

© Кузьмин А.Г., 2014
УДК:616.12-008.46

**АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА AGT (T174M), TNF-A (G308A)
И MTHFR (A222V) С ДЕЗАДАПТИВНЫМ РЕМОДЕЛИРОВАНИЕМ СЕРДЦА
ПОСЛЕ Q-ИНФАРКТА МИОКАРДА**

А.Г. Кузьмин

Читинская государственная медицинская академия», г. Чита

Представлены результаты исследования морфофункциональных параметров сердца, полиморфизма генов AGT (T174M), TNF-A (G308A) и MTHFR (A222V) у пациентов после Q-инфаркта миокарда с хронической сердечной недостаточностью II, III функционального класса. У пациентов перенесших Q-инфаркт миокарда неблагоприятный клинический фенотип ХСН ассоциирован с аллелью M и генотипами T/M, M/M гена AGT (T174M), аллелью A и генотипами A/G, A/A гена TNF- α (G-308A), аллелью C и генотипом C/T гена MTHFR (A222V).

Ключевые слова: хроническая сердечная недостаточность, полиморфизм генов.

Необратимое повреждение миокарда после Q-инфаркта (Q-ИМ) в сочетании с непосредственным участием сигнальных путей, индуцирует каскад изменений геномной экспрессии, молекулярных, клеточных и интерстициальных преобразований сердца, модифицирует его размеры, форму и функции, ухудшает внутрисердечную и центральную гемодинамику, изменяет нейрогормональный и цитокиновый статус [8]. Преобразования сердца непрерывно прогрессируют, приобретают статус дезадаптивного ремоделирования и манифестируют клиническими проявлениями хронической сердечной недостаточности (ХСН). Клинически оформленный функциональный класс ХСН – клинический фенотип. Молекулярно-генетическими факторами, программирующими нейрогуморальные изменения и определяющие течение ХСН, выступают полиморфизмы аллельных «кандидатных» генов или мутации ренин-ангиотензин-альдостероновой и симпатoadреналовой систем, провоспалительных цитокинов [2].

Цель: изучить распространённость полиморфных генов ангиотензиногена – AGT (T174M), фактора некроза опухоли –

альфа – TNF- α (G308A), метилентетрагидрофолатредуктазы – MTHFR (A222V) у пациентов после Q-ИМ с ХСН II, III ФК.

Материалы и методы

Обследовано 185 пациентов (мужчин – 174, женщин -11), средний возраст 60±8,7 лет, перенесших Q-ИМ ЛЖ различной локализации, давностью 3-5 лет (3 года – 51% (n=94), 4 года – 34% (n=63) и 5 лет – 15% (n=28) с клиническими проявлениями ХСН II ФК-45% (n=89) и III ФК-55% (n=96) по классификации NYHA. Хроническая аневризма ЛЖ выявлена у 29% (n=54), сочетание с гипертонической болезнью диагностировано у 78% (n=144). Пациенты получали стандартную терапию: 98% – ингибиторы АПФ или сартаны, 80% – β – адреноблокаторы, 99% – диуретики, 90% – антиагреганты.

Наличие ХСН диагностировали на основании: жалоб, объективного обследования, данных ЭКГ, эхокардиографии (ЭхоКГ), концентрации N-концевого фрагмента натрийуретического предшественника В типа (NT-proBNP) в плазме крови. Качество жизни оценивали с помощью Миннесотского вопросника (MLHFQ) [11], тяжесть клинических про-

явлений и ФК ХСН – по шкале ШОКС, толерантность к физической нагрузке – с помощью теста с 6-минутной ходьбой [4]. Контрольную группу составили 50 пациентов с диагнозом: ИБС. Стабильная стенокардия напряжения II ФК. ХСН IIА. ФК II. Сопутствующий диагноз: Гипертоническая болезнь, вторая стадия. Риск3.

ЭхоКГ выполнена на аппарате Vivid-7 (GE) по стандартной методике. Морфологию ЛЖ характеризовали – индекс конечного диастолического (ИКДО_{ЛЖ}) и систолического объемов ЛЖ (ИКСО_{ЛЖ}), индекс конечного диастолического (ИКДР_{ЛЖ}) и систолического размеров ЛЖ (ИКСР_{ЛЖ}). Морфологию правого желудочка (ПЖ) – индекс конечного диастолического (ИКДО_{ПЖ}) и систолического объемов ПЖ (ИКСО_{ПЖ}), индекс конечного диастолического (ИКДР_{ПЖ}) и систолического размеров ПЖ (ИКСР_{ПЖ}). Глобальную систолическую функцию ЛЖ и ПЖ анализировали по величине фракции выброса (ФВ_{ЛЖ} и ФВ_{ПЖ}) [6], систолической скорости движения латеральной части фиброзных колец митрального (S_м) и трикуспидального (S_{тр}) клапанов [1]. В импульсно-волновом режиме ЭхоКГ и тканевого доплера миокарда (ТДМ) рассчитывали конечное диастолическое давление в левом желудочке (КДД_{ЛЖ}), давление заклинивания легочной артерии (ДЗЛА) [1]. Диастолическую функцию ЛЖ и ПЖ анализировали в соответствии с национальными рекомендациями ОССН, РКО и РНМОТ [4] в импульсно-волновом режиме ЭхоКГ и ТДМ. При ЭхоКГ измеряли скорости – E_м и E_{тр}, A_м и A_{тр} диастолического наполнения ЛЖ, ПЖ и их соотношение – E_м/A_м и E_{тр}/A_{тр}. При ТДМ измеряли скорости движения латеральной части атриоventрикулярных фиброзных колец в раннюю (E_м' и E_{тр}'), позднюю (A_м' и A_{тр}') диастолу, их соотношение (E_м'/A_м' и E_{тр}'/A_{тр}') и соотношение скоростей E/E_м' и E/E_{тр}' [1].

Материалом для молекулярно-генетического анализа служили образцы ДНК, выделенные из периферической крови. Выбрана точковая мутация гена AGT в позиции C521T T(174)M, TNF-α в позиции G(308)A и гена MTHFR в позиции

A(222)V. Амплификацию исследуемых фрагментов генов проводили в термоцикле (ООО "Бис-Н", Новосибирск). Использовали стандартные наборы праймеров НПФ "Литех"- "SNP" (г. Москва). Визуализация продуктов амплификации выполнена с помощью электрофореза в 3% агарозном геле с добавлением бромистого этидия.

Статистический анализ выполнен с помощью BIOSTAT версия 3.03. При нормальном распределении результаты представлены в виде M±σ. Достоверность различий оценивали по критерию Стьюдента (t). При ненормальном распределении результаты выражены в виде медианы (Me) с размахом (25-75-й перцентиль). Различия оценивали по критерию Краскела-Уоллиса и Даннета. Сравнение качественных показателей проводили с помощью критерия χ². Результаты считали достоверными при p<0,05. Относительный риск развития заболевания оценивали по показателю соотношения шансов (OR). Значения OR и 95% доверительного интервала (CI) вычисляли с помощью программы <http://www.hutchon.net/ConfidOR.htm>. OR=1 отсутствие ассоциации; OR>1 – положительная ассоциация, OR<1 – отрицательная ассоциация с заболеванием.

Результаты и их обсуждение

Сформированы две группы: группа I в соответствии с критериями: E_м/E_м'>15, E_{тр}/E_{тр}'>6, S_м<4,8мс, S_{тр}<11,5мс, группа II: E_м/E_м'<15, E_{тр}/E_{тр}'<6 и S_м>4,8мс, S_{тр}>11,5мс [10]. Проведено сравнение клинических данных, систолодиастолической функции желудочков (табл. 1). Установлено, что пациенты I группы с ХСН III ФК характеризуются сниженным качеством жизни, сниженной толерантностью к физической нагрузке, сниженной ФВ ЛЖ и ПЖ, диастолической дисфункцией ЛЖ по рестриктивному типу (87%, n=63), гипертрофическому типу (13%, n=10), ПЖ по типу замедленной релаксации (100%, n=59), значительной дилатацией всех камер сердца, высокой преднагрузкой и высоким уровнем NT-proBNP. Наряду с ФВ о выраженной систолической дисфункцией ЛЖ (ФВ<30%) свидетельствует величина S_м<4,8 мс, ПЖ (ФВ<45%) – величина S_{тр}<11,5 мс.

Таблица 1

Клинические, инструментальные и биохимические показатели

Показатель	I группа	II группа	P
	$E_m/E_m' > 15$, $S_m < 4,8$ и $E_{тр}/E_{тр}' > 6$, $S_{тр} < 11,5$ (n = 96)	$E_m/E_m' < 15$, $S_m > 4,8$ и $E_{тр}/E_{тр}' < 6$, $S_{тр} > 11,5$ (n = 89)	
Sm (см/сек)	4,3±0,9	7,2±2	0,05
Em/Em'	18,3±3,1	9,6±2,4	0,05
Стр (см/сек)	8,9±1,2	13±2,7	0,05
Етр/Етр'	11,7±2,2	4,5±1,1	0,05
ШОКС	7,7±0,9	4,5±0,8	0,05
MLHFQ	70,7±6,1	27,6±3,6	0,05
6MWD (м)	225,6±41	373±19,7	0,001
ИКДР _{ЛЖ} (см/м ²)	3,4±0,28	2,8±0,27	0,001
ИКСР _{ЛЖ} (см/м ²)	2,6±0,21	2,1±0,24	0,05
ИКДО _{ЛЖ} (мл/м ²)	108±11	81±11	0,001
ИКСО _{ЛЖ} (мл/м ²)	60±8	40±4,8	0,001
ИКДР _{ПЖ} (см/м ²)	1,81±0,08	1,5±0,1	Нд
ИКСР _{ПЖ} (см/м ²)	1,3±0,11	1,17±0,1	Нд
ИКДО _{ПЖ} (мл/м ²)	20±2,2	19±2	Нд
ИКСО _{ПЖ} (мл/м ²)	11±2,1	9 ±1,8	Нд
ФВ % (ЛЖ)	41±3,2	49±4,5	0,001
ФВ % (ПЖ)	42 ±3,8	48±3,7	0,05
ДЗЛА (мм.рт.ст.)	18±1,2	15,6±1,2	0,02
КДДЛЖ (мм.рт.ст.)	19,9±1,6	18,5±1,1	0,001
NT-proBNP (пг/мл)	2963 [2567;3315]	809[231.7;445]	0,001
TNF-α (пг/мл)	[9,3] 4,8;14,6	[7,8] 4,2;9,6	0,05

По данным литературы снижение ФВ ПЖ ниже 40% указывает на наличие IVФК ХСН [13] и является плохим прогностическим признаком. По нашему мнению наряду с ФВ ЛЖ и ПЖ, соотношение $E_m/E_m' > 15$, $E_{тр}/E_{тр}' > 6$ и $S_m < 4,8$ мс, $S_{тр} < 11,5$ мс могут служить маркерами дезадаптивной модели сердца. Известно, что по мере прогрессирования ХСН увеличивается количество пациентов с эксцентрическим типом ремоделирования ЛЖ (ФКII-66%-, ФКIII-81%, ФКIV-

100%) в сочетании со снижением глобальной сократительной способности ЛЖ и диастолической дисфункцией желудочков [3].

В таблице 2 представлено распределение генотипов гена AGT (T174M) у пациентов I и II групп. Отмечено, что в I и II группах генотип T/M встречается чаще в 4-2 раза, а генотип M/M в 1,5 и 1,3 раза соответственно, чем в группе контроля в сочетании со снижением частоты генотипа T/T в обеих группах.

Таблица 2

Распределение генотипов AGT (T174)

Генотип	Контроль (n=50)	I группа (n=96)	II группа (n=89)	OR и 95% CI	
				I группа	II группа
T/T	0.81 (n=40)	0.56 (n=54)	0.68 (n=60)		
T/M	0.11 (n=6)	0.34 (n=33)	0.20 (n=18)	4.1[1.9-8.8]	2 [0.9-4.5]
M/M	0.08 (n=4)	0.1 (n=9)	0.12 (n=11)	1,3 [0.4-3,4]	1,5[0.6-4]

Частота T-аллели у пациентов I группы составила 0,73, M-аллели 0,27 (p<0,05), а во II группе – 0,81 и 0,19, соответственно (табл. 3). Согласно данным литературы в европей-

ских популяциях генотип T/M выявляется у 10–15%, причём в 3-5 раз чаще среди лиц с артериальной гипертензией в возрасте старше 45 лет [3] и ассоциируется с ИБС [5].

Таблица 3

Частота аллельных вариантов в гене AGT полиморфизма (T174M)

Исследуемые группы	Аллель		χ^2	p
	T	M		
Контроль (n =50)	0,86 n=86	0,14 n=14	-	-
Группа I (n =96)	0,73 n=141	0,27 n=51	5,293	0,021
Группа II (n =89)	0.81 n=138	0.19 n=32	0,723,	0,395

Полученные результаты доказывают наличие выраженной ассоциации генотипов T/M и M/M с синдромом ХСН, сформированного вследствие перенесенного Q-ИМ, а носительство генотипа T/M связано с более тяжелым течением ХСН OR=4.1 95% CI [1.9-8.8] (табл. 2).

Анализ генотипов гена TNF- α (G308A) установил, что в I группе чаще чем в контроле и группе клинического сравнения встречаются генотипы G/A и A/A, которые ассоциируются с ХСН и его тяжестью OR=2.3 95% CI[1.2-4.6] и OR=4.8 95% CI[1-23] (табл. 4).

Таблица 4

Распределение генотипов TNF- α (G308A)

Генотип	Контроль (n =50)	I группа (n =96)	II группа (n =89)	OR и 95% CI	
				I группа	II группа
G/G	0.82 (n=41)	0.6 (n=57)	0.81 (n=72)	-	-
G/A	0.16 (n=8)	0.31(n=30)	0.13 (n=12)	2.3 [1.2-4.6]	0.7 [1.3-1.7]
A/A	0.02 (n=1)	0.09 (n=9)	0.06 (n=5)	4.8[1-23]	3.1[0.6-15.8]

Таблица 5

Частота аллельных вариантов в гене TNF- α полиморфизма (G308A)

Исследуемые группы	Аллель		χ^2	p
	G	A		
Контроль (n =50)	0,90 n=49	0,10 n=1	-	-
Группа I (n =96)	0,75 n=144	0,25n=48	11,618	0,001
Группа II (n =89)	0.88 n=156	0.12 n=22	3,55	0,06

Частота G-аллели у пациентов I группы составила 0,75, A-аллели 0,27 (p<0,001), а во II группе – 0,88 и 0,12, соответственно (табл. 5). Известно, что постинфарктное ремоделирование сердца, систолическая дисфункция ЛЖ и прогрессирование ХСН связаны с носительством генотипа G/G [7].

группы выявлена частая встречаемость генотипа C/T и его ассоциация с тяжестью ХСН (табл. 6). Статистически значимых различий по частоте встречаемости T-аллеля в клинических группах в сравнении с контролем не получено (табл. 7). Нами не выявлена ассоциация носительства генотипа T/T с прогрессированием клинического фенотипа ХСН.

При исследовании полиморфных аллелей гена MTHFR (A222V) у пациентов I

Таблица 6

Распределение генотипов MTHFR (A222V)

Генотип	Контроль (n =50)	I группа (n =96)	II группа (n =89)	OR и 95% CI	
				I группа	II группа
C/C	0.43 (n=21)	0.47 (n=45)	0.54 (n=48)	-	-
C/T	0.39 (n=19)	0.47 (n=45)	0.34 (n=30)	1.4 [0.8-2.4]	0.8 [0.45-1.4]
T/T	0.18 (n=9)	0.06 (n=6)	0.12 (n=11)	0.3 [0.11-0.76]	0.6 [0.28-1.36]

Таблица 7

Частота аллельных вариантов в гене MTHFR полиморфизма (A222V)

Исследуемые группы	Аллель		χ^2	p
	С	Т		
Контроль (n =50)	0,77 n=125	0,23 n=37	-	-
Группа I (n =96)	0,70 n=135	0,30 n=57	1,776	0,183
Группа II (n =89)	0,71 n=142	0,29 n=58	1,451	0,229

Известно, что гомозиготными носителями Т/Т-генотипа являются 10-16% европейцев, а гетерозиготными носителями С/Т-генотипа-52% [9] и носительство генотипа Т/Т связано со сниженной активностью фермента метилентетрагидрофолатредуктазы и накоплением гомоцистеина, избыточная концентрация которого ассоциируется с риском развития атеросклероза, ИБС, артериальной гипертензии [12].

Выводы

У пациентов, перенесших Q-ИМ неблагоприятный клинический фенотип ХСН ассоциирован с аллелью М и генотипами Т/М, М/М гена AGT (Т174М), аллелью А и генотипами G/A, A/A гена TNF- α (G308A), аллелью С и генотипом С/Т гена MTHFR (A222V).

Литература

- Алехин М.Н. Тканевой доплер в клинической эхокардиографии / М.Н. Алехин. – М.: ООО «Инсвязиздат», 2006. – 104 с.
- Беленков Ю.Н. Нейрогормоны и цитокины при сердечной недостаточности: новая теория старого заболевания? / Ю.Н. Беленков, Ф.Т. Агеев, В.Ю. Мареев // Сердечная недостаточность. – 2000. – №4. – С. 135-138.
- Генетические аспекты ремоделирования миокарда у больных с декомпенсацией хронической сердечной недостаточности / Е.В. Хазова [и др.] // Практическая медицина. – 2012. – №60. – С. 114-117.
- Национальные рекомендации ОССН, РКО и РНМОТ по диагностике и лечению ХСН (четвертый пересмотр) // Сердечная Недостаточность. – 2013. – Т. 14, № 7 (81). – С. 1-94.
- Нгуен Т.Ч. Исследование ассоциации Т174М и М235Т гена ангиотензиногена с ишемической болезнью сердца в ростовской популяции / Т.Ч. Нгуен // Фундаментальные исследования. – 2010. – №3. – С. 114-121.
- Шиллер Нелсон Б. Клиническая эхокардиография, второе издание / Нелсон Б. Шиллер, М.А. Осипов. – М.: Практика, 2005. – 344 с.
- Клинико-генетические детерминанты генов FНО- α , ИЛ-1 β и ИЛ-1Ра в инициации и развитии хронической сердечной недостаточности у больных ишемической болезнью сердца / С.Н. Шилов [и др.] // Сибирский медицинский журнал. – 2009. – №1. – С. 40-48.
- Cohn J.N. Cardiac remodeling concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling / J.N. Cohn, R. Ferrari, N. Sharpe // J. Am. Coll. Cardiol. – 2000. – Vol. 35, №3. – P. 569-582.
- Homocysteine, endothelial dysfunction and oxidativestress in type 1 diabetes mellitus / F. Wotherspoon [et al.] // Br. J. Diabetes Vasc. Dis. – 2003. – Vol. 3, №5. – P. 334-340.
- Sutton St John M. A prediction role for left ventricular dilatation post-MI? / St. John Sutton M., C.N. Scott // Europ. Heart J. – 2002. – Vol. 23. – P. 509-511.
- Rector T.S. Patients self-assessment of their congestive heart failure. Part 2: content, reliability and validity of a new measure, the Minnesota living with heart failure questionnaire / T.S. Rector, S.H. Kubo, J.N. Cohn // Heart failure. – 1987. – Vol. 3. – P. 198-209.

12. Genetic structure of human populations / N.A. Rosenberg [et al.] // Science. – 2002. – Vol. 298(5602). – P. 2381-2385.
13. Tschöpe C.J. Is echocardiographic evaluation of diastolic function useful in determining clinical care? Doppler echocardiography yields dubious estimates of left ventricular diastolic pressures / C. Tschöpe, W.J. Paulus // Circulation. – 2009. – Vol. 120, №9. – P. 810-820.

ASSOCIATION OF POLYMORPHISM OF AGT (T174M), TNF-A (G308A) AND MTHFR (A222V) WITH DESADAPTIVE REMODELING OF HEART AFTER A Q-MYOCARDIAL INFARCTION

A.G. Kuzmin

The results of the study of morphological and functional parameters of the heart, gene polymorphism AGT (T174M), TNF-A (G308A) and MTHFR (A222V) in patients after Q-myocardial infarction with chronic heart failure, II, III functional class. In patients undergoing Q- myocardial infarction adverse clinical phenotype of chronic heart failure is associated with alleles and genotypes T/M, M/M gene AGT (T174M), and A allele genotypes A/G, A/A gene TNF- α (G-308A), C allele and genotype C/T gene MTHFR (A222V).

Keywords: chronic heart failure, polymorphism.

Кузьмин Александр Геннадьевич – канд. мед. наук, соискатель кафедры пропедевтики внутренних болезней ГБОУ ВПО «Читинской государственной медицинской академии».

672090 г. Чита, ул. Горького 39-а.

E-mail: kualgen@mail.ru.