

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С РАЗВИТИЕМ АОРТАЛЬНОГО СТЕНОЗА

Типтева Т. А.¹, Чумакова О. С.¹, Затеищиков Д. А.^{1,2,3}

Аортальный стеноз (АС) является одним из наиболее частых клапанных поражений сердца у больных старше 65 лет. Несмотря на изученность молекулярных механизмов развития и прогрессирования АС, хирургическое лечение в настоящее время остается единственным возможным лечением порока. В связи с коморбидностью пожилых больных, остаются препятствия для рекомендации таким пациентам хирургической замены клапана, несмотря на очевидный неблагоприятный прогноз консервативной терапии. Поиск новых подходов для ранней оценки неблагоприятных факторов риска, скорости прогрессирования заболевания позволит оценить необходимость более раннего лечения, а также позволит выявить возможности замедления прогрессирования заболевания. Одним из направлений изучения остается поиск генетических маркеров. В обзоре представлены основные исследованные молекулярные механизмы и связанные с ними генетические маркеры, ассоциированные с развитием АС.

Российский кардиологический журнал 2015, 10 (126): 99-106
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-99-106>

Ключевые слова: аортальный стеноз, генетическая предрасположенность.

¹ФГБУ ДПО Центральная государственная медицинская академия УД Президента РФ, Москва; ²ГБУЗ Городская клиническая больница №51 ДЗ г. Москвы,

Москва; ³ФГБУ Федеральный научно-клинический центр специализированных видов клинической помощи и медицинских технологий ФМБА России, Москва, Россия.

Типтева Т. А. — аспирант кафедры терапии, кардиологии и функциональной диагностики с курсом нефрологии, Чумакова О. С. — к.м.н., доцент кафедры терапии, кардиологии и функциональной диагностики с курсом нефрологии, Затеищиков Д. А.* — д.м.н., руководитель первичного сосудистого отделения, профессор кафедры терапии, кардиологии и функциональной диагностики с курсом нефрологии, в.н.с. лаборатории генетики.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
 dz@bk.ru

АС — аортальный стеноз, АК — аортальный клапан, МКМ — межклеточный матрикс, СРБ — С-реактивный белок, BMP — костные морфогенетические белки, MMP — металлопротеиназа, CCC — сердечно-сосудистая система.

Рукопись получена 30.07.2015

Рецензия получена 03.08.2015

Принята к публикации 10.08.2015

MOLECULAR-GENETIC FACTORS, ASSOCIATED WITH AORTIC STENOSIS DEVELOPMENT

Tipteva T. A.¹, Chumakova O. S.¹, Zateyshchikov D. A.^{1,2,3}

Aortic stenosis (AS) is one of the most prevalent valvular heart disorders in patients older than 65 years. Regardless the studied molecular mechanisms of development and progression of the disease, surgical treatment is recently the only successful method of help. Due to lots of comorbidities of older patients, there are obstacles to recommend surgical valve replacement, even knowing an adverse prognosis of conservative treatment. Search for new approaches to earlier assessment of adverse risk factors, speed of progression of this disease, would help to evaluate the necessity of earlier treatment and could make to slow down the progression of the disease. One of directions for this — is a search for genetic markers. This review focuses on the main known molecular mechanisms and genetic markers related to them, that are associated with AS.

Russ J Cardiol 2015, 10 (126): 99-106

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-99-106>

Key words: aortic stenosis, hereditary predisposition

¹FSBI APE Central state medical Academy of the administrative Department of the President of the Russian Federation, Moscow; ²SBHI City Clinical Hospital №51 HD of Moscow, Moscow; ³FSBI Federal Scientific-Clinical Center of Specialized Types of Clinical Assessment and Medical Technologies FMBA Russia, Moscow, Russia.

Аортальный стеноз (АС) представляет собой самый частый тип клапанного поражения сердца в пожилом возрасте в развитых странах [1, 2]. Поскольку единственным возможным способом лечения является хирургическая коррекция порока, крайне важно иметь возможность выявить данное заболевание тогда, когда операция выполнима. Поиск новых подходов для ранней оценки неблагоприятных прогностических факторов, скорости прогрессии заболевания с учетом биохимических и генетических маркеров необходим для того, чтобы оценить необходимость более раннего лечения и выявить новые механизмы возможного замедления прогрессирования заболевания. В последнее время, в связи с прогрессом, достигнутым в разработке методов изучения

генома, появилась возможность провести изучение формирования врожденной предрасположенности к данному заболеванию.

Нами суммированы основные исследованные молекулярные механизмы и связанные с ними генетические маркеры, ассоциированные с развитием АС.

Известно, что больные, имеющие наследственный анамнез АС, имеют более высокий риск развития порока [3]. Наследственная предрасположенность к АС, особенно в случае выявления этого порока у близких родственников, была изучена в популяционном исследовании жителей Юты Horne BD, et al. [4]. Во Франции также были выявлены 5 семей с наследственным характером развития АС [5].

Таблица 1

Генетические ассоциации, связанные с развитием АС

Ген	Хромосомное расположение	Генетический вариант	Эффект (аллель, однонуклеотидный полиморфизм)	Количество больных АС/группа контроля	Фенотип	Популяция, страна	Автор
<i>VDR</i>	12q13.11	Bsml	+(B)	100/100	АС	Германия	Ortlepp, et al.
<i>APOB</i>	2p24-p23	Xbal	+(X+)	62/62	АС	Бразилия	Avakian, et al.
		rs1042031	НП	457/3294	АС	Канада	Gaudreault N, et al.
	rs6725189	НП					
<i>APOE</i>	19q13.2	изоформы	+(E2)	62/62	АС	Бразилия	Avakian, et al.
				+(E4)	43/759	АС	США
<i>PON1</i>	7q21-22	Q192R	НП	67/251	АС	Португалия	Moura LM, et al.
<i>ESR1</i>	6q25.1	918 T/C (PvuII)	+(p)	41/41	АС	Швеция (женщины в постменопаузе)	Nordström, et al.
<i>IL10</i>	1q31-q32	-1082 G/A	+(G)	187/0	Кальцификация АК	Германия	Ortlepp, et al.
		-819 C/T	+(C)				
		592 C/A	+(C)				
<i>NOTCH1</i>	9q23-35	R1108X	НП	5 поколений семьи	АС	США	Garg V, et al.
		H1505del	НП				
		pT596M	НП				
		pP1797H	НП				
		rs13290979	НП	457/3294	АС	Франция, Канада	Ducharme V, et al.
<i>LPA(a)</i>	6q25-q26	rs10455872	+(G)	6942/5301	АС	Европа, США, в т.ч. испано — американская и афроамериканская	Thanassoulis G, et al.
<i>MYO7A</i>	11q13.5	rs2276288	НП	265/961	АС	США	Ellis SG, et al.
<i>AGTR1</i>	3q24	rs5194	НП				
<i>ELN</i>	7q11.23	rs2071307	НП				
<i>LTBR</i>	12p13	rs35681405	НП				
<i>GUCY26P</i>	10	rs10885330	НП				
<i>VEGF-A</i>	6p12	pArg325X	НП				
				2 поколения семьи	АС	Китай	Zhao W, et al.

Сокращения: НП — нуклеотидный полиморфизм, АС — аортальный стеноз, АК — аортальный клапан.

По данным исследования с участием 1871 больного с артериальной гипертензией (Hypertension Genetic Epidemiology Network Study), выявлена ассоциация с семейной формой АС с полиморфизмом локуса 16-й хромосомы — 16q22.1-q22.3 (ОШ: 3,14) , 19-й хромосомы — 19p13.11-p11(ОШ: 2,88), 1-й — 1q42 (ОШ: 2,12), 16-й- 16q22.1-q22.3 (ОШ: 2,63). Кроме того, выявлена вероятная ассоциация АС с полиморфизмом локуса 2q37 (ОШ:2,03) [6].

Однако факторы, объясняющие наследственный характер АС, продолжают оставаться не изученными. Теоретически, наследственную предрасположенность к развитию АС следует искать среди генов, кодирующих белки — участники патогенеза АС, т.е. белки процессов кальцификации, воспаления, ремоделирования межклеточного матрикса, нарушения липидного обмена, ангиогенеза.

Результаты генетических исследований у больных АС и выявленные генетические ассоциации с развитием АС приведены в таблице 1.

Молекулярно-генетические механизмы кальцификации при АС

В развитии АС принимают участие структурные компоненты аортального клапана (АК): клеточные элементы и межклеточный матрикс (МКМ). В настоящее время молекулярные механизмы развития АС наиболее полно изучены на примере нескольких путей развития кальцификации АК. Компонентами МКМ являются фибробласты и белки МКМ, играющие регуляторную роль. В экспериментах *in vivo* было показано, что в стенотически измененных клапанах фибробласты приобретают свойства плюрипотентных клеток, способных к остеобластической диффе-

ренцировке. “Активированные” фибробласты (или миофибробласты) имеют сходные свойства с остеобластами костной ткани и обладают возможностью синтезировать остеогенные медиаторы [7].

Наиболее изученными регуляторными путями экспрессии остеогенных медиаторов “активированными фибробластами” являются: пути трансформирующих факторов роста (TGFβ1 и β3), в том числе костных морфогенетических белков (bone morphogenetic protein — BMP), Wnt, RANK/RANKL и Notch1 пути. Каскад основных путей молекулярных взаимодействий, принимающих участие в процессе кальцификации, представлен на рисунке 1. Результатом является активация белков — транскрипционных факторов RUNX2/Cbfa1 (Runx2), MSX2, Osterix, регулирующих в костной ткани дифференцировку плюрипотентных мезенхимальных клеток в незрелые остеобласты, зрелые остеобласты и затем в остециты. В частности, RUNX2 непосредственно стимулирует транскрипцию генов, кодирующих остеокальцин, коллаген I типа, остеопонтин и матриксную металлопротеиназу 3 типа (MMP3) [8, 9]. Наряду с вышеперечисленными механизмами, активация RUNX2 возможна при воздействии других факторов: компонентов МКМ (интегринов), фактора роста фибробластов — 2 (FGF-2), механическом и гормональном (паратиреоидный гормон) воздействии [10].

TGFβ-связанный каскад молекулярных взаимодействий

Трансформирующий фактор роста β, имеющий 3 изоформы (TGFβ1/2/3) — многофункциональный цитокин и фактор роста для многих клеток. Связываясь с TGFβ рецептором II типа, активизирует фосфорилирование рецептора TGFβ I типа. В свою очередь, рецептор фосфорилирует регуляторный белок SMAD2/3, связывающийся с коферментом SMAD4 в единый комплекс, который транспортируется в ядро и функционирует как транскрипционный фактор клеточного роста, пролиферации и апоптоза [11]. TGFβ1 наряду с процессами кальцификации, обладает известной способностью регулировать остеобластическую трансдифференцировку фибробластов [12, 13], влиять на высвобождение белков BMP, ингибировать апоптоз остеобластов [14] и активировать дифференцировку остеокластов [15]. Также были выявлены способности TGFβ1: индуцировать экспрессию α-актина гладкомышечных клеток в клапанах сердца, индуцировать процессы апоптоза клеток МКМ клапанов [16], влиять на синтез фибробластами коллагена I и III типа, обнаруживаемых при AC [17]. Все это также позволяет отнести TGFβ1 к биомаркерам фиброза и ремоделирования МКМ.

Данные об активности TGFβ1 пути в патогенезе AC подтверждены в экспериментальных моделях на животных [13], а также данными исследований

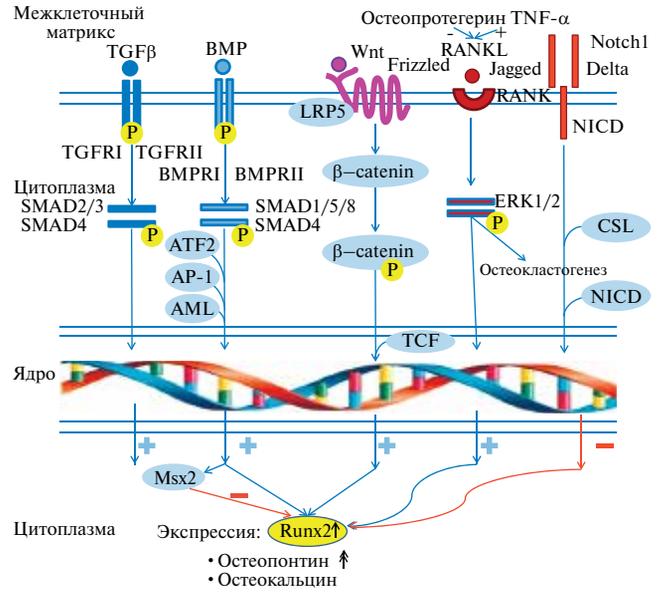


Рис. 1. Молекулярные механизмы кальцификации.

с количественной ПЦР, показавшей повышенный уровень экспрессии мРНК генов TGFβ1, щелочной фосфатазы и MMP-9 в кальцинированном аортальном клапане больных AC [18].

В отношении генетических полиморфизмов TGFβ1 получены противоречивые данные. Полиморфизм TGFβ1 (509 C/T) — отсутствие C аллеля — изучался в исследовании Nordström P, et al., где была выявлена недостоверная тенденция к его ассоциации с аортальным склерозом (p=0,10) у женщин в постменопаузе [19]. В исследовании Anger T, et al. с участием 20 больных с AC, в кальцинированных клапанах была выявлена повышенная экспрессия гена TGFβ1 и гена белка сосудистой адгезии (vascular adhesion protein — 1 (VAP1)). Однако, в более крупных исследованиях по изучению генетических полиморфизмов TGFβ1 с развитием критического AC полиморфизм TGFβ1 (в частности rs6957) не показал своей связи с AC [20]. Также данные об экспрессии гена TGFβ1 в кальцинированном клапане не были подтверждены в более позднем исследовании на ограниченной выборке больных (5 чел.) [21].

Костные морфогенетические белки (BMP) — сигнальные пути

BMP — группа цитокинов, принадлежащих к суперсемейству TGFβ и объединенных общим про-остеогенным потенциалом. Регуляция BMP осуществляется подобно TGFβ — через систему SMAD. Однако для активации BMP пути требуется участие дополнительных кофакторов: ATF2, AP-1, AML со специфическими сайтами связывания с ДНК. Кофакторы необходимы для идентификации целевых генов для синтеза про-остеогенных белков — Runx2

и MSX2 [22, 23]. Помимо эктопического остеогенного потенциала, BMP известны своей способностью влиять на активность моноцитов, эпителиальных и нервных клеток. Активность BMP — пути при AC подтверждается выявленным повышенным уровнем экспрессии BMP 2 и 4 типа в кальцинированном АК [24]. Также известно, что BMP 2 и 4 усиливают активность и экспрессию щелочной фосфатазы и остеокальцина — маркеров кальцификации в клетках межклеточного матрикса клапанов сердца [12].

Wnt/β — катениновый путь

Wnt — белки относятся к семейству секреторируемых белков, регулирующих дифференцировку клеток в процессе остеогенеза. Связь Wnt на поверхности клеток с рецепторами семейства Frizzled и LRP способствует увеличению уровня β-катенина в цитоплазме клеток, который, в свою очередь, проникает в ядро и формирует с T-клеточным фактором (TCF) ДНК-связывающий комплекс [25, 26]. К целевым Wnt генам относятся Runx2, RANKL — лиганды, остеокальцин, Jagged1 и ИЛ-8 (<http://www.stanford.edu/~rnusse/pathways/targets.html>) и Tcf7 и LEF1. Активаторами Wnt-пути являются: BMP белки, TNF-α, оксидативный стресс. Участие этого механизма при AC подтверждено в экспериментальных моделях: увеличение концентрации LRP5 рецептора выявлено в АК кроликов с AC [27].

RANK/RANKL — путь

RANKL — цитокин, относящийся к TNF-α суперсемейству, представляет собой трансмембранный белок на поверхности остеобластов, стромальных клеток, T-клеток и эндотелия. RANKL-лиганд для активации рецептора NF-κB — RANK на поверхностях остеокластов. RANKL стимуляция рецептора ведет одновременно к активации остеокластогенеза, а также к стимуляции экспрессии Runx2 у больных с AC [28]. Остеопротегерин является ингибитором RANK/RANKL пути, а TNF-α — наоборот, его активатором. Так, при AC был выявлен пониженный уровень остеопротегерина наряду с повышенной экспрессией RANKL [28]. RANK/RANKL путь также непосредственно способствует накоплению кальция в МКМ.

Notch — сигнальный путь

Семейство Notch состоит из 4х трансмембранных белков (Notch1-4) и 5 лигандов (Delta — like 1,3,4 и Jagged 1, 2), расположенных на клеточной мембране. При активации рецептора образуется его внутриклеточный домен (NICD), мигрирующий в клеточное ядро, где формирующийся комплекс с транскрипционным фактором CSL, NICD активирует гены: *Hes* и *Hrt* семейств, ответственных за развитие сердечно-сосудистой системы (ССС) (дифференци-

ровку клеток и контроль фенотипа гладкомышечных клеток). *In vitro* была выявлена способность Notch1 ингибировать проостеогенный транскрипционный фактор Runx2 [29]. В случае возникновения определенной мутации в *Notch1* гене отмечалось развитие кальцификации АК, что было связано с повышением экспрессии Runx2 [30, 31]. Также повышенная экспрессия рецептора Notch1 и его лиганда Jagged1 была выявлена в кальцинированных атеросклеротических бляшках [32].

Наилучшим образом процессы кальцификации с максимально возможным количеством генетических полиморфизмов были изучены на примере гена *Notch1* в работе Garg V, et al. у ограниченной группы больных с AC, составляющих 5 поколений семьи. В ходе исследования были выявлены следующие мутации этого гена: R1108X, H1505del, pT596M, p.P1797H, ассоциированные с развитием AC [31]. Однако, в более позднем исследовании с участием 457 франко-канадских больных с тяжелым AC при изучении 14 генетических вариантов мутации этого гена, включающих вышеперечисленные варианты, был обнаружен лишь 1 тип нуклеотидного полиморфизма, достоверно связанный с AC rs13290979 (p=0,003). Тем не менее, он не имел популяционной значимости [33].

Кальциевый обмен

Развитие AC тесно связано с нарушением кальциевого обмена, что подтверждается его развитием на фоне хронической почечной недостаточности и при многократном гемодиализе [34, 35]. Патологическая кальцификация в ССС связана также с процессами потери минеральной плотности костной ткани [36].

Известно, что уровень сывороточного кальция регулируется витамином Д (дигидроксиголекальциферол-1,25-(ОН)²-D³), который образуется путем гидроксирования из 25-гидроксиголекальциферола (25-ОН-D³). Процесс гидроксирования индуцируется паратгормоном, который, в свою очередь, активируется в зависимости от концентрации ионизированного кальция на поверхности клеток паращитовидной железы. Помимо обмена витамина Д, паратгормон увеличивает деминерализацию костной ткани за счет активации остеокластов, усиливает реабсорбцию кальция в почечных канальцах и снижает реабсорбцию фосфора. Связь нарушений кальциевого обмена с развитием AC была выявлена в работах Lindroos и Linhartova, et al. Повышенная секреция паратиреоидного гормона, низкий уровень витамина Д (25-гидроксиголекальциферола (25-ОН-D³) и высокий уровень сывороточного кальция ассоциировались с наличием AC [37, 38].

При генетических исследованиях полиморфизм *BsmI* витамина Д был изучен на примере 100 больных

с критическим АС ($S_{AK} < 1 \text{ см}^2$). Частота встречаемости В аллеля гена витамина Д была на 35% выше у больных с АС, чем в группе контроля (соответствующей по полу, возрасту, наличию или отсутствию ИБС) ($p=0,001$) [39]. Связь В аллеля витамина Д с развитием АС объясняется авторами тем, что у носителей аллеля выявляется худшая абсорбция кальция, его быстрая потеря, что обуславливает повышенную секрецию паратгормона и, как следствие, развитие АС. Однако, существуют данные о возможном влиянии на метаболизм кальция различных вариантов рецепторов к витамину Д.

Молекулярно-генетические механизмы процессов воспаления при АС

Провоспалительные цитокины — белки с плейотропным типом действия, регулирующие лейкоцитарную активность. Наиболее изученными при АС являются: высокочувствительный С-реактивный белок (СРБ) [40], растворимые межклеточные молекулы адгезии (sICAM-1) [41], циркулирующие растворимые рецепторы конечных продуктов гликозилирования (AGE) — sRAGES [42], IL6, IL1 β , ФНО- α (TNF- α), фибриноген, белок теплового шока 60 (Hsp60), растворимый тканевой фактор (sTF), растворимый Е-селектин [43].

TNF- α считается центральным участником процессов воспаления в развитии и прогрессии АС. Это подтверждается следующими данными: активация sRAGES (молекул, ассоциированных с кальцификацией ССС) связана с увеличением концентрации TNF- α [44], *in vitro* добавление TNF- α к культивируемым клеткам МКМ АК активирует BMP-путь и кальцификацию клапана [45]. Также известна способность TNF- α усиливать экспрессию молекул адгезии: Е-селектин, Р-селектин и ICAM-1 [46]. Следует отметить, что TNF- α в эксперименте наиболее интенсивно индуцировал накопление кальция в тех клапанах, где уже начался процесс АС, что свидетельствует о возможной генетической/эпигенетической регуляции степени выраженности порока [45]. С точки зрения генетических исследований TNF- α , известно лишь о повышенном уровне экспрессии гена в АК [46], так же, как и в отношении ICAM-1, молекул адгезии сосудистого эндотелия 1 типа (vascular cell adhesion molecule-1 — VCAM-1) и hsp60 [47].

Генетические полиморфизмы провоспалительных цитокинов при АС наиболее изучены на примере интерлейкинов, в частности интерлейкина 10 (IL10), однако были получены противоречивые данные. Так, в работе Ortlepp JR, et al., высокая частота аллелей (rs1800896, rs1800871, and rs1800872), связанных с высоким уровнем IL10 ассоциировалась с развитием заболевания [39]. Gaudreault N, et al. также показали связь полиморфизмов интерлейкина 10 (IL10), особенно промотерного полиморфизма

(rs1800872), влияющего на продукцию цитокина, с развитием АС. При этом, высокая частота встречаемости аллеля была связана, наоборот, с низкой концентрацией IL10, что ассоциировалось с развитием АС ($p=6,2 \times 10^{-11}$). Полученные данные объяснялись известным выраженным противовоспалительным эффектом цитокина [20]. В работе Ortlepp JR, et al. также получены данные о наличии связи генетических полиморфизмов с тяжестью заболевания, со степенью кальцификации АК.

Молекулярно-генетические механизмы процессов фиброза и ремоделирования МКМ при АС

Механизмы ремоделирования МКМ при АС были изучены на примере MMP и катепсинов, ферментов, участвующих в деградации межклеточного матрикса: MMP 1,2,3,7,9,12 и их ингибиторов (TIMP1,2,3,4), катепсинов S, K, V, G, трансформирующего фактора роста β 1 (TGF β 1) [16, 48-50], TNF- α [51], тенасцина С [52]. Генетические полиморфизмы MMP и катепсинов не изучались, однако высокий уровень экспрессии гена MMP (в частности, MMP 1,7,9,12) и TIMP 1,2 в образцах самих клапанов при морфологическом исследовании был ассоциирован с АС [21].

Молекулярно-генетические механизмы липидного обмена при АС

Широко известна роль факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний в отношении АС. Так, известно, что возраст, мужской пол, курение в анамнезе, высокие уровни ЛПНП, ЛПв, холестерина являются независимыми факторами риска АС.

Генетические маркеры липидного обмена остаются одним из наиболее изучаемых направлений для генетических исследований АС. Несмотря на наличие достоверных данных о связи некоторых генов липидного обмена с развитием АС, неизвестно, участвуют ли непосредственно сами гены в развитии заболевания, или их эффект опосредован дополнительными механизмами (например, гиперлипидемией — фактором риска АС). В одном из наиболее крупных исследований Thanassoulis G, et al. с участием 6942 больных: однонуклеотидный полиморфизм в локусе липопротеина а (ЛПв) rs10455872 был ассоциирован с развитием АС (для аллеля ОШ 2,05; $p=9,0 \times 10^{-10}$) и достиг уровня геномной значимости. Исследование было подтверждено для европейской, афроамериканской и испано-американской когорты пациентов ($p < 0,05$ для всех групп). В исследовании также изучался плазменный уровень ЛПв в 2х когортах больных (Framingham Heart Study (FHS) и the Age, Gene/Environment Susceptibility Reykjavik Study (AGES-RS)), коррелировавший с частотой выявления G-аллеля и с выявлением АС. Относительный риск развития АС в 2х когортах больных при наличии

полиморфизма ЛПа составил 60-68% (ОШ 1,62, $p=1 \times 10^{-4}$). Связь же с прогнозом заболевания не изучалась [53].

По данным Novaro GM, et al., согласно исследованию, в котором принимало участие 802 больных (43 больных с АС и 759 больных группы контроля) 4-й аллель аполипопротеина Е (apoE4) был независимым предиктором развития АС (ОШ 1,94, 95% ДИ, 1,01-3,71, $p=0,046$) [54]. Результаты этого исследования ограничены небольшим количеством больных с АС (43), у 23 из которых была выявлена еще и кальцификация митрального клапана.

Однонуклеотидные полиморфизмы гена аполипопротеина В (*APOB*) были изучены Gaudreault N, et al. у 457 больных с АС [20]. Миссенс мутация в гене *APOB* (rs1042031) была достоверно связана с АС ($p=0,00001$), однонуклеотидный полиморфизм *APOB* стоп-кодона (rs6725189) также был достоверно связан с развитием АС ($p=0,000013$). Следует отметить, что в этом исследовании изучалась связь полиморфизмов с тяжестью заболевания: больные с более чем одним аллелем *APOB* полиморфизмов имели более тяжелую степень АС. Таким образом, был сделан вывод о том, что более тяжелые фенотипические проявления АС неоднозначно связаны с пожилым возрастом, что еще раз подтверждает генетическую составляющую развития АС.

В исследовании Avakian SD, et al. изучалась распространенность: аполипопротеина А-1 (*APOA1*) А/Г мутации, инсерции/делеции *APOB* сигнального белка, рестрикционного фрагмента *APO B* XbaI и полиморфизмы аполипопротеина Е (*APOE*) у 62 больных с критическим АС, доказана связь генотипа *APO B* XbaI X+/X+ ($p=0,007$) и *APO E2* аллеля с развитием АС [55].

По данным Nordström P, et al., полиморфизм эстрогенового рецептора α (*PvuII*), (ранее известного наличием ассоциации с липидным обменом и коронарным атеросклерозом) в виде высокой частоты р аллеля ($p=0,03$) независимо связан с развитием склероза АК (у 41 женщины в постменопаузе) [19]. *PvuII* полиморфизм также был связан с высоким уровнем общего холестерина ($p=0,02$) и ЛПНП ($p=0,04$).

При изучении липидного обмена при АС Moura LM, et al. обратили внимание на параоксаназу 1 (*PON1*) — фермент с антиоксидантными свойствами, синтезируемый в печени и высоко ассоциированный с ЛПВП. В своей работе они показали, что наличие мутации Q192R в гене *PON1* связано с развитием АС ($p=0,03$) [56].

Молекулярно-генетические механизмы неангиогенеза в АК при АС

Наличие процессов неангиогенеза в патогенезе АС подтверждается во многих исследованиях [47, 57-59]. Так, фактор роста сосудистого эндотелия

VEGF и его два рецептора Flt1 и Klf1 ассоциированы с процессами неореваскуляризации в АК при АС [57, 58]. Остеонектин (или SPARC), секретируемый белок, участвующий в процессах неореваскуляризации и воспаления (активирует MMP 9) также экспрессируется в АК при АС [59], экспрессия хондромодулина I — антагониста процессов неореваскуляризации, снижена при АС [60]. Активация неангиогенеза при АС находится в сильной взаимосвязи с процессами воспаления: в исследованиях неоднократно было замечено повышение уровня экспрессии проангиогенных биомаркеров локально в месте участков воспаления, также была выявлена способность провоспалительного цитокина TNF- α усиливать секрецию VEGF [61]. Группой китайских исследователей был выявлен генетический полиморфизм в гене *VEGF* на примере 2-х поколений одной семьи, ассоциированный с развитием АС [62].

В ряде генетических исследований больных с АС были обнаружены полиморфизмы генов с неуточненным механизмом влияния на развитие порока. В исследовании Ellis SG, et al., с участием 265 больных с умеренным и критическим АС и 961 больного без АС определена корреляция следующих однонуклеотидных полиморфизмов: ген *MYO7A* (rs2276288), $p=0,001$, *AGTR1* (rs5194), $p=0,004$, *ELN* (rs2071307), $p=0,005$, *LTBR* (rs35681405), $p=0,006$, *GUCY26P* (rs10885330), $p=0,006$ с развитием АС. Ген *MYO7A* кодирует нетрадиционный миозин (присутствующий не только в мышечных клетках), ассоциированный с редкими наследственными синдромами глухоты и риском развития меланомы. *AGTR1* ген кодирует рецептор ангиотензина I типа, связан со снижением ангиотензиновой активности, кальцификацией коронарных артерий. *ELN* ген кодирует один из основных составных компонентов межклеточного матрикса — эластин, мутации и делеции в этом гене наблюдаются у детей с надклапанной АС и с анетодермией (разновидностью очаговой первичной атрофии кожи) [63].

Каскады молекулярно-генетических путей при АС тесно связаны между собой, активация одних путей может регулировать запуск других. Так, выявлены данные о взаимосвязи сигнальных путей кальцификации АК: Notch и RANK/RANKL, Wnt, TGF β [64]. BMP (в частности, BMP2) наряду с активацией собственного пути способен индуцировать каскады TGF β , Wnt и Notch [23, 65]. Активация каскада TGF β — пути может ингибировать Wnt-/ β -катениновый путь [66]. Существуют данные о взаимодействии между провоспалительными факторами и компонентами дегенерации МКМ: TNF- α может стимулировать экспрессию MMP на поверхности миофибробластов АК [43].

Помимо изучения молекулярных путей развития АС, генов и генетических вариантов, существует отдельное направление генетических исследований — изучение эпигенетической регуляции. В основе

эпигенетической регуляции лежат механизмы изменения экспрессии генов, не затрагивающие последовательность нуклеотидов в ДНК. Ацетилирование белков — гистонов и метилирование ДНК — основные механизмы эпигенетической регуляции экспрессии генов, известные при АС. Ацетилирование гистонов, нарушающее связывание транскрипционных факторов, регулируется гистон — деацетилазами I-IV классов [67]: I (HDAC3) и III (Sirt1) классы принимают участие в процессах кальцификации ССС. HDAC3 способен подавлять активность Runx2 и предотвращать патологическую остеобластическую дифференцировку [68], Sirt1 подавляет процессы воспаления и активацию эндотелиальных клеток [69].

Участие процессов метилирования ДНК в развитии кальцификации ССС было подтверждено экспериментально *in vitro*. Метилирование промотерной зоны ДНК, кодирующей актин гладкомышечных клеток было связано с их кальцификацией, а при добавлении деметилирующего агента кальцификация значительно уменьшалась [70].

Таким образом, АС представляет сложный патологический процесс с множественными, до конца не изученными молекулярными механизмами разви-

тия, генетическая основа которого может помочь установить ключевые звенья в патогенезе заболевания, позволит оценить необходимость более раннего лечения и выявить новые механизмы замедления прогрессии заболевания.

Изучение генетических факторов является перспективным направлением в изучении АС, поскольку клинические, эхокардиографические данные не всегда в полной мере могут предсказать активность патологического процесса у конкретного больного, а также скорость прогрессии порока, особенно на начальных этапах и при бессимптомном течении заболевания. Тем не менее, в настоящее время количество генетических исследований весьма ограничено. Возможными путями исследования генетических факторов при АС могут быть: целенаправленное изучение отдельно взятого гена с выявлением максимально возможных генетических полиморфизмов (как было исследовано для гена *Notch1*) и их ассоциаций с развитием АС, а также изучение уже известных генетических полиморфизмов с большей по численности выборкой больных с АС, с изучением связи с прогнозом заболевания, что будет иметь значение в отношении практического применения полученных результатов.

Литература

1. Iivanainen AM, Lindroos M, Tilvis R, et al. Natural history of aortic valve stenosis of varying severity in the elderly. *Am J Cardiol* 1996, 78(1): 97-101.
2. Stewart BF, Siscovick D, Lind BK, et al. Clinical factors associated with calcific aortic valve disease. *Cardiovascular Health Study. J Am Coll Cardiol* 1997, 29(3): 630-4.
3. Le Gal G, Bertault V, Bezon E, et al. Heterogeneous geographic distribution of patients with aortic valve stenosis: arguments for new aetiological hypothesis. *Heart* 2005, 91(2): 247-9.
4. Horne BD, Camp NJ, Muhlestein JB, et al. Evidence for a heritable component in death resulting from aortic and mitral valve diseases. *Circulation* 2004, 110(19): 3143-8.
5. Probst V, Le Scouarnec S, Legendre A, et al. Familial aggregation of calcific aortic valve stenosis in the western part of France. *Circulation* 2006, 113(6): 856-60.
6. Bella JN, Tang W, Kraja A, et al. Genome-wide linkage mapping for valve calcification susceptibility loci in hypertensive sibships: the Hypertension Genetic Epidemiology Network Study. *Hypertension* 2007, 49(3): 453-60.
7. Rajamannan NM, Subramaniam M, Rickard D, et al. Human Aortic Valve Calcification Is Associated With an Osteoblast Phenotype. *Circulation* 2003, 107(17): 2181-4.
8. Ducey P, Zhang R, Geoffroy V, et al. Osf2/Cbfa1: a transcriptional activator of osteoblast differentiation. *Cell* 1997, 89(5): 747-54.
9. Kern B, Shen J, Starbuck M, et al. Cbfa1 Contributes to the Osteoblast-specific Expression of type I collagen Genes. *J Biol Chem* 2001, 276(10): 7101-7.
10. Franceschi R, Xiao G. Regulation of the osteoblast-specific transcription factor, Runx2: responsiveness to multiple signal transduction pathways. *J Cell Biochem* 2003, 88(3): 446-54.
11. Gordon K, Blobe G. Role of transforming growth factor-beta superfamily signaling pathways in human disease. *Biochim Biophys Acta* 2008, 1782(4): 197-228.
12. Osman L, Yacoub MH, Latif N, et al. Role of Human Valve Interstitial Cells in Valve Calcification and Their Response to Atorvastatin. *Circulation* 2006, 114(1_suppl): I-547-52.
13. Walker GA, Masters KS, Shah DN, et al. Valvular Myofibroblast Activation by Transforming Growth Factor-(beta): Implications for Pathological Extracellular Matrix Remodeling in Heart Valve Disease. *Circ Res* 2004, 95(3): 253-60.
14. Chua CC, Chua BH, Chen Z, et al. TGF-beta1 inhibits multiple caspases induced by TNF-alpha in murine osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Biochim Biophys Acta* 2002, 1593(1): 1-8.
15. Chambers T. Regulation of the differentiation and function of osteoclasts. *J. pathology* 2000, 192(1): 4-13.
16. Jian B, Narula N, Li Q-y, et al. Progression of aortic valve stenosis: TGF-(beta)1 is present in calcified aortic valve cusps and promotes aortic valve interstitial cell calcification via apoptosis. *Ann Thorac Surg* 2003, 75(2): 457-65.
17. Khan R, Sheppard R. Fibrosis in heart disease: understanding the role of transforming growth factor-beta in cardiomyopathy, valvular disease and arrhythmia. *Immunology* 2006, 118(1): 10-24.
18. Clark-Greuel JN, Connolly JM, Sorichillo E, et al. Transforming growth factor-beta1 mechanisms in aortic valve calcification: increased alkaline phosphatase and related events. *The Annals of thoracic surgery* 2007, 83(3): 946-53.
19. Nordstrom P, Glader CA, Dahlen G, et al. Oestrogen receptor alpha gene polymorphism is related to aortic valve sclerosis in postmenopausal women. *J Intern Med* 2003, 254(2): 140-6.
20. Gaudreault N, Ducharme V, Lamontagne M, et al. Replication of genetic association studies in aortic stenosis in adults. *Am J Cardiol* 2011, 108(9): 1305-10.
21. Bosse Y, Miqdad A, Fournier D, et al. Refining molecular pathways leading to calcific aortic valve stenosis by studying gene expression profile of normal and calcified stenotic human aortic valves. *Circ Cardiovasc Genet* 2009, 2(5): 489-98.
22. Yang X, Meng X, Su X, et al. Bone morphogenetic protein 2 induces Runx2 and osteopontin expression in human aortic valve interstitial cells: Role of Smad1 and extracellular signal-regulated kinase 1/2. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2009, 138(4): 1008-15.
23. Hruska KA, Mathew S, Saab G. Bone Morphogenetic Proteins in Vascular Calcification. *Circ Res* 2005, 97(2): 105-14.
24. Kaden J, Bickelhaupt S, Grobholz R, et al. Expression of bone sialoprotein and bone morphogenetic protein-2 in calcific aortic stenosis. *J Heart Valve Dis* 2004, 13(4): 560-6.
25. Komiya Y, Habas R. Wnt signal transduction pathways. *Organogenesis* 2008, 4(2): 68-75.
26. Pandur P, Maurus D, Kuhl M. Increasingly complex: new players enter the Wnt signaling network. *Bioessays* 2002, 24(10): 881-4.
27. Rajamannan NM, Subramaniam M, Caira F, et al. Atorvastatin Inhibits Hypercholesterolemia-Induced Calcification in the Aortic Valves via the Lrp5 Receptor Pathway. *Circulation* 2005, 112(9_suppl): I-229-34.
28. Kaden J, Bickelhaupt S, Grobholz R, et al. Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand and osteoprotegerin regulate aortic valve calcification. *J Mol Cell Cardiol* 2004, 36(1): 57-66.
29. Engin F, Yao Z, Yang T, et al. Dimorphic effects of Notch signaling in bone homeostasis. *Nat Med* 2008, 14(3): 299-305.
30. Meier-Stiegem F, Schwanbeck R, Bernoth K, et al. Activated Notch1 target genes during embryonic cell differentiation depend on the cellular context and include lineage determinants and inhibitors. *PLoS One* 2010, 5(7): e11481.
31. Garg V, Muth AN, Ransom JF, et al. Mutations in NOTCH1 cause aortic valve disease. *Nature* 2005, 437(7056): 270-4.
32. Shimizu T, Tanaka T, Iso T, et al. Notch Signaling Induces Osteogenic Differentiation and Mineralization of Vascular Smooth Muscle Cells Role of Msx2 Gene Induction via Notch-RBP-Jk Signaling. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 2009, 29(7): 1104-11.
33. Ducharme V, Gouaque-Olarte S, Gaudreault N, et al. NOTCH1 genetic variants in patients with tricuspid calcific aortic valve stenosis. *J Heart Valve Dis* 2013, 22(2): 142-9.

34. Maher ER, Young G, Smyth-Walsh B, et al. Aortic and mitral valve calcification in patients with end-stage renal disease. *Lancet* 1987, 2(8564): 875-7.
35. McFalls EO, Archer SL. Rapid progression of aortic stenosis and secondary hyperparathyroidism. *Am Heart J* 1990, 120(1): 206-8.
36. Vattikuti R, Towler DA. Osteogenic regulation of vascular calcification: an early perspective. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004, 286(5): E686-96.
37. Lindroos M, Kupari M, Valvanne J, et al. Factors associated with calcific aortic valve degeneration in the elderly. *European heart journal* 1994, 15(7): 865-70.
38. Linhartova K, Veselka J, Sterbakova G, et al. Parathyroid hormone and vitamin D levels are independently associated with calcific aortic stenosis. *Circ J* 2008, 72(2): 245-50.
39. Ortlepp JR, Hoffmann R, Ohme F, et al. The vitamin D receptor genotype predisposes to the development of calcific aortic valve stenosis. *Heart* 2001, 85(6): 635-8.
40. Imai K, Okura H, Kume T, et al. C-Reactive protein predicts severity, progression, and prognosis of asymptomatic aortic valve stenosis. *Am Heart J* 2008, 156(4): 713-8.
41. Shavelle DM, Katz R, Takasu J, et al. Soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) and aortic valve calcification in the multi-ethnic study of atherosclerosis (MESA). *J Heart Valve Dis* 2008, 17(4): 388-95.
42. Basta G, Corciu AI, Vianello A, et al. Circulating soluble receptor for advanced glycation end-product levels are decreased in patients with calcific aortic valve stenosis. *Atherosclerosis* 2010, 210(2): 614-8.
43. Kaden JJ, Dempfle CE, Grobholz R, et al. Interleukin-1 beta promotes matrix metalloproteinase expression and cell proliferation in calcific aortic valve stenosis. *Atherosclerosis* 2003, 170(2): 205-11.
44. Csiszar A, Ungvari Z. Endothelial dysfunction and vascular inflammation in Type 2 diabetes: interaction of AGE/RAGE and TNF- α signaling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008, 295(2): H475-6.
45. Yu Z, Seya K, Daitoku K, et al. Tumor Necrosis Factor- α Accelerates the Calcification of Human Aortic Valve Interstitial Cells Obtained from Patients with Calcific Aortic Valve Stenosis via the BMP2-Dlx5 Pathway. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2011, 337(1): 16-23.
46. Warnock JN, Nanduri B, Pregonero Gamez CA, et al. Gene profiling of aortic valve interstitial cells under elevated pressure conditions: modulation of inflammatory gene networks. *International journal of inflammation* 2011, 2011.
47. Mazzone A, Epistolato MC, De Caterina R, et al. Neoangiogenesis, T-lymphocyte infiltration, and heat shock protein-60 are biological hallmarks of an immunomediated inflammatory process in end-stage calcified aortic valve stenosis. *J Am Coll Cardiol* 2004, 43(9): 1670-6.
48. Aikawa E, Aikawa M, Libby P, et al. Arterial and aortic valve calcification abolished by elastolytic cathepsin S deficiency in chronic renal disease. *Circulation* 2009, 119(13): 1785-94.
49. Attaran S, Sherwood R, Dastidar MG, et al. Identification of low circulatory transforming growth factor beta-1 in patients with degenerative heart valve disease. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2010, 11(6): 791-3.
50. Fondard O, Detaint D, lung B, et al. Extracellular matrix remodelling in human aortic valve disease: the role of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors. *European heart journal* 2005, 26(13): 1333-41.
51. Kaden JJ, Dempfle CE, Grobholz R, et al. Inflammatory regulation of extracellular matrix remodeling in calcific aortic valve stenosis. *Cardiovasc Pathol* 2005, 14(2): 80-7.
52. Jian B, Jones PL, Li Q, et al. Matrix metalloproteinase-2 is associated with tenascin-C in calcific aortic stenosis. *Am J Pathol* 2001, 159(1): 321-7.
53. Thanassoulis G, Campbell CY, Owens DS, et al. Genetic associations with valvular calcification and aortic stenosis. *N Engl J Med* 2013, 368(6): 503-12.
54. Novaro GM, Sachar R, Pearce GL, et al. Association Between Apolipoprotein E Alleles and Calcific Valvular Heart Disease. *Circulation* 2003, 108(15): 1804-8.
55. Avakian S, Annicchino-Bizzac J, Grinberg M, et al. Apolipoproteins AI, B, and E polymorphisms in severe aortic valve stenosis. *Clin Genet* 2001, 60(5): 381-4.
56. Moura LM, Faria S, Brito M, et al. Relationship of PON1 192 and 55 gene polymorphisms to calcific valvular aortic stenosis. *Am J Cardiovasc Dis* 2012, 2(2): 123-32.
57. Chalajour F, Treede H, Ebrahimnejad A, et al. Angiogenic activation of valvular endothelial cells in aortic valve stenosis. *Exp Cell Res* 2004, 298(2): 455-64.
58. Soini Y, Salo T, Satta J. Angiogenesis is involved in the pathogenesis of nonrheumatic aortic valve stenosis. *Hum Pathol* 2003, 34(8): 756-63.
59. Charest A, Pepin A, Shetty R, et al. Distribution of SPARC during neovascularisation of degenerative aortic stenosis. *Heart* 2006, 92(12): 1844-9.
60. Yoshioka M, Yuasa S, Matsumura K, et al. Chondromodulin-1 maintains cardiac valvular function by preventing angiogenesis. *Nat Med* 2006, 12(10): 1151-9.
61. Syvaranta S, Helske S, Laine M, et al. Vascular endothelial growth factor-secreting mast cells and myofibroblasts: a novel self-perpetuating angiogenic pathway in aortic valve stenosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010, 30(6): 1220-7.
62. Zhao W, Wang J, Shen J, et al. A nonsense variation p.Arg325X in the vascular endothelial growth factor-A gene may be associated with congenital tricuspid aortic valve stenosis. *Cardiol Young* 2012, 22(3): 316-22.
63. Ellis S, Dushman-Ellis S, Luke M, et al. Pilot candidate gene analysis of patients? 60 years old with aortic stenosis involving a tricuspid aortic valve. *Am J Cardiol* 2012, 110(1): 88-92.
64. Tang Y, Urs S, Boucher J, et al. Notch and Transforming Growth Factor-(beta) (TGF(beta)) Signaling Pathways Cooperatively Regulate Vascular Smooth Muscle Cell Differentiation. *J Biol Chem* 2010, 285(23): 17556-63.
65. Zamurovic N, Cappellen D, Rohner D, et al. Coordinated Activation of Notch, Wnt, and Transforming Growth Factor- β Signaling Pathways in Bone Morphogenic Protein 2-induced Osteogenesis Notch TARGET GENE Hey1 INHIBITS MINERALIZATION AND Runx2 TRANSCRIPTIONAL ACTIVITY. *Journal of Biological Chemistry* 2004, 279(36): 37704-15.
66. Chen JH, Chen WL, Sider KL, et al. Beta-catenin mediates mechanically regulated, transforming growth factor-beta1-induced myofibroblast differentiation of aortic valve interstitial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011, 31(3): 590-7.
67. de Ruijter AJ, van Gennip AH, Caron HN, et al. Histone deacetylases (HDACs): characterization of the classical HDAC family. *Biochem J* 2003, 370(Pt 3): 737-49.
68. Schroeder TM, Kahler RA, Li X, et al. Histone Deacetylase 3 Interacts with Runx2 to Repress the Osteocalcin Promoter and Regulate Osteoblast Differentiation. *Journal of Biological Chemistry* 2004, 279(40): 41998-2007.
69. Stein S, Schafer N, Breitenstein A, et al. SIRT1 reduces endothelial activation without affecting vascular function in ApoE-/- mice. *Aging (Albany NY)* 2010, 2(6): 353-60.
70. de Oca AM, Madueño JA, Martínez-Moreno JM, et al. High-phosphate-induced calcification is related to SM22 α promoter methylation in vascular smooth muscle cells. *J. Bone and Mineral Research* 2010, 25(9): 1996-2005.