у пациентов с инфарктом миокарда (ИМ). Носительство генотипа G/A по полиморфизму IL10 G1082A ассоциировано с более низким риском развития сердечно - сосудистых осложнений у пациентов ИМ. Установлено, что при длительном наблюдении пациентов, перенесших ИМ, в группе резидентов, получивших комбинированную терапию неблагоприятные сердечно - сосудистые исходы наблюдались значительно реже.*

**Ключевые слова:** инфаркт миокарда, полиморфизм генов, низкочастотная магнитотерапия, прогноз.

По данным Всемирной организации здравоохранения, сердечно - сосудистые заболевания, главным образом, инфаркт миокарда (ИМ), занимают первое место среди причин смертности в большинстве стран [3, 12].

Важным звеном в улучшении качества лечения пациентов ИМ является как можно более точная оценка риска развития сердечно - сосудистых осложнений (ССО). Установлена прогностическая значимость у лиц, перенесших ИМ, BNP и СРБ [6,8, 16]. Кроме того, в последние годы с целью прогнозирования ССО у пациентов ИМ определяют уровни ряда маркеров воспаления, таких как IL10 и TNF $\alpha$ . Динамика изменений содержания данных цитокинов в крови может отражать процессы, происходящие в измененных коронарных артериях [5,7, 11, 15]. Вместе с тем концентрация медиаторов воспаления в крови зависит от генетических факторов, влияющих на уровни транскрипции отдельных генов [1], и подключения к стандартному медикаментозному лечению физических факторов, к примеру, методики экстракорпоральной аутогемомангнитотерапии (ЭАГМТ) [2].

Эти данные позволили предположить, что генотипы, определяющие концентрации про- и противовоспалительных цитокинов, а также вид проводимой терапии, могут влиять на риск развития ССО после перенесенного ИМ.

**Цель исследования** состояла в проведении анализа выживаемости больных ИМ при различных вариантах проводимой терапии и выявление ее связи с полиморфизмом генов про- и противовоспалительных цитокинов.

### Материал и методы

Проведено 3-х летнее проспективное исследование 87 больных с установленным, согласно критериям Европейского общества кардиологов диагнозом ИМ [4].

Всем пациентам проводилось генотипирование промоторных участков генов цитокинов IL-10 (G-1082A), TNF $\alpha$  (G-308A). Определение полиморфизма генов IL-10 (G-1082A), TNF $\alpha$  (G-308A) осуществляли методом ПЦР в режиме реального времени (анализатор Rotor-Gene 6000) с аллель-специфичными праймерами, синтезированными в НПФ "Литех", Россия. В зависимости от технической возможности проведения сеансов ЭАГМТ (наличие хорошего венозного доступа) из когорты обследованных было выделено 72 пациента, которые были сформированы в 2 подгруппы в зависимости от проводимой терапии: 22 пациента с ИМ на фоне проведения стандартной медикаментозной терапии; 50 пациентов, в лечение которых была включена ЭАГМТ. Аутогемомангнитоте-

рапия проводилась аппаратом "HemoSPOK" (ООО "Магномед", Беларусь - Германия) в течение 30 минут путем воздействия импульсного магнитного поля (60-200 Гц), модулированного частотой 10 Гц при индукции 140 + 10 мТл на кровь. Курс ЭАГМТ - 5 процедур ежедневно. Всем пациентам назначались антитромбоцитарные препараты, антикоагулянты,  $\beta$ -блокаторы, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, нитраты, гиполипидемические препараты.

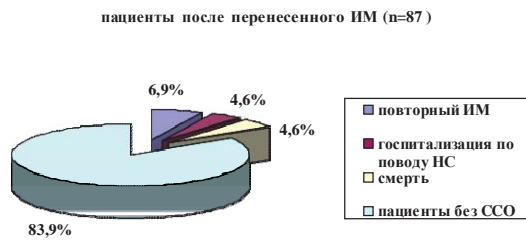
Наблюдение продолжалось в среднем 20[15;28.75] месяца. Состояние пациентов оценивали при повторных госпитализациях, амбулаторных посещениях, по данным медицинской документации. Регистрируемыми событиями были случаи смерти и острые коронарные события: повторный инфаркт миокарда и эпизоды нестабильной стенокардии напряжения, требующие госпитализации, которые в последующем были объединены в комбинированную точку.

Статистическая обработка результатов осуществлялась при помощи компьютерной программы Statistica 6.0. Количественные данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха, качественные в виде абсолютной и относительной частот. В первом случае группы сравнивали посредством критерия Манна-Уитни, втором -  $\chi^2$  (точного двустороннего теста Фишера). Проводился анализ выживаемости методом множительных оценок Каплана-Мейера, сравнение времен жизни в отдельных группах пациентов с использованием лог-рангового критерия, выявление параметров, ассоциированных с выживаемостью посредством построения регрессионных моделей пропорциональных рисков Кокса. Основным анализируемым событием рассматривался первое наступившее у пациента ССО.

### Результаты

На первом этапе исследования был проведен анализ данных о наступлении неблагоприятных сердечно - сосудистых исходов в зависимости от полиморфизма генов 2-х представителей цитокиновой сети: провоспалительного TNF $\alpha$  и IL10, обладающего выраженными противовоспалительными свойствами.

Всего наблюдалось 87 человек, из них у 14 (16,09%) пациентов зарегистрировано развитие комбинированной конечной точки. Летальность составила 4,6% (умерли 4 человека), у 6 (6,9%) развились повторные ИМ. Обострение ишемической болезни сердца (нестабильная стенокардия), потребовавшая госпитализации, зарегистрирована у 4 (4,6%) резидентов.



**Рисунок 1 - Частота неблагоприятных исходов, происходивших у пациентов за 3-летний период наблюдения после перенесенного ИМ**

Для каждого из исследованных генов проводили сравнение частот генотипов полиморфных участков выбранных цитокинов у пациентов ИМ с ССО и без них.

На момент анализа в группе пациентов с ССО доля генотипа GG полиморфизма TNF G308A составила 71,43% (10 резидентов из 14), а в группе без неблагоприятных сердечно - сосудистых событий 80,82% (59 пациентов из 73). Доля резидентов с генотипом G/A среди пациентов ИМ и сердечно - сосудистыми осложнениями и без них, соответственно составила 28,57% и 19,18%.

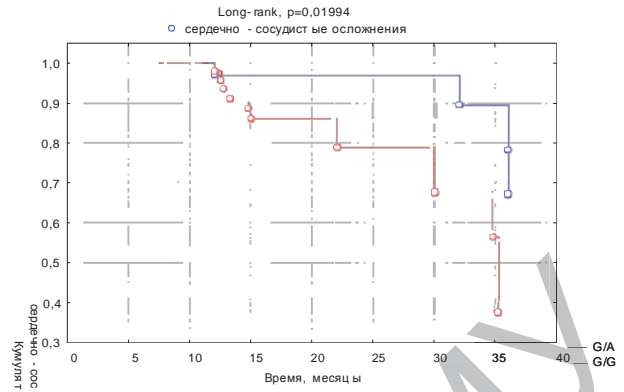
**Таблица 1 - Распределение генотипов полиморфизма гена TNF G308A и IL10 G1082A у пациентов с ИМ с неблагоприятными сердечно-сосудистыми осложнениями и без них за 3-х летний период наблюдения**

| Полиморфизм | Генотипы | пациенты с ССО после ИМ (n=14) |         | пациенты без ССО после ИМ (n=73) |         | p, точный критерий Фишера |
|-------------|----------|--------------------------------|---------|----------------------------------|---------|---------------------------|
|             |          | n                              | частота | n                                | частота |                           |
| TNF-α G308A | G/G      | 10                             | 71,43%  | 59                               | 80,82%  | p>0,05                    |
|             | G/A      | 4                              | 28,57%  | 14                               | 19,18%  |                           |
|             | A/A      | 0                              | 0,00    | 0                                | 0,00%   |                           |
| IL10 G1082A | G/G      | 10                             | 71,43%  | 43                               | 58,9%   | p>0,05                    |
|             | G/A      | 4                              | 28,57%  | 30                               | 41,1%   |                           |
|             | A/A      | 0                              | 0,00    | 0                                | 0,00%   |                           |

При анализе распределения частот полиморфизма IL10 G1082A в группе пациентов с ССО доля генотипа GG составила 71,43% (10 резидентов из 14), а в группе пациентов без сердечно - сосудистых событий 58,9% (43 человека из 73). Доля резидентов с генотипом G/A среди больных ИМ с ССО и без них, соответственно составила 28,57% и 41,1%.

Был проведен анализ развития ССО по методу Каплана-Мейера в зависимости от носительства генотипа полиморфного участка IL 10 G1082A у пациентов ИМ, обнаружили существенные различия в частоте их развития, рисунок 2). К концу срока наблюдения (36 месяцев) кумулятивная доля пациентов без неблагоприятных сердечно - сосудистых событий была выше у резидентов с генотипом G/A и составила 0,66 против 0,37 в группе пациентов ИМ с генотипом G/G, (p=0.02).

При проведении регрессионного анализа в группе пациентов ИМ выявлена достоверная связь между развитием неблагоприятных сердечно - сосудистых событий и вариантом гена провоспалительного цитокина IL10. Так носительство генотипа G/A ассоциировано с более низкой вероятностью развития ССО у резидентов, перенесших ИМ: ОР (относительный риск) составил 0,24 при 95% ДИ (доверительный интервал) от 0,04 до 1,24, p=0,02. Таким образом, при 3-летнем наблюдении частота на-



**Рисунок 2 - Кумулятивные кривые наступления неблагоприятных сердечнососудистых исходов (по методу Каплана-Мейера) пациентов ИМ в зависимости от полиморфизма гена IL10 G1082A за 3-х летний период наблюдения**

ступления ССО при ИМ оказалась значимо ниже у пациентов с генотипом G/A, чем у резидентов с генотипом G/G цитокина IL10 G1082A.

Полученные нами данные об ассоциации генотипа GA локуса IL10(G-1082A) перекликаются и с другими исследованиями. Объяснить такие результаты можно тем, что аллель A ассоциирован с двукратным увеличением транскрипционной активности IL10 по сравнению с аллелем G, а повышение уровня IL10, связано с улучшением прогноза у больных ИМ [12,13].

Ассоциации полиморфизма A(-308)G гена TNF-? с риском развития ССО у пациентов ИМ мы не наблюдали, что согласуется с данными других исследований [9,10].

На втором этапе анализа оценивалось влияние проводимой терапии на вероятность наступления неблагоприятных сердечно - сосудистых исходов. В зависимости от технических возможностей проведения сеансов ЭАГМТ (хороший венозный доступ) было выделено 72 резидента, которые были разделены на 2 группы. Первая группа состояла из 22 пациентов ИМ, которым проводилась лишь медикаментозная комплексная терапия без сеансов экстракорпоральной аутогемотерапии, 2-ю группу составили пациенты (n=50), которым наряду с традиционной терапией в комплекс лечения были включены сеансы экстракорпоральной аутогемотерапии. По тяжести состояния, возрасту, полу и видам осложнения группы были сопоставимы, таблица 2.

На момент анализа в группе пациентов с перенесенным ИМ на фоне стандартного медикаментозного лечения (n=22) летальность составила 9,1% (умерли 2 пациента из 22), у 3 (13,6%) резидентов развились повторные ИМ. Обострение ИБС (нестабильная стенокардия), обусловившая необходимость госпитализации, отмечалась у 2 (9,1%) пациентов.

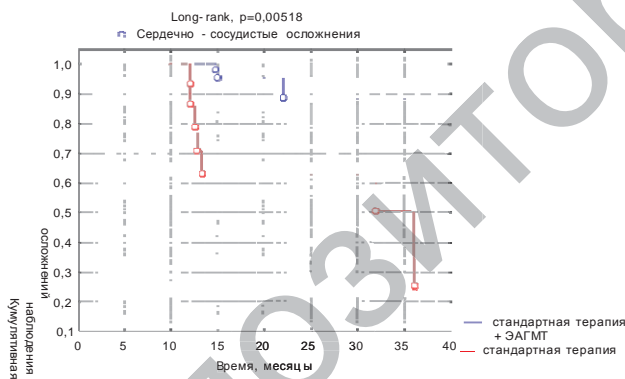
В группе пациентов ИМ с применением комбинированного лечения (стандартная терапия + ЭАГМТ) летальных исходов зафиксировано не было. Повторный ИМ зарегистрирован у 4% (2 пациента из 50), эпизод нестабильной стенокардии, потребовавший необходимость госпитализации зарегистрирован у 1 больного, что составило 2% от общего числа опрошенных резидентов в группе с комбинированным лечением.

**Таблица 2** - Сравнительная характеристика пациентов на фоне стандартной терапии и комбинированной терапии (стандартная терапия + ЭАГМТ)

| Показатель                      | Пациенты ИМ на фоне стандартной терапии (n=22) | Пациенты ИМ на фоне стандартной терапии + ЭАГМТ (n=50) | p       |         |
|---------------------------------|--|--|---------|---------|
| Средний возраст пациентов, годы | 58,36±9,22                                     | 55,5±9,86  | >0.05*  |         |
| Половой состав: Мужчины         | 16(72,73%)                                     | 43(86%)  | >0.05** |         |
| Женщины                         | 6(27,27%)                                      | 7(14%)   |         |         |
| Повторный ИМ                    | 3(13,64%)                                      | 8(16%)   | >0.05** |         |
| ИМ по глубине некроза:          | Q  | 40(80%)  | >0.05** |         |
|                                 | поп Q  | 4(18,18%)  |         | 10(20%) |
| Класс тяжести ОЛЖ по T.Killip:  | II   | 6(27,27%)  | >0.05** |         |
|                                 | III  | 10(45,45%)   |         | 22(44%) |
|                                 | IV   | 6(27,27%)  |         | 20(40%) |
| Фракция выброса, %              | 59,5[45.0;66.0]                                | 60.0[48.0;63.0]  | >0.05*  |         |
| Реперфузионная терапия          | ТЛТ  | 12(54,55%)   | >0.05** |         |
|                                 | стентирование                                  | 0  |         | 6(12%)  |

Примечание: \*р, критерий Манна-Уитни; \*\* - р, критерий Фишера

Был проведен анализ развития сердечно - сосудистых осложнений, составляющих конечную комбинированную точку. На рисунке 3 приведены кривые наступления ССО у пациентов ИМ для каждой из групп в отдельности.



**Рисунок 3** - Кумулятивные кривые наступления неблагоприятных сердечно-сосудистых исходов (по методу Kaplan-Meier) пациентов с ИМ в зависимости от проводимой терапии за 3-летний период

Анализ наступления возможных ССО в зависимости от вида проводимой терапии у пациентов ИМ по методу Каплана-Мейера обнаружил достоверные различия, (рисунок 3). К 15 месяцу суммарная доля выживания больных группы со стандартным лечением составила 0,63, а в группе пациентов с комбинированным лечением (медикаментозная терапия + ЭАГМТ) - 0,95, и к концу периода наблюдения она практически не изменилась.

Различия частоты наступления неблагоприятных исходов в сравниваемых группах оказалась достоверной (p=0,005). Таким образом, при анализе частота наступления неблагоприятных ССО при ИМ оказалась значимо выше у резидентов со стандартной медикаментозной терапии, чем у пациентов в схему лечения, которых допол-

нительно были включены курсы ЭАГМТ. ОР составил 0,13 в пользу тактики сочетания медикаментозной терапии ИМ с сеансами ЭАГМТ 95% ДИ от 0,03 до 0,7; p=0,04.

При дополнительном многофакторном регрессионном анализе с учетом распределения генотипов G/G и G/A полиморфизма IL10 G1082A, комбинированная терапия при сочетании стандартного медикаментозного лечения и сеансов ЭАГМТ, сохранила позитивное влияние на риск развития ССО в долгосрочной перспективе: ОР=0,11 при 95% ДИ от 0,02 до 0,59, p=0,004. Распределение частот генотипов в данных группах были сопоставимы, таблица 3.

**Таблица 3** - Распределение генотипов полиморфизма гена IL10 G1082A у пациентов с ИМ на фоне стандартной терапии и комбинированной терапии (стандартная терапия + ЭАГМТ)

| Полиморфизм | Генотипы | Пациенты ИМ на фоне стандартной терапии (n=22) |         | Пациенты ИМ на фоне стандартной терапии + ЭАГМТ (n=50) |         | p, критерий Фишера |
|-------------|----------|--|---------|--|---------|--------------------|
|             |          | n  | частота | n  | частота |                    |
| IL10 G1082A | G/G      | 14   | 63,6%   | 34   | 68,0%   | p>0,05             |
|             | G/A      | 8  | 36,4%   | 16   | 32,0%   |                    |
|             | A/A      | 0  | 0,00    | 0  | 0,00%   |                    |

### Выводы

1. Носительство генотипа G/A IL10 G1082A ассоциировано со снижением риска развития ССО у пациентов ИМ. В целом полученные нами результаты свидетельствуют о целесообразности определения полиморфизма участков G1082A гена прогнатовоспалительного цитокина IL10 у лиц, перенесших ИМ с целью прогнозирования вероятности развития сердечно - сосудистых осложнений.

2. Установлено, что при долгосрочном испытании среди пациентов ИМ, тактика комбинированной терапии (стандартная медикаментозная терапия + ЭАГМТ) оказалась эффективнее консервативной терапии в отношении больших сердечных событий, частоты стенокардии и объективных признаков повторной ишемии миокарда.

### Литература

1. Влияние полиморфизма генов TNF- $\alpha$  (G-308A) и IL-10 (G-1082A) при инфаркте миокарда на экспрессию про- и противовоспалительных цитокинов / В.С.Голышко, [и др.] // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. - 2012. - №3(39). - С.55-58
2. Голышко, В.С. Влияние экстракорпоральной аутогемотерапии на цитокиновый профиль пациентов в процессе лечения острого инфаркта миокарда / В.С. Голышко, В.А. Снежик // Сборник материалов II Евразийского конгресса кардиологов (г. Минск, 20-21 октября 2011) - Кардиология в Беларуси. - 2011. - № 5(18). - С. 112
3. Горбачев, В.В. Ишемическая болезнь сердца: учеб. пособие для слушателей системы последиплом. мед. образования / В.В. Горбачев. - Минск: Выш.шк., 2008. - 479с.
4. Клинические рекомендации Европейского общества кардиологов - 2007.-М.:МЕДИЭкспо,2008 - 186с.
5. Королева, О.С. Биомаркеры в кардиологии: регистрация внутрисосудистого воспаления / О.С.Королева, Д.А.Затейчиков / Фарматека. - 2007. - № 8-9. - С. 30-36.
6. Маркеры воспаления и долгосрочный прогноз у больных с острым коронарным синдромом и стабильной формой ишемической болезни сердца / Е.Г.Пономарь [и др.] // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. - 2011. - № 6.-С. 10-15.
7. Палеев, Н.Р. Цитокины и их роль в патогенезе заболеваний сердца / Н.Р. Палеев, Ф.Н. Палеев // Клин, медицина. - 2004. - № 5. - С. 4-7.

8. Early inflammation and risk of long-term development of heart failure and mortality in survivors of acute myocardial infarction - predictive role of C-reactive protein / M. Suleiman [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. - 2006. - Vol. 47. - P. 962-968.
9. Gene polymorphism in the TNF locus and the risk of Myocardial infarction / J.C. Padovani [et al.] // Thrombosis Research. - 2000. - Vol. 100. - P. 263-269.
10. Genetic variants of tumor necrosis factor superfamily, member 4 (TNFSF4), and risk of incident atherothrombosis and venous thromboembolism / A. Malarstig [et al.] // Clin. Chem. - 2008. - Vol. 54, № 5. - P. 833-840.
11. Hansson G.K. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery heart disease / G. K. Hansson // N Engl J Med. - 2005. - Vol. 352. - P. 1685-1695.
12. Heart and Stroke Statistical Update. American Heart Association. 2002
13. Heiskanen, M. Polymorphism in the IL10 promoter region and early markers of atherosclerosis: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study / M. Heiskanen [et al.] // Atherosclerosis. - 2010. - Vol. 208. - P. 190-196.
14. Interleukine-10 and tumor necrosis factor gene polymorphism and risk of coronary artery disease and myocardial infarction / P.M. Koch [et al.] // Atherosclerosis. - 2001. - Vol. 98. - P. 435-437.
15. Nian, M. Inflammatory cytokines and postmyocardial infarction remodeling / M. Nian, P. Lee, N. Khaper // Circ Res. - 2004. - Vol. 94. - P. 1543-1553.
16. Prognostic value of C-reactive protein and cardiac troponin I in percutaneous interventions for ST-elevation myocardial infarction / P. Ohlmann [et al.] // Am. Heart. J. - 2006. - Vol. 152. - P. 116-127.

## ASSOCIATION OF GENETIC MARKERS AND THERAPY TYPE WITH THE PROGNOSIS FOR PATIENTS WITH MYOCARDIAL INFARCTION

V.A. Snezhitskiy, V.S. Holyshko

Educational Establishment "Grodno State Medical University", Grodno, Belarus

*The present article discusses the association of gene polymorphisms in promoter regions of cytokines IL-10 (G-1082A), TNF- $\alpha$  (G-308A) and the type of combined treatment with the prognosis of adverse cardiovascular outcomes in patients with myocardial infarction (MI). Genotype G/A polymorphism IL10 G1082A decreases the risk of adverse outcomes in patients with MI. The long-term follow-up found that the tactics of combined therapy had been more effective in decreasing unfavorable outcomes development.*

**Key words:** myocardial infarction, gene polymorphism, low-frequency magnetic therapy, prognosis.

Поступила 10.12.202