

АНОТАЦІЯ

Дисертаційної роботи здобувача відділу профілактики та лікування невідкладних станів ДУ «Національний інститут терапії імені Л.Т. Малої НАМН України» Куті Інни Миколаївни за спеціальністю 222 «Медицина», спеціалізація «Кардіологія» на тему «Патогенетичне та прогностичне значення васкулоендотеліального фактора росту–А при гострому інфаркті міокарда з елевацією сегменту ST»

Науковий керівник: Копиця Микола Павлович, доктор медичних наук, професор, завідувач відділу профілактики та лікування невідкладних станів ДУ «Національний інститут терапії імені Л.Т. Малої НАМН України».

Гострий інфаркт міокарда (ГІМ) є одним з основних і грізних проявів серцево-судинних захворювань і вносить вагомий внесок в смертність населення в усьому світі. Основним фактором, що визначає несприятливий результат інфаркту міокарда, є ступінь незворотного пошкодження кардіоміоцитів. Сучасні стратегії лікування ГІМ спрямовані на відновлення кровотоку в інфарктзалежній коронарній артерії. Але перебіг захворювання та його прогноз в великій мірі залежать від стану мікроциркуляторних порушень в зоні ішемії та розвитку колатерального артеріального кровотоку.

Існують чіткі алгоритми лікування даної категорії хворих, проте, вони недостатньо персоніфіковані, не враховують багатьох особливостей індивідуума, зокрема генетичних.

Реперфузія міокарда при гострій оклюзії інфаркт-залежної коронарної артерії та залучення факторів, які сприяють розвитку колатералей після відновлення субепікардіального кровотоку можуть сприяти зменшенню розмірів некротичного ураження, ремоделювання лівого шлуночку, прогресування СН та покращенню виживаності хворих.

Одним з важливих аспектів напрямку є вивчення ролі ангіогенезу при ішемічній травмі, пошук шляхів стабілізації мікросудинних порушень в міокарді.

Специфічним чинником, що регулює процеси ангіо- і артеріогенеза є васкулоендотеліальний фактор росту-А (ВЕФР-А). ВЕФР-А є потужним мітогеном, що сприяє виживанню ендотеліальних клітин, підвищує проникність судин, прискорює і регулює розвиток колатерального кровопостачання в ішемізованому міокарді, збільшує щільність капілярної мережі. Рівень та швидкість секреції досліджуваного біомаркера залежить від генетичних факторів, які є недостатньо вивченими при ГІМ.

Патогенетично обумовленою терапією при ГІМ є подвійна антитромбоцитарна терапія (ПАТТ). Ефективність ПАТТ залежно від поліморфізму 634GС гена ВЕФР-А не вивчалась.

В роботі обстежено 135 пацієнти з ГІМ з елевацією сегмента ST (ГІМеST), 109 (80,7%) чоловіків та 26 (19,3 %) жінок, середній вік яких становив (59,21.±8,92) років. Групу контролю склали 30 практично здорових осіб, співставних за віком та статтю, які не мали скарг і будь-яких клінічно значущих відхилень з боку серцево-судинної системи.

Отримані в ході дослідження результати продемонстрували важливість оцінки ролі ВЕФР-А та поліморфізму G634C (rs 2010963) гена ВЕФР-А в патогенетичних механізмах ГІМ та ризику виникнення несприятливого перебігу протягом 12 місяців спостереження. На основі вивчення ВЕФР-А була побудована прогностична модель ризику виникнення несприятливого перебігу післяінфарктного періоду у хворих протягом 12 місяців спостереження.

Визначена розповсюдженість поліморфізму G634C (rs 2010963) гена ВЕФР-А: генотип GG зустрічався у 51,9%, GC – у 47,4%, CC - у 0,7%, в контрольній групі, генотип GG спостерігався у 53%, GC – у 43%, CC – у 4 % випадків.

Рівень ВЕФР-А в основній групі склав 247,94 [107,22-486,50] пг/мл, в контрольній - 80,76 [56,20-149,51] пг/мл, (p=0,011). Встановлено, що групи не відрізнялися за частотою зустрічальності алелів, та відповідали закону Харді-Вайнберга.

При аналізі двох груп пацієнтів: з GG -генотипом (n=70) та носіїв GC+CC-генотипів (n=65) у гострому періоду хвороби нами не виявлено достовірних

відмінностей розвитку госпітальних ускладнень. Через 12 місяців спостереження рівень ВЕФР-А був достовірно вищий у носіїв генотипу GG, 314,01 [159,94-627,66] пг/мл в порівнянні з GC+CC генотипами 221,28 [77,58-440,82] пг/мл, ($p=0,045$). Низький рівень ВЕФР-А при генотипі GC+CC супроводжувався достовірно вищою частотою виникнення комбінованої кінцевої точки ($p=0,020$). Виявлено, що в групі GC+CC спостерігались достовірні збільшення показників КДО ЛШ ($P=0,044$), КСО ЛШ ($P=0,039$) в порівнянні з носіями GG алелей.

Для ідентифікації незалежних факторів, що впливають на 12-місячну комбіновану кінцеву точку, проведено уні- та мультиваріативний логістичний аналіз, котрий показав, що рівень ВЕФР-А ($\beta = -0,0015896$, $p=0,02$), генотип GC+CC ($\beta=1,72$, $p=0,011$), рівень тропоніну I ($\beta = -0,013$, $p=0,023$) та ускладнений перебіг гострого періоду ІМ ($\beta=2,23$, $p=0,001$) - предиктори несприятливого перебігу хвороби протягом 12 місяців спостереження ($p < 0,0001$).

В ході дослідження встановлено пороговий рівень ВЕФР-А $\leq 255,72$ пг/мл, (площа під ROC-кривою 0,630; 95 % довірчий інтервал 0,534- 0,719; $p=0,0472$). Концентрація біомаркера нижче зазначеного рівня з чутливістю 72% та специфічністю 58% прогнозує несприятливий перебіг протягом 12 місяців після перенесеного ГІМеСТ.

Проведено мультиваріативний логістичний аналіз впливу факторів виникнення кінцевих точок протягом 12 місяців після ГІМеСТ. Виявлено, що несприятливий перебіг хвороби залежить від рівня ВЕФР-А ($\beta = -0,0016$; $p=0,035$), ХсЛПНЩ ($\beta = -1,62064$; $p=0,034$) та наявності ускладнень в гострий період хвороби ($\beta = 1,89998$; $p=0,023$).

На основі отриманих результатів розроблено модель прогнозування розвитку несприятливих подій після ГІМеСТ впродовж 12 місяців. За основу взято рівняння логістичної регресії. Про достатню ефективність даної моделі свідчить форма ROC-кривої і площа під нею 0,75 ($p=0,0001$), чутливість якої-80% і специфічність - 67,8 %.

Другим фрагментом дослідження була оцінка ефективності антиагрегантного лікування залежно від поліморфізму G634C (rs 2010963) гена ВЕФР-А. Аналіз проводився у виділених групах хворих. Пацієнти кожної підгрупи отримували 2 варіанти подвійної антитромбоцитарної терапії: ацетилсаліцилова кислота 100 мг один раз на день та клопідогрель 75 мг один раз на день або тикагрелор 90 мг двічі на добу на тлі базисного лікування упродовж 12 місяців. У носіїв алелю С (GC+CC), що приймали клопідогрель, була виявлена достовірно нижча концентрація ВЕФР-А 115,02 [63,84-422,72] нг/мл, ніж у пацієнтів, що приймали тикагрелор 241,36 [156,84-440,82] нг/мл ($p=0,044$). Водночас, у пацієнтів GG-групи різниці в концентрації біомаркера виявлено не було ($p=0,588$). У пацієнтів з GG-генотипом, які приймали тикагрелор, відбулося достовірне зниження НТ-проМНУП через 12 місяців спостереження та краща толерантність до фізичного навантаження під час проведення Т6ХХ ($p=0,059$). Також було досліджено частоту виникнення кінцевих точок, так у пацієнтів з GG-генотипом, які отримували тикагрелор, кількість несприятливих подій склала 4 (10,8%), а у тих, що приймали клопідогрель – 5 (15,2%), що не мало достовірних відмінностей ($p=0,588$). У носіїв алелю С (GC+CC), які отримували тикагрелор, за 12 місяців було зафіксовано 6 (15,4%) кінцевих точок, з яких 4 випадки (10,5%) повторних госпіталізацій та 2 смертельних випадки (5,26%). В той час, у підгрупі хворих, які отримували клопідогрель, кількість несприятливих подій протягом періоду спостереження виявилась вірогідно вищою, та склала 14 (51,8%) ($p=0,005$), серед яких було 9 (33,3%) госпіталізацій з приводу СН, 1 (3,7 %) повторний ІМ та 4 (14,7%) випадки смертей з усіх причин. Мультиваріантний регресійний логістичний аналіз предикторів комбінованої кінцевої точки показав, що наявність генотипу 634GC+634CC гена ВЕФР-А ($p=0,0465$), знижена фракція викиду ЛШ (<50,60%) ($p=0,0096$) та призначення клопідогреля в таких пацієнтів ($p=0,044$) є предикторами несприятливого перебігу хвороби протягом 12 місяців спостереження. Таким чином на основі генетичних особливостей виділена група високого ризику

несприятливого перебігу хвороби, що потребує більш інтенсивного антиагрегантного лікування.

Наукова новизна дисертаційної роботи полягає у тому, що вивчена розповсюдженість поліморфізму G634C (rs 2010963) гена ВЕФР-А у хворих на ГІМеСТ, встановлено асоціацію між рівнем ВЕФР-А та носіями поліморфних генотипів. Показано, що хворі з генотипом GG мають достовірно вищу концентрацію біомаркера в гострій період хвороби в порівнянні з GC+CC. Досліджено, що носії алелю C (GC+CC) є групою високого ризику та мають достовірно більше накопичення кінцевих точок протягом року спостереження.

Розширено наукові дані щодо прогностичної ролі ВЕФР-А на перебіг післяінфарктного періоду. Концентрація ВЕФР-А $\leq 255,72$ пг/мл є предиктором несприятливих подій протягом 12 місяців спостереження. Носії генотипу 634GC+634CC гена ВЕФР-А в поєднанні зі зниженою концентрацією є групою ризику в післяінфарктному періоді відносно досягнення кінцевих точок.

Отримано нові дані, які дозволяють оптимізувати антиагрегантну терапію у хворих ГІМеСТ. Встановлено, що хворим, які є носіями генотипу 634GC+634CC, призначення тикагрелору в порівнянні з клопідогрелем в рамках стандартної терапії ефективно покращує перебіг післяінфарктного періоду, зменшує частоту розвитку несприятливих подій.

Практична значимість отриманих результатів полягає в тому, що для підвищення точності прогнозування та попередження несприятливих подій у пацієнтів з ГІМ з елевацією сегмента ST доцільно використовувати розроблену модель з визначенням рівня ВЕФР-А, Хс ЛПНЩ та наявності ускладнень в гострій період захворювання. Для визначання найбільш уразливих пацієнтів з ГІМ з елевацією сегмента ST рекомендовано визначати генотип поліморфного локусу G634C (rs 2010963) гена ВЕФР-А. Групу дуже високого ризику становлять носії С алелю (GC+CC) з метою зменшення частоти серцево-судинних ускладнень після перенесеного ГІМеСТ у пацієнтів з генотипом GC+CC гена ВЕФР-А при проведенні подвійної антитромбоцитарної терапії доцільно віддавати перевагу призначенню тикагрелору 90 мг 2 рази н добу, тоді

як при генотипі GG призначення тикагрелору чи клопідогрелю є однаково ефективним, що має важливе соціально-економічне значення.

Ключові слова: гострий інфаркт міокарда з елевацією сегмента ST, васкулоендотеліальний фактор росту-А, поліморфізм G634C (rs 2010963) гена ВЕФР-А, тикагрелор, клопідогрель, прогнозування, лікування.

ANNOTATION

The dissertation work is applied by Kutia Inna Mykolayivna for philosophy doctorate degree (PhD), from the department of prevention and treatment of emergency conditions of Government Institution “L.T. Malaya Therapy National Institute of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, speciality 222" Medicine ", specialization "Cardiology". The dissertation work's title is “Pathogenetic and prognostic value of vascular endothelial growth factor-A in acute myocardial infarction with the ST segment elevation”.

Scientific adviser: Kopytsya Mykola Pavlovych, doctor of medical sciences, professor, head of the department of prevention and treatment of emergency conditions of Government Institution “L.T.Malaya Therapy National Institute of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”.

Acute myocardial infarction (AMI) is a major and important manifestation of cardiovascular disease and makes a significant contribution to mortality worldwide. The main factor determining the adverse outcome of myocardial infarction is the degree of cardiomyocytes' irreversible damage. Modern strategies for the treatment of AMI are aimed at restoring blood flow in the infarct-dependent coronary artery. But the course of the disease and its prognosis significantly depend on the state of microcirculatory disorders in the area of ischemia and the development of collateral arterial blood flow.

There are clear algorithms for the treatment of this category of patients, however, they are not sufficiently personalized. Many features of the individual, including genetic peculiarities are not taken into account.

Myocardial reperfusion in acute occlusion of the infarct-dependent coronary artery and involvement of factors that contribute to the development of collaterals after restoration of subepicardial blood flow may reduce necrotic lesions, left ventricular remodeling, progression of heart failure and improve patient survival.

The important aspects of the modern scientific direction is to study the role of angiogenesis in ischemic trauma, and the searching for the ways to stabilize microvascular disorders in the myocardium.

Vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) is a specific factor regulating the processes of angio- and arteriogenesis. VEGF-A is a powerful mitogen that promotes the survival of endothelial cells, increases vascular permeability, accelerates and regulates the development of collateral blood supply in the ischemic myocardium, increases the density of the capillary network. The level and rate of secretion of the studied biomarker depends on some genetic factors that were studied in AMI insufficiently.

Pathogenetically determined therapy for AMI is dual antiplatelet therapy (DAPT). The efficacy of DAPT in dependence on the 634GC polymorphism of the VEGF-A gene has not been studied.

135 patients with AMI with ST-segment elevation (STEMI) were examined during the study, 109 (80.7%) men and 26 (19.3%) women, with average age - 59.21 ± 8.92 years. The control group consisted of 30 healthy individuals, matched by age and sex, who had no complaints and any clinically significant abnormalities of the cardiovascular system.

The results of the study demonstrated the importance of assessing the role of VEGF-A and the G634C polymorphism (rs 2010963) of the VEGF-A gene in the pathogenetic mechanisms of AMI and the risk of adverse course during 12 months of follow-up. The prognostic model of the adverse post infarction risk in patients during 12 months follow-up was constructed, and it was based on the VEGF-A values investigations.

The prevalence of G634C polymorphism (rs 2010963) of the VEGF-A gene was determined: GG genotype was found in 51.9%, GC - in 47.4%, CC - in 0.7%, in the control group, GG genotype was observed in 53%, GC - in 43%, CC - in 4% of cases.

The level of VEGF-A in the main group was 247.94 [107,22-486,50] pg / ml, in the control - 80,76 [56,20-149,51] pg / ml, ($p = 0,011$). It was found that the groups did not differ in the frequency of alleles, and corresponded to Hardy-Weinberg's law.

In the analysis of two groups of patients: with GG-genotype ($n = 70$) and carriers of GC + CC-genotypes ($n = 65$) in the acute period of the disease we did not find significant differences in the development of hospital complications. After 12 months of follow-up, the level of VEGF-A was significantly higher in carriers of the GG genotype, 314.01 [159,94-627,66] pg / ml compared with GC + CC genotypes 221,28 [77,58-440,82] pg / ml, ($p = 0.045$). The low level of VEGF-A in the GC + CC genotype was accompanied by a significantly higher incidence of the combined endpoint ($p = 0.020$). It was found that in the group GC + CC there were significantly increased indices of EDV LV ($P = 0.044$), ESV LV ($P = 0.039$) compared with carriers of GG alleles.

To identify the independent factors influencing the 12-month combined endpoint, a uni- and multivariate logistic analysis was performed, which showed that the level of VEGF-A ($\beta = -0.0015896$, $p = 0.02$), genotype GC + CC ($\beta = 1.72$, $p = 0.011$), the level of troponin I ($\beta = -0.013$, $p = 0.023$) and the complicated course of the acute period of MI ($\beta = 2.23$, $p = 0.001$) – were predictors of adverse disease during 12 months observation ($p < 0.0001$).

The study established a threshold level of VEGF-A ≤ 255.72 pg / ml (area under the ROC – 0.630; 95% confidence interval 0.534-0.719; $p = 0.0472$). The concentration of the biomarker below this level with a sensitivity of 72% and a specificity of 58% predicts an adverse course within 12 months after the STEMI.

A multivariate logistic analysis of the influencing factors on the endpoint development during 12 months follow-up after STEMI was performed. It was found that the unfavorable course of the disease depends on the level of VEGF-A ($\beta = -0.0016$; $p = 0.035$), LDL ($\beta = -1.62064$; $p = 0.034$) and the presence of complications in the acute period of the disease ($\beta = 1, 89998$; $p = 0.023$).

The obtained results provided a model for predicting adverse events development after STEMI for 12 months follow-up. The logistic regression equation was

considered as a basis for the model. The significant efficiency of this model is evidenced by the f the ROC-curve analyses and the AUC - 0.75 ($p = 0.0001$), the sensitivity of which was 80% and the specificity was 67.8%.

The second part of the study was to evaluate the effectiveness of antiplatelet therapy depending on the G634C polymorphism (rs 2010963) of the VEGF-A gene. The analysis was performed in selected groups of patients. Patients in each subgroup received 2 dual antiplatelet therapy options: the first one was acetylsalicylic acid 100 mg once daily and clopidogrel 75 mg once daily or the alternative option - ticagrelor 90 mg twice daily on baseline treatment for 12 months. Carriers of the C allele (GC + CC) receiving clopidogrel showed a significantly lower concentration of VEGF-A 115.02 [63.84-422.72] ng / ml than patients receiving ticagrelor 241.36 [156 , 84-440.82] ng / ml ($p = 0.044$). At the same time, no difference in the biomarker concentration was found in patients of the GG group ($p = 0.588$). Patients with GG genotype who took ticagrelor had a significant reduction in NT-proBNP after 12 months of follow-up and better exercise tolerance during 6 minutes walking test ($p = 0.059$). The frequency of endpoints was also investigated, so in patients with GG genotype who received ticagrelor, the number of adverse events was 4 (10.8%), and in those taking clopidogrel - 5 (15.2%), which is not significant differences ($p = 0.588$). In carriers of the C allele (GC + CC) who received ticagrelor, 6 (15.4%) endpoints were recorded in 12 months follow-op, of which 4 cases (10.5%) of rehospitalization and 2 deaths (5.26%). At that time, in the subgroup of patients receiving clopidogrel, the number of adverse events during the observation period was significantly higher, amounting to 14 (51.8%) ($p = 0.005$), among which there were 9 (33.3%) hospitalizations for HF 1 (3.7%) recurrent MI and 4 (14.7%) deaths from all causes. Multivariate regression logistic analysis of predictors of the combined endpoint showed that the presence of genotype 634 GC + 634CC gene VEGF-A ($p = 0.0465$), reduced LV ejection fraction (<50.60%) ($p = 0.0096$) and the appointment of clopidogrel in such patients ($p = 0.044$) are predictors of adverse outcomes during 12 months of follow-up. Thus, on the basis of investigated genetic

features, we distinguished a group of high risk of adverse disease course, which requires more intensive antiplatelet treatment.

The scientific novelty of the dissertation is that the prevalence of G634C polymorphism (rs 2010963) of the VEGF-A gene in patients with STEMI has been studied, the association between the level of VEGF-A and carriers of polymorphic genotypes has been established. It was shown that patients with the GG genotype have a significantly higher concentration of the biomarker in the acute period of the disease compared with GC + CC genotype. It was studied that carriers of the C allele (GC + CC) are a high-risk group and have significantly increased chances for endpoints during the year of observation.

Scientific data on the prognostic role of VEGF-A for the postinfarction period have been expanded. The concentration of VEGF-A ≤ 255.72 pg / ml is a predictor of adverse events during 12 months of follow-up. Carriers of the 634GC + 634CC genotype of the VEGF-A gene in combination with a reduced VEGF-A concentration are a higher risk group in the postinfarction period for reaching endpoints.

New obtained data allow optimizing antiplatelet therapy in patients with STEMI. It was found that patients who are carriers of the genotype 634GC + 634CC, the appointment of ticagrelor in comparison with clopidogrel effectively improves the course of the postinfarction period, reduces the incidence of adverse events.

The practical significance of the results is improving the accuracy of prediction and prevention of adverse events in patients with AMI with ST-segment elevation, it is suggested to use the proposed model with determination of the level of VEGF-A, LDL-C and complications in the acute period. To identify the most vulnerable patients with STEMI, it is recommended to determine the genotype of the G634C polymorphic locus (rs 2010963) of the VEGF-A gene. C-allele carriers (GC + CC) are a very high-risk group. In order to reduce the incidence of cardiovascular complications after STEMI in patients with the GC + CC genotype of the VEGF-A gene antiplatelet therapy, it is recommended to prescribe ticagrelor 90 mg 2 times a

day, while in the genotype GG the both antiplatelet strategies are equally effective,, which has important socio-economic significance.

Key words: acute myocardial infarction with ST segment elevation, vascular endothelial growth factor-A, polymorphism G634C (rs 2010963) of the VEGF-A gene, ticagrelor, clopidogrel, prognosis, treatment.