

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ P2RY12, ITGB3, ITGA2 И МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ТРОМБОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ИНФАРКТОМ МИОКАРДА В ОСТРЫЙ ПЕРИОД



Пронько Т. П.1, Снежицкий В. А.1, Горчакова О. В.1, Степура Т. Л.1, Харитоненко Т.В.2

Научный руководитель – проф. Снежицкий В.А.

1 - УО «Гродненский государственный медицинский университет», ул. Горького 80, г. Гродно, Беларусь

2 - ГУЗ «Гродненская областная клиническая больница медицинской реабилитации» ул. Коммунальная 2, г. Гродно, Беларусь

Цель. Оценка распространения полиморфных генетических маркеров P2RY12, ITGB3, ITGA2 и их ассоциации с морфометрическими характеристиками тромбоцитов у пациентов с инфарктом миокарда (ИМ) в острый период.

Материалы и методы. В исследование включено 493 человека, из них 400 пациентов с ИМ в возрасте от 31 года до 74 лет, 317 (79,3%) мужчин и 83 (20,7%) женщины, 322 пациента с Q-ИМ и 78 с не-Q-ИМ и 93 относительно здоровых человека контрольной группы от 32 до 60 лет, 47 (50,5%) мужчин и 46 (49,5%) женщин. Все обследуемые подписывали информированное согласие на участие в исследовании, протокол которого был одобрен комитетом по биомедицинской этике Гродненского государственного медицинского университета №3 от 13.01.2016. Критерии включения в контрольную группу: лица обоего пола, отсутствие сердечно-сосудистых заболеваний, острых и хронических заболеваний другой этиологии, информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии включения в исследование: наличие ИМ не более 2-дневной давности, лица обоего пола, информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии не включения: ИМ более 2-дневной давности, наличие фибрилляции/трепетания предсердий, хроническая сердечная недостаточность выше IIIA, наличие сопутствующих острых воспалительных и онкологических заболеваний, активное внутреннее кровотечение, анемии различного генеза, количество тромбоцитов менее $150 \times 10^9/\text{л}$, выраженная почечная и печеночная недостаточность, отказ от участия в исследовании.

Все пациенты получали стандартную терапию, включающую АСК 75 мг/сутки, клопидогрел нагрузочная доза 300 мг, поддерживающая – 75 мг/сутки, низкомолекулярные гепарины (эноксапарин), аторвастатин нагрузочная доза 80 мг, с последующим снижением до поддерживающей 20-40 мг, бета-блокаторы (бисопролол 5-10 мг, метопролол 50-100 мг), и-АПФ (лизиноприл 5-20 мг, рамиприл 5-10 мг), нитраты.

Общий анализ крови (ОАК) и морфометрические показатели тромбоцитов: MPV, PDW, PCT проводили гемонализаторе Sysmex XS-500i, Япония. Генотипирование полиморфных локусов гена ITGB3 (T1565C), гена ITGA2 (C807T) проводили методом ПЦР в режиме реального времени, реагентами COOO «Синтол», РФ. Определение аллельных вариантов H1/H2 гена P2RY12 проводили методом ПЦР с электрофоретической детекцией реагентами ООО НПФ «Литех», РФ. Данные обработаны статистически с помощью STATISTICA 10.0

Проведение исследования было одобрено комитетом по биомедицинской этике Гродненского государственного медицинского университета №3 от 13.01.2016.

Результаты. Распределение частот генотипов генов P2RY12, ITGA2, ITGB3 соответствовали ожидаемому равновесию Харди-Вайнберга, как в группе контроля ($\chi^2=0,02$, $p=0,88$; $\chi^2=0,6$, $p=0,43$; $\chi^2=0,003$, $p=0,96$; соответственно), так и в группе с ИМ ($\chi^2=0,34$, $p=0,55$; $\chi^2=0,07$, $p=0,79$; $\chi^2=0,8$, $p=0,37$, соответственно).

Распределение частот аллелей и генотипов исследуемых генов представлено в таблице 1.

Таблица 1. Распределение частот аллелей и генотипов полиморфных локусов H1/H2 гена P2RY12, T1565C гена ITGB3, C807T гена ITGA2 у пациентов с инфарктом миокарда

Генотипы/аллели		Группа контроля n=93	Группа ИМ n=400	χ^2 , p
Полиморфный локус H1/H2 гена P2RY12, rs2046934				
Генотипы	H1/H1	50 (53,8%)	240 (60,0%)	$\chi^2=1,3$ $p=0,52$
	H1/H2	36 (38,7%)	137 (34,2%)	
	H2/H2	7 (7,5%)	23 (5,8%)	
Аллели	H1	73,1%	77,1%	$\chi^2=1,1$ $p=0,28$
	H2	26,9%	22,9%	
Полиморфный локус T1565C гена ITGB3, rs5918				
Генотипы	TT	58 (62,4%)	298 (74,5%)	$\chi^2=5,6$ $p=0,06$
	TC	31 (33,3%)	92 (23,0%)	
	CC	4 (4,3%)	10 (2,5%)	
Аллели	T	79,0%	86,0%	$\chi^2=5,1$ $p=0,024$
	C	21,0%	14,0%	
Полиморфный локус C807T гена ITGA2, rs1126643				
Генотипы	CC	37 (39,8%)	137 (34,2%)	$\chi^2=2,9$ $p=0,23$
	CT	46 (49,5%)	192 (48,0%)	
	TT	10 (10,7%)	71 (17,8%)	
Аллели	C	64,5%	58,2%	$\chi^2=2,2$ $p=0,14$
	T	35,5%	41,8%	

Как видно из таблицы 1, распределение частот аллелей и генотипов исследуемых генов не различалось между группой контроля и пациентами с инфарктом миокарда.

Для дальнейшего анализа мы поделили пациентов на 2 подгруппы согласно рецессивной модели: подгруппы А (ПГА) составили носители генотипов H1/H1 полиморфного локуса H1/H2 гена P2RY12, носители генотипа CC полиморфного локуса C807T гена ITGA2, носители генотипа TT полиморфного локуса T1565C гена ITGB3. Подгруппы В (ПГВ) составили носители генотипов H1/H2+H2/H2, СТ+ТТ, ТС+СС соответствующих генов. Результаты данного анализа представлены в таблице 2.

Таблица 2. Данные общего анализа крови и тромбоцитарные индексы в исследуемых подгруппах пациентов с инфарктом миокарда

Показатели	Полиморфный локус H1/H2 гена P2RY12		Полиморфный локус T1565C гена ITGB3		Полиморфный локус C807T гена ITGA2	
	ПГА (H1/H1) n=240	ПГВ (H1/H2+H2/H2) n=160	ПГА (ТТ) n=298	ПГВ (ТС+СС) n=102	ПГА (СС) n=137	ПГВ (СТ+ТТ) n=263
WBC $\times 10^9/\text{л}$	9,9 [8,1; 11,9]	10,2 [8,3; 12,3]	10,1 [8,4; 12,0]	9,8 [7,8; 12,1]	10,3 [8,3; 12,1]	9,9 [8,1; 12,0]
RBC $\times 10^{12}/\text{л}$	4,7 [4,4; 5,1]	4,7 [4,4; 5,1]	4,7 [4,4; 5,1]	4,7 [4,3; 5,0]	4,8 [4,4; 5,1]	4,7 [4,4; 5,0]
Hb, г/л	149,0 [137,0; 160,0]	148,0 [138,5; 161,5]	149,0 [138,0; 160,0]	149,0 [138,0; 161,0]	149,0 [138,0; 160,0]	149,0 [138,0; 161,0]
PLT $\times 10^9/\text{л}$	209,0 [176,0; 244,0]	217,0 [177,5; 256,0]	209,0 [178,0; 244,0]	218,0 [170,0; 263,0]	213,0 [186,0; 250,0]	211,5 [175,0; 250,0]
MPV, фл	4,7 [4,0; 5,6]	5,0 [4,3; 6,1] *	4,8 [4,2; 5,9]	4,7 [4,0; 5,6]	4,9 [4,3; 5,9]	4,8 [4,1; 5,7]
PDW, %	18,3 [17,7; 18,7]	18,3 [17,4; 18,8]	18,3 [17,6; 18,9]	18,1 [17,3; 18,6]	18,3 [17,6; 18,9]	18,3 [17,6; 18,7]
PCT, %	0,10 [0,08; 0,12]	0,10 [0,09; 0,14] *	0,10 [0,08; 0,12]	0,10 [0,09; 0,13]	0,10 [0,09; 0,13]	0,10 [0,08; 0,12]
P-LCR, %	25,8 [20,8; 33,2]	27,2 [23,3; 38,5]	25,8 [20,8; 33,2]	27,9 [21,6; 38,5]	23,3 [19,9; 33,4]	27,2 [21,6; 33,2]
СОЭ, мм/ч	11,0 [7,0; 19,0]	12,0 [6,0; 20,0]	12,0 [7,0; 20,0]	10,0 [5,0; 19,5]	11,0 [6,0; 22,0]	12,0 [6,0; 18,0]

Примечание. * – статистически значимые различия между ПГА и ПГВ, где * – $p < 0,05$

Как видно из таблицы 2, различия показателей ОАК выявлены между ПГА и ПГВ полиморфного локуса H1/H2 гена P2RY12, для PCT $P=0,031$; для MPV $P=0,03$. По другим полиморфизмам показатели ОАК и морфометрические характеристики тромбоцитов были сопоставимы. Согласно литературным данным отмечается связь размера тромбоцитов с их функциональной активностью. В результате активации тромбоцитов их дискоидная форма меняется на сферическую, появляются псевдоподии, что ведет к увеличению размеров клетки, при этом увеличивается показатель MPV в общем анализе крови. Повышенные значения MPV после процедуры ЧКВ связаны с неблагоприятным прогнозом как среди пациентов со стабильной стенокардией напряжения, так и среди пациентов с острым коронарным синдромом и являются предикторами недостаточного ответа на клопидогрел.

В доступной нам литературе мы не встретили работ, в которых бы исследовалась ассоциация MPV и полиморфизма H1/H2 гена P2RY12. В нашей работе мы обнаружили ассоциации гаплотипа H2 гена P2RY12 с высокими значениями MPV тромбоцитов и более высокими значениями PCT, что говорит об изначально высокой реактивности тромбоцитов у носителей гаплотипа H2.

Заключение. Обнаружена ассоциация между носительством гаплотипа H2 полиморфизма H1/H2 гена P2RY12 с высокими значениями MPV тромбоцитов и высоким значениями тромбокриты у пациентов с ИМ в остром периоде, что может свидетельствовать о более высокой функциональной активности тромбоцитов у носителей гаплотипа H2.

Результаты проведенного исследования показывают, что генетический полиморфизм является одним из факторов, определяющих реактивность тромбоцитов. Однако, высокая функциональная активность тромбоцитов не детерминирована исключительно исследованными генами. Как мультифакторное состояние оно зависит от большого числа генов и их полиморфных вариантов. Более того, агрегационная активность тромбоцитов – это динамический процесс, который подвержен колебаниям во времени и зависит от влияния других клинических факторов.

Финансирование. Нет.

Конфликт интересов: все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов