

РОССИЙСКИЙ КАРДИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЖУРНАЛ

РОССИЙСКОЕ КАРДИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО

В НОМЕРЕ:

Мутация гена *DES* в семье пробанда с миофибрилярной миопатией и развитием некомпактной кардиомиопатии, приведшей к трансплантации сердца

Ассоциация однонуклеотидных полиморфизмов rs62116755 гена *GACAT3*, rs12170546 гена *PARVB*, rs16994849 гена *PLCB1*, rs78143315 гена *PDCD6IP* с внезапной сердечной смертью

Комплексный подход при оценке информативности в российской популяции генетических маркеров, ассоциированных с инфарктом миокарда и его факторами риска

Идентификация дифференциально метилированных генов, потенциально связанных с атеросклерозом у человека

Показатели липидного спектра и генетические маркеры, ассоциированные с уровнем окислительно модифицированных липопротеидов низкой плотности

Региональные аспекты связей полиморфизма гена *VEGFR2* с атеросклерозом коронарных артерий при остром коронарном синдроме

Структурная вариабельность генома лейкоцитов и клеток артерий при атеросклерозе у человека

В ФОКУСЕ:

Кардиогенетика

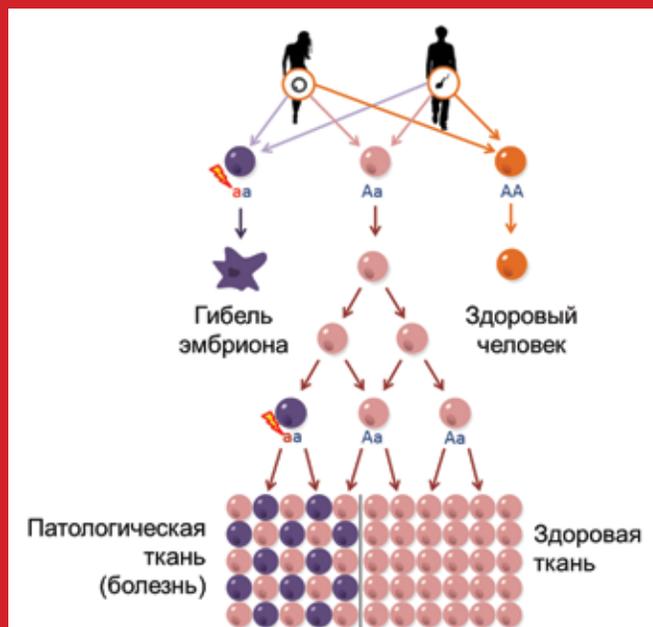


Рис. 1. Схематическое представление гипотезы "парадоминантного наследования". Аллель "A" — норма; аллель "a" — мутация. См. на стр. 141.



РОССИЙСКОЕ
КАРДИОЛОГИЧЕСКОЕ
ОБЩЕСТВО

VI МЕЖДУНАРОДНЫЙ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЙ ФОРУМ «РОССИЙСКИЕ ДНИ СЕРДЦА»

САНКТ-ПЕТЕРБУРГ, УЛ. АККУРАТОВА, Д. 2
ФГБУ «НМИЦ ИМ. В. А. АЛМАЗОВА» МИНЗДРАВА РОССИИ

19–21 АПРЕЛЯ 2018 ГОДА

www.scardio.ru



РОССИЙСКОЕ
КАРДИОЛОГИЧЕСКОЕ
ОБЩЕСТВО

Научно-практический рецензируемый медицинский журнал

Зарегистрирован Комитетом РФ по печати
06.04.1998 г. Регистрационный № 017388

Периодичность: 12 номеров в год
Установочный тираж — 7 000 экз.

Журнал включен в **Перечень ведущих научных
журналов и изданий ВАК**

Журнал включен в **Scopus, WoS, EBSCO**

Российский индекс научного цитирования:
SCIENCE INDEX (2015) 3,803
импакт-фактор (2015) 1,303

Полнотекстовые версии всех номеров размещены
на сайте Научной Электронной Библиотеки:
www.elibrary.ru

Архив номеров: www.rosocardio.ru, cardio.medi.ru/66.htm

Правила публикации авторских материалов:
www.rosocardio.ru/ru/information-for-authors-rjc.html

Прием статей в журнал:
www.russjcardiol.elpub.ru

Информация о подписке:
www.rosocardio.ru/ru/subscription.html

**Перепечатка статей возможна только
с письменного разрешения издательства**

**Ответственность за достоверность рекламных
публикаций несет рекламодатель**

Отдел рекламы Арина Барлова
Менеджер по работе с партнерами
Российского кардиологического общества
Тел.: 8 (812) 702-37-49 доб. 005379
e-mail: partners@scardio.ru

Отдел распространения Гусева А. Е.
тел.: +7 (499) 324-22-34,
e-mail: guseva.silicea@yandex.ru

Ответственный переводчик Таратухин Е. О.

Дизайн, верстка Андреева В. Ю.

Отпечатано: типография "OneBook",
ООО "Сам Полиграфист",
129090, Москва, Протопоповский пер., 6.
www.onebook.ru

© Российский кардиологический журнал

РОССИЙСКИЙ КАРДИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

№ 10 (150) 2017

издается с 1996 г.

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Алекян Б. Г. (Москва)
Атьков О. Ю. (Москва)
Беленков Ю. Н. (Москва)
Бойцов С. А. (Москва)
Васюк Ю. А. (Москва)
Воевода М. И. (Новосибирск)
Галаявич А. С. (Казань)
Карпов Р. С. (Томск)
Карпов Ю. А. (Москва)
Козиолова Н. А. (Пермь)
Конради А. О. (Санкт-Петербург)
Крюков Н. Н. (Самара)

**ОТВЕТСТВЕННЫЕ РЕДАКТОРЫ
НОМЕРА**

НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

ШЕФ-РЕДАКТОР

ВЫПУСКАЮЩИЙ РЕДАКТОР

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Абдуллаев А. А. (Махачкала)
Арутюнов Г. П. (Москва)
Габинский Я. Л. (Екатеринбург)
Гафаров В. В. (Новосибирск)
Говорин А. В. (Чита)
Дземешкевич С. Л. (Москва)
Довгалевский П. Я. (Саратов)
Дупляков Д. В. (Самара)
Караськов А. М. (Новосибирск)
Колпаков Е. В. (Москва)
Концевая А. В. (Москва)
Лебедев Д. С. (Санкт-Петербург)

МЕЖДУНАРОДНЫЙ РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Карлен Адамян (Армения)
Стефан Анкер (Германия)
Салим Беркинбаев (Казахстан)
Владимир Габинский (США)
Рихард Чешка (Чешская республика)
Роберто Феррари (Италия)
Жан Шарль Фрушар (Франция)
Владимир Коваленко (Украина)
Равшанбек Курбанов (Узбекистан)

Адрес Редакции:

115478, Москва, а/я 509
e-mail: cardiojournal@yandex.ru

Шляхто Е. В. (Санкт-Петербург)

Лопатин Ю. М. (Волгоград)
Мареев В. Ю. (Москва)
Недошивин А. О. (Санкт-Петербург)
Оганов Р. Г. (Москва)
Ревизивили А. Ш. (Москва)
Скибицкий В. В. (Краснодар)
Таратухин Е. О. (Москва)
Чазова И. Е. (Москва)
Чумакова Г. А. (Барнаул)
Шальнова С. А. (Москва)
Якушин С. С. (Рязань)

Мешков А. Н. (Москва)
Пузырев В. П. (Томск)

Морозова Е. Ю.

Таратухин Е. О.

Родионова Ю. В.

Рыжова Е. В.

Либис Р. А. (Оренбург)
Недогода С. В. (Волгоград)
Недбайкин А. М. (Брянск)
Олейников В. Э. (Пенза)
Палеев Ф. Н. (Москва)
Покровский С. Н. (Москва)
Периуков И. В. (Воронеж)
Протасов К. В. (Иркутск)
Тюрин Т. В. (Ленинградская область)
Хлудеева Е. А. (Владивосток)
Шульман В. А. (Красноярск)
Щекотов В. В. (Пермь)

Стивен Ленц (США)

Жильбер Массад (Франция)

Маркку Ниеминен (Финляндия)

Питер Нильсон (Швеция)

Джанфранко Парати (Италия)

Михаил Поповичи (Молдова)

Адам Торбицки (Польша)

Ярле Вааге (Норвегия)

Маргус Вишимаа (Эстония)

Издательство:

ООО "Силицея-Полиграф"
e-mail: cardio.nauka@yandex.ru



РОССИЙСКОЕ
КАРДИОЛОГИЧЕСКОЕ
ОБЩЕСТВО

Scientific peer-reviewed medical journal

Mass media registration certificate № 017388
dated 06.04.1998

Periodicity — 12 issues per year
Circulation — 7 000 copies

The Journal is in the List of the leading scientific journals and publications of the Supreme Examination Board (VAK)

The Journal is included in Scopus, WoS, EBSCO

Russian Citation Index:
SCIENCE INDEX (2015) 3,803
Impact-factor (2015) 1,303

Complete versions of all issues are published:
www.elibrary.ru

Instructions for authors:
www.rosocardio.ru/ru/information-for-authors-rjc.html

Submit a manuscript:
www.russjcardiol.epub.ru

Subscription: www.rosocardio.ru/ru/subscription.html

For information on how to request permissions to reproduce articles/information from this journal, please contact with publisher

The mention of trade names, commercial products or organizations, and the inclusion of advertisements in the journal do not imply endorsement by editors, editorial board or publisher

Advertising department Arina Barlova
Tel.: 8 (812) 702-37-49 доб. 005379
e-mail: partners@scardio.ru

Distribution department Guseva Anna
tel.: +7 (499) 324-22-34,
e-mail: guseva.silicea@yandex.ru

Senior translator Taratukhin E. O.

Design, desktop publishing Andreeva V. Yu.

Printed: OneBook, Sam Poligraphist, Ltd.
129090, Moscow, Protopopovskiy per., 6.
www.onebook.ru

© Russian Journal of Cardiology

RUSSIAN JOURNAL OF CARDIOLOGY

№ 10 (150) 2017

founded in 1996

EDITOR-IN-CHIEF

ASSOCIATE EDITORS

Alekyan B. G. (Moscow)
At'kov O. Yu. (Moscow)
Belenkov Yu. N. (Moscow)
Boytsov S. A. (Moscow)
Vasyuk Yu. A. (Moscow)
Vojevoda M. I. (Novosibirsk)
Galjavich A. S. (Kazan)
Karpov R. S. (Tomsk)
Karpov Yu. A. (Moscow)
Koziova N. A. (Perm)
Konradi A. O. (St-Petersburg)
Kryukov N. N. (Samara)

EXECUTIVE EDITORS OF THE ISSUE

SENIOR EDITOR

EXECUTIVE SECRETARY

MANAGING EDITORS

ADVISORY BOARD

Abdullajev A. A. (Makhachkala)
Arutyunov G. P. (Moscow)
Gabinskiy Ja. L. (Ekaterinburg)
Gafarov V. V. (Novosibirsk)
Govorin A. V. (Chita)
Dzemeshevich S. L. (Moscow)
Dovgalevskiy P. Ja. (Moscow)
Dupljakov D. V. (Samara)
Karaskov A. M. (Novosibirsk)
Kolpakov E. V. (Moscow)
Kontsevaya A. V. (Moscow)
Lebedev D. S. (St-Petersburg)

INTERNATIONAL ADVISORY BOARD

Karlen Adamjan (Armenia)
Stefan Anker (Germany)
Salim Berkinbajev (Kazakhstan)
Vladimir Gabinskiy (USA)
Richard Ceska (Czech Republic)
Roberto Ferrari (Italy)
Jean Charles Fruchart (France)
Vladimir Kovalenko (Ukraine)
Ravshanbek Kurbanov (Uzbekistan)

Editorial office:

115478, Moscow, a/ja 509
e-mail: cardiojournal@yandex.ru

Shlyakhto E. V. (St-Petersburg)

Lopatin Yu. M. (Volograd)
Mareev V. Yu. (Moscow)
Nedoshivin A. O. (St-Petersburg)
Oganov R. G. (Moscow)
Revishvili A. Sh. (Moscow)
Skibitsky V. V. (Krasnodar)
Taratukhin E. O. (Moscow)
Chazova I. E. (Moscow)
Chumakova G. A. (Barnaul)
Shalnova S. A. (Moscow)
Jakushin S. S. (Ryazan)

Meshkov A. N. (Moscow)
Puzryev V. P. (Tomsk)

Morozova E. Yu.

Taratukhin E. O.

Rodionova Yu. V.

Ryzhova E. V.

Libis R. A. (Orenburg)
Nedogoda S. V. (Volograd)
Nedbaikin A. M. (Brjansk)
Oleynikov V. E. (Penza)
Paleev F. N. (Moscow)
Pokrovskiy S. N. (Moscow)
Pershukov I. V. (Voronezh)
Protasov K. V. (Irkutsk)
Tyurina T. V. (Leningradskaya oblast)
Khludeeva E. A. (Vladivostok)
Shulman V. A. (Krasnoyarsk)
Schekotov V. V. (Perm)

Steven Lentz (USA)
Gilbert Massard (France)
Markku Nieminen (Finland)
Peter Nilsson (Sweden)
Gianfranco Parati (Italy)
Mihail Popovici (Moldova)
Adam Torbicki (Poland)
Jarle Vaage (Norway)
Margus Viigimaa (Estonia)

Publisher:

Silicea-Poligraf
e-mail: cardio.nauka@yandex.ru

ПОСТОЯННЫЙ КОНТРОЛЬ ДАВЛЕНИЯ¹ –



СТАБИЛЬНОСТЬ² ЖИЗНИ ПАЦИЕНТА!³⁻⁵

- Контролирует АД в течение 24 часов¹
Снижает АД в ранние утренние часы и ночью⁶
- Снижает частоту
сердечно-сосудистых осложнений^{3-5, 7}
Уменьшает сердечно-сосудистую смертность,
риск инфарктов и инсультов^{3-5, 7}



Краткая инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Телзап®

Регистрационный номер: ЛП-003545, дата последнего изменения инструкции – 5.10.2016. **Международное непатентованное название:** телмисартан. **Лекарственная форма:** таблетки. **Фармакотерапевтическая группа:** ангиотензина II рецепторов антагонист. **Код АТХ:** C09CA07. **Показания к применению:** эссенциальная гипертензия; снижение смертности и частоты сердечно-сосудистых заболеваний у взрослых пациентов: с сердечно-сосудистыми заболеваниями атеротромботического генеза (ишемическая болезнь сердца, инсульт или поражение периферических артерий в анамнезе), с сахарным диабетом 2 типа с поражением органов-мишеней. **Противопоказания:** повышенная чувствительность к активному веществу или любым вспомогательным веществам препарата; беременность и период грудного вскармливания; обструктивные заболевания желчевыводящих путей; тяжелые нарушения функции печени (класс C по классификации Чайлд-Пью); совместное применение с алискиремом у пациентов с сахарным диабетом или тяжелым нарушением функции почек (СКФ менее 60 мл/мин/1,73 м² площади поверхности тела); наследственная непереносимость фруктозы; одновременное применение с ингибиторами АПФ у пациентов с диабетической нефропатией; возраст до 18 лет. **С осторожностью:** двусторонний стеноз почечных артерий или стеноз артерии единственной функционирующей почки; нарушение функции почек; легкие и умеренные нарушения функции печени; снижение ОЦК на фоне предшествующего приема диуретиков, ограничения потребления поваренной соли, диареи или рвоты; гипонатриемия; гиперкалемия; состояние после трансплантации почки; тяжелая хроническая сердечная недостаточность; стеноз аортального и митрального клапана; гипертрофическая обструктивная кардиомиопатия; первичный гиперальдостеронизм, применение у пациентов негроидной расы. **Способ применения и дозы:** внутрь, один раз в сутки, заливая жидкостью, вне зависимости от приема пищи. Артериальная гипертензия. начальная доза препарата составляет 40 мг один раз в сутки. В случаях, когда терапевтический эффект не достигается, доза препарата может быть увеличена до максимальной – 80 мг один раз в сутки. Снижение смертности и частоты сердечно-сосудистых заболеваний: рекомендованная доза – 80 мг 1 раз в сутки. В начальный период лечения рекомендуется наблюдение за уровнем АД, может потребоваться коррекция гипотензивной терапии. У пациентов с тяжелой почечной недостаточностью или находящихся на гемодиализе рекомендована более низкая начальная доза – 20 мг в сутки. У пациентов с легкой и умеренной степенью печеночной недостаточности препарат назначается с осторожностью, доза не должна превышать 40 мг один раз в сутки. **Побочное действие** (см. полную инструкцию по применению, приведены частые, очень частые и способные причинить серьезный ущерб здоровью побочные эффекты): выраженное снижение АД, ортостатическая гипотензия, спепсис, анемия, тромбоцитопения, ангионевротический отек, нарушение функции почек, включая острую почечную недостаточность. Для ознакомления с побочными эффектами, возникающими нечасто, редко и очень редко, ознакомьтесь с официальной инструкцией по медицинскому применению лекарственного препарата. **Формы выпуска:** таблетки 40 и 80 мг. **Срок годности:** 2 года. Не использовать по истечении срока годности, указанного на упаковке. **Условия отпуска из аптек:** по рецепту.

1. Nalbantgil I. et al. The efficacy of telmisartan compared with perindopril in patients with mild-to-moderate hypertension. Int J Clin Pract, 2004 Dec; 58 (Suppl.145): 50-54. 2. Под стабильностью жизни подразумевается снижение смертности и частоты сердечно-сосудистых заболеваний у взрослых пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями атеротромботического генеза (ишемическая болезнь сердца, инсульт или поражение периферических артерий в анамнезе) и сахарным диабетом II типа с поражением органов-мишеней. 3. Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения Телзап®, ЛП-003545, 05.10.2016. 4. ONTARGET Investigators. N. Engl. J. Med. 2008; 358: 1547–1549. 5. TRANSCEND Investigators. Lancet. 2008; 372 (9644): 1174–1183. 6. Williams B, et al. J. Hum. Hypertens. 2009; 23 (9): 610–619. 7. У взрослых пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями атеротромботического генеза (ишемическая болезнь сердца, инсульт или поражение периферических артерий в анамнезе) и сахарным диабетом II типа с поражением органов-мишеней.

Информация предназначена для специалистов здравоохранения. Ознакомьтесь с полной инструкцией по применению препарата

Представительство АО «Санофи-авентис груп» (Франция)
125009, Москва, ул. Тверская, 22. Тел.: (495) 721-14-00, факс: (495) 721-14-11. www.sanofi.ru
SARU.GTELMIZ.17.08.1187

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

Обращение к читателям	7	Address to the readers
НОВОСТИ КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ		CLINICAL MEDICINE NEWS
Обзор зарубежных новостей клинической медицины	8	Clinical medicine updates: a review of international news
ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ		ORIGINAL ARTICLES
Мясников Р. П., Щербакова Н. В., Куликова О. В., Мешков А. Н., Харлап М. С., Киселева А. В., Жарикова А. А., Дадали Е. Л., Семенова Н. А., Корецкий С. Н., Благова О. В., Мершина Е. А., Синицын В. Е., Драпкина О. М., Бойцов С. А. Мутация гена <i>DES</i> в семье пробанда с миофибриллярной миопатией и развитием некомпактной кардиомиопатии, приведшей к трансплантации сердца	9	<i>Myasnikov R. P., Shcherbakova N. V., Kulikova O. V., Meshkov A. N., Kharlap M. S., Kiseleva A. V., Zharikova A. A., Dadali E. L., Semenova N. A., Koretsky S. N., Blagova O. V., Mershina E. A., Sinityn V. E., Drapkina O. M., Boytsov S. A.</i> <i>DES</i> gene mutation in a family of proband with myofibrillary myopathy and non-compaction cardiomyopathy, resulted in cardiac transplantation
Бернс С. А., Шмидт Е. А., Макеева О. А., Гончарова И. А., Салахов Р. Р., Нагирняк О. А., Барбараш О. Л. Роль переменных сайтов g-1082a и c-592a гена <i>IL10</i> в развитии неблагоприятных исходов в течение года наблюдения у больных острым коронарным синдромом без подъема сегмента ST	17	<i>Berns S. A., Shmidt E. A., Makeeva O. A., Goncharova I. A., Salakhov R. R., Nagirniak O. A., Barbarash O. L.</i> Role of the variable sites g-1082a and c-592a of gene <i>IL10</i> in development of one year adverse outcomes of ST elevation acute coronary syndrome
Иванова А. А., Максимов В. Н., Малютина С. К., Новоселов В. П., Савченко С. В., Воевода М. И. Ассоциация однонуклеотидных полиморфизмов rs62116755 гена <i>GACAT3</i> , rs12170546 гена <i>PARVB</i> , rs16994849 гена <i>PLCB1</i> , rs78143315 гена <i>PDCD6IP</i> с внезапной сердечной смертью	23	<i>Ivanova A. A., Maksimov V. N., Malyutina S. K., Novoselov V. P., Savchenko S. V., Voevoda M. I.</i> Association of the mononucleotide polymorphisms rs62116755 of gene <i>GACAT3</i> , rs12170546 of gene <i>PARVB</i> , rs16994849 of gene <i>PLCB1</i> , rs78143315 of gene <i>PDCD6IP</i> with sudden cardiac death
Муслимова Э. Ф., Реброва Т. Ю., Афанасьев С. А., Сергиенко Т. Н., Репин А. Н. Генотип -786СС гена эндотелиальной NO-синтазы <i>NOS3</i> как фактор неблагоприятного течения ишемической болезни сердца и риска повышенной агрегации тромбоцитов на фоне приема антиагрегантов	29	<i>Muslimova E. F., Rebrova T. Yu., Afanasiev S. A., Sergienko T. N., Repin A. N.</i> Genotype -786cc of the endothelial nitric oxide synthase gene <i>NOS3</i> as a factor of adverse coronary heart disease course and increased on-treatment platelet aggregation
Максимов В. Н., Орлов П. С., Иванова А. А., Ложкина Н. Г., Куимов А. Д., Савченко С. В., Новоселов В. П., Воевода М. И., Малютина С. К. Комплексный подход при оценке информативности в российской популяции генетических маркеров, ассоциированных с инфарктом миокарда и его факторами риска	33	<i>Maksimov V. N., Orlov P. S., Ivanova A. A., Lozhkina N. G., Kuimov A. D., Savchenko S. V., Novoselov V. P., Voevoda M. I., Malyutina S. K.</i> Complex evaluation of the significance of populational genetic markers associated with myocardial infarction and risk factors
Назаренко М. С., Марков А. В., Королева Ю. А., Слепцов А. А., Казанцев А. Н., Барбараш О. Л., Пузырев В. П. Идентификация дифференциально метилированных генов, потенциально связанных с атеросклерозом у человека	42	<i>Nazarenko M. S., Markov A. V., Koroleva Yu. A., Sleptsov A. A., Kazantsev A. N., Barbarash O. L., Puzirev V. P.</i> Identification of differently methylated genes potentially related to human atherosclerosis
Хлебус Э. Ю., Мешков А. Н., Ланкин В. З., Орловский А. А., Киселева А. В., Щербакова Н. В., Жарикова А. А., Ершова А. И., Тихазе А. К., Яровая Е. Б., Чазова И. Е., Бойцов С. А. Показатели липидного спектра и генетические маркеры, ассоциированные с уровнем окислительно модифицированных липопротеидов низкой плотности	49	<i>Khlebus E. Yu., Meshkov A. N., Lankin V. Z., Orlovsky A. A., Kiseleva A. V., Shcherbakova N. V., Zharikova A. A., Ershova A. I., Tikhaze A. K., Yarovaya E. B., Chazova I. E., Boytsov S. A.</i> Lipid profile and genetic markers associated with the level of oxidized low density lipoproteides
Киселева А. В., Климушина М. В., Тюпаева С. А., Елисеева Н. А., Сметнев С. А., Деев А. Д., Бритов А. Н., Мешков А. Н., Драпкина О. М. Вклад генетических маркеров и производственных факторов в развитие артериальной гипертонии у мужчин в организованной когорте работников машиностроительного завода	55	<i>Kiseleva A. V., Klimushina M. V., Tyupaeva S. A., Eliseeva N. A., Smetnev S. A., Deev A. D., Britov A. N., Meshkov A. N., Drapkina O. M.</i> Contribution of genetic markers and production factors in the development of arterial hypertension in men in an organized workers cohort of machine-building plant

УВЕРЕННЫЙ ПУТЬ К ЦЕЛЕВОМУ ПРОФИЛЮ ЛИПИДОВ¹⁻³

Розукард® 20 мг

Розувастатин

таблетки, покрытые пленочной оболочкой

липидснижающее средство ГМГ-КоА-редуктазы ингибитор

90 таблеток

ZENTIVA
КРУПНАЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОМПАНИЯ

ЛП-001704

КРАТКАЯ ИНСТРУКЦИЯ ПО МЕДИЦИНСКОМУ ПРИМЕНЕНИЮ ПРЕПАРАТА РОЗУКАРД®

Регистрационный номер: ЛП-001704, дата последнего изменения инструкции – 10.07.2017. Международное непатентованное название: розувастатин. Лекарственная форма: таблетки, покрытые пленочной оболочкой. Фармакотерапевтическая группа: гиполипидемическое средство ГМГ-КоА-редуктазы ингибитор. Код АТХ: С10АА07. Показания к применению: первичная гиперхолестеринемия по классификации Фредриксона (тип IIa, включая смешанную гиперлипидемическую гиперхолестеринемию) или смешанная гиперхолестеринемия (типа IV) в качестве дополнения к диете, когда диета и другие немедикаментозные методы лечения (например, физические упражнения, снижение массы тела) оказываются недостаточными; семейная гиперхолестеринемия в качестве дополнения к диете и другой липидснижающей терапии (например, ЛПНП-аферез) или в случаях, когда подобная терапия недостаточно эффективна; гипертриглицеридемия (тип IV по классификации Фредриксона) в качестве дополнения к диете; для замедления прогрессирования атеросклероза в качестве дополнения к диете у пациентов, которым показала терапия для снижения концентрации общего ХС и ХС-ЛПНП, первичная профилактика основных сердечно-сосудистых осложнений (ССО) (инсульта, инфаркта, артериальной реваскуляризации) у взрослых пациентов без клинических признаков ишемической болезни сердца (ИБС), но с повышенным риском ее развития (возраст старше 50 лет для мужчин и старше 60 лет для женщин, повышенная концентрация С-реактивного белка (2 мг/л) при наличии как минимум одного из дополнительных факторов риска, таких как артериальная гипертензия, низкая концентрация ХС-ЛПВП, курение, семейный анамнез раннего начала ИБС). Противопоказания: для таблеток 10 и 20 мг: повышенная чувствительность к розувастатину или другим компонентам препарата; заболевания печени в активной фазе или устойчивое повышение сывороточной активности «печеночных» трансаминаз любого генеза; почечная недостаточность (7–9 баллов по шкале Чайлд-Пью); повышение концентрации креатинфосфокиназы (КФК) в крови более чем в 5 раз по сравнению с верхней границей нормы; непереносимость лактозы, дефицит лактазы или глюкозо-галактозная мальабсорбция; выраженные нарушения функции почек (КК менее 30 мл/мин); миопатия; пациенты, предрасположенные к развитию миотоксических осложнений; одновременный прием циклоспорина; одновременное применение с ингибиторами ВИЧ-протеазы; женщины репродуктивного возраста, не пользующиеся адекватными методами контрацепции; беременность и период лактации; возраст до 18 лет. Для таблеток 40 мг (дополнительно): наличие следующих факторов риска развития миопатии/рабдомиолиза: миотоксичность на фоне приема других ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы или фибратов в анамнезе; гипотиреоз; почечная недостаточность средней степени тяжести (КК 30–60 мл/мин); чрезмерное употребление алкоголя; состояния, которые могут приводить к повышению плазменной концентрации розувастатина; одновременный прием фибратов; пациенты монголоидной расы; семейный анамнез мышечных заболеваний. С осторожностью: для дозировки 10 и 20 мг при заболеваниях печени в анамнезе; сепсисе; артериальной гипотензии; обширных хирургических вмешательствах; травмах; тяжелых метаболических, эндокринных или электролитных нарушениях; неконтролируемых судорогах; при легкой и средней степени почечной недостаточности; гипотиреозе; анамнезе мышечной токсичности; при применении других ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы или фибратов; наследственных мышечных заболеваниях в анамнезе; возрасте старше 65 лет; состояниях, при которых отмечено повышение концентрации розувастатина в плазме крови; монголоидная раса; при одновременном назначении с фибратами; при чрезмерном употреблении алкоголя. Для дозировки 40 мг: при почечной недостаточности средней степени тяжести (КК более 60 мл/мин); возрасте старше 65 лет; заболеваниях печени в анамнезе; сепсисе; артериальной гипотензии; обширных хирургических вмешательствах; травмах; тяжелых метаболических, эндокринных или электролитных нарушениях; неконтролируемых судорогах. Способ применения и дозы: внутрь, проглатывать целиком, заливая водой, независимо от приема пищи. Дозу подбирают индивидуально. При необходимости приема препарата в дозе 5 мг следует разделить таблетку 10 мг на две части по риску. Рекомендуемая начальная доза – 5 или 10 мг 1 раз в сутки в зависимости от содержания ХС у пациента, риска развития сердечно-сосудистых осложнений и потенциального риска развития побочных эффектов. Через 4 недели доза препарата может быть увеличена. Титрование до максимальной дозы 40 мг следует проводить только у пациентов с тяжелой формой гиперхолестеринемии и высоким риском ССО, у которых при приеме дозы в 20 мг не был достигнут целевой уровень ХС и который будет находиться под врачебным наблюдением. Побочное действие (см. полную инструкцию по применению, приведены частые, часто, иногда и способные причинить серьезный ущерб здоровью побочные эффекты): головная боль, головокружение, тошнота, запор, боль в животе, миалгия, рабдомиолиз, протинурия, астенический синдром, ангионевротический отек, повышение концентрации глюкозы, билирубина, активности щелочной фосфатазы, гамма-глутамилтрансферазы. Форма выпуска: таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 10, 20, 40 мг. С ПОДРОБНОЙ ИНФОРМАЦИЕЙ ОЗНАКОМЬТЕСЬ В ОФИЦИАЛЬНОЙ ИНСТРУКЦИИ ПО МЕДИЦИНСКОМУ ПРИМЕНЕНИЮ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА*. ИНФОРМАЦИЯ ПРЕДНАЗНАЧЕНА ДЛЯ СПЕЦИАЛИСТОВ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ.

1. Под «Уверенный путь» имеется в виду достижение целевого уровня холестерина и холестерина липопротеинов низкой плотности [Jones P. et al. Am J Cardiol. 2002; 92: 158–160]. 2. Под целевым профилем липидов подразумеваются рекомендованные значения уровней липидов в зависимости от уровня сердечно-сосудистого риска в соответствии с Европейскими рекомендациями по лечению дислипидемий [Catapano A. et al. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias Eur Heart J. 2016; 37(39): 2999–3058]. 3. Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения Розукард®, ЛП-001704, 10.07.2017.

Представительство АО «Санofi-авентис груп» (Франция)
125009, г. Москва, ул. Тверская, д. 22. Тел.: (495) 721-14-00, факс: (495) 721-14-11, www.sanofi.ru
SARU.GRSVZ.17.06.0804a(1). Реклама.

SANOFI

<p>Николаев К. Ю., Урванцева И. А., Батуева К. Ю., Апарцин К. А., Горохова А. В., Ганюков В. И., Кочергин Н. А., Зеленская Е. М., Лифшиц Г. И. Региональные аспекты связей полиморфизма гена VEGFR2 с атеросклерозом коронарных артерий при остром коронарном синдроме</p>	<p>61 Nikolaev K. Yu., Urvantseva I. A., Batueva K. Yu., Apartsin K. A., Gorokhova A. V., Ganyukov V. I., Kochergin N. A., Zelenskaya E. M., Lifshits G. I. Regional aspects of the gene polymorphism VEGFR2 with coronary atherosclerosis in acute coronary syndrome</p>
<p>Романова А. Н., Воевода М. И., Максимов В. Н. Генетические маркеры метаболического синдрома и коронарного атеросклероза у жителей Якутии</p>	<p>66 Romanova A. N., Voevoda M. I., Maksimov V. N. Genetic markers of metabolic syndrome and coronary atherosclerosis in Yakutia inhabitants</p>
<p>Саидов М. З., Маммаев С. Н., Абдуллаев А. А., Арапханова Т. Б., Израйлова Г. Р. Анализ полиморфизмов генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и связь с вазопрессорами при эссенциальной артериальной гипертензии с гипертрофией левого желудочка в дагестанской популяции</p>	<p>76 Saidov M. Z., Mammaev S. N., Abdullaev A. A., Arapkhanova T. B., Israilova G. R. Analysis of polymorphisms of renin-angiotensin-aldosterone system and relation to vasopressors in essential systemic hypertension with the left ventricle hypertrophy in dagestan republic</p>
<p>Мулерова Т. А., Понасенко А. В., Цепочкина А. В., Кузьмина А. А., Огарков М. Ю. Ассоциации полиморфизма гена ангиотензиногена (AGT, rs699) с артериальной гипертензией и ее факторами риска у жителей горной шории</p>	<p>85 Mulerova T. A., Ponasenko A. V., Tsepokina A. V., Kuzmina A. A., Ogarkov M. Yu. Associations of the angiotensin gene polymorphism (AGT, rs699) with systemic hypertension and its risk factors in gornaya shoria inhabitants</p>
<p>Вайханская Т. Г., Сивицкая Л. Н., Даниленко Н. Г., Сидоренко И. В., Давыденко О. Г. Болезнь данона: редко выявляемое системное заболевание с LAMP2-кардиомиопатией</p>	<p>93 Vaykhanskaya T. G., Sivitskaya L. N., Danilenko N. G., Sidorenko I. V., Davydenko O. G. Danon disease: a rare systemic disorder with the LAMP2-cardiomyopathy</p>
<p>Фомичева Е. И., Мясников Р. П., Селивёрстов Ю. А., Дадали Е. Л., Коталевская Ю. Ю., Харлап М. С., Корецкий С. Н., Нужный Е. П., Мершина Е. А., Синицын В. Е., Вернохаева А. Н., Базаева Е. В., Драпкина О. М., Бойцов С. А. Кардиомиопатия при атаксии Фридрейха: клинические проявления и диагностика осложнений</p>	<p>100 Fomicheva E. I., Myasnikov R. P., Selivyorstov Yu. A., Dadali E. L., Kotalevskaya Yu. Yu., Kharlap M. S., Koretsky S. N., Nuzhny E. P., Mershina E. A., Sinitsyn V. E., Vernokhaeva A. N., Bazaeva E. V., Drapkina O. M., Boytsov S. A. Cardiomyopathy in the Friedreich ataxia: clinical presentation and diagnostics of complications</p>
<p>Щеглова Е. В., Лайпанова А. И., Байкулова М. К., Чотчаева З. К., Рогова С. Ш., Колесников В. Н., Боева О. И. Генотипы и сывороточные уровни аполипопротеина Е и параоксоназы 1 при кальцинированном стенозе клапана аорты</p>	<p>107 Shcheglova E. V., Laipanova A. I., Baikulova M. K., Chotchayeva Z. K., Rogova S. Sh., Kolesnikov V. N., Boeva O. I. Genotypes and serum levels of apolipoprotein E and paraoxonase 1 in calcific aortic valve stenosis</p>
<p>КЛИНИКА И ФАРМАКОТЕРАПИЯ CLINIC AND PHARMACOTHERAPY</p>	
<p>Зеленская Е. М., Барбараш О. Л., Ганюков В. И., Кочергин Н. А., Апарцин К. А., Горохова А. В., Папешина С. А., Николаев К. Ю., Батуева К. Ю., Янковская С. В., Тронин А. В., Лифшиц Г. И. Протокол: влияние сочетанного носительства CYP2C19*2 и *17 на эффективность лечения клопидогрелом</p>	<p>113 Zelenskaya E. M., Barbarash O. L., Ganyukov V. I., Kochergin N. A., Apartsin K. A., Gorokhova A. V., Papeshina S. A., Nikolaev K. Yu., Batueva K. Yu., Yankovskaya S. V., Tronin A. V., Lifshits G. I. The protocol: influence of the combination carriage CYP2C19*2 and *17 on efficacy of clopidogrel</p>
<p>Потешкина Н. Г., Крылова Н. С., Сванадзе А. М., Трошина А. А. Гемодинамическая стабильность пациента с артериальной гипертензией: новые возможности трехкомпонентной терапии</p>	<p>118 Poteshkina N. G., Krylova N. S., Svanadze A. M., Troshina A. A. Hemodynamic stability of hypertension patient: triple therapy opportunities</p>
<p>Баранова Е. И., Филатова А. Г., Ионин В. А. Как снизить риск желудочно-кишечных кровотечений на фоне терапии антикоагулянтами у больных с неклапанной фибрилляцией предсердий?</p>	<p>124 Baranova E. I., Filatova A. G., Ionin V. A. How to reduce gastrointestinal bleeding risk on anticoagulation therapy in non-valvular atrial fibrillation?</p>
<p>ЛЕКЦИЯ LECTURE</p>	
<p>Маркель А. Л. Гипертоническая болезнь: генетика, клиника, эксперимент</p>	<p>133 Markel A. L. Essential systemic hypertension: genetics, clinics, experiment</p>
<p>ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ LITERATURE REVIEW</p>	
<p>Слепцов А. А., Назаренко М. С., Пузырев В. П. Структурная вариабельность генома лейкоцитов и клеток артерий при атеросклерозе у человека</p>	<p>140 Sleptsov A. A., Nazarenko M. S., Puzyrev V. P. Structural variability of leucocyte genome and arterial cells in human atherosclerosis</p>
<p>ЮБИЛЕИ JUBILEE</p>	

Уважаемые коллеги!

В настоящем номере журнала вашему вниманию предложены статьи, посвященные проблемам генетики сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), многофакторным по своей природе. Другая особенность номера — в нем добрая половина статей сибирских кардиологов и генетиков.

Обзорная лекция по генетике гипертонической болезни (ГБ) напоминает нам о том, что многие болезни человека в своем становлении имеют эволюционную историю, эволюцию генома, реагирующего на постоянно меняющиеся условия обитания. Эволюционная медицина активно развиваемое направление в патогенетике ССЗ.

Современные мировые системы здравоохранения сейчас “болеют” персонифицированной медициной и в нашем номере журнала у вас есть возможность оценить работы по прогнозу эффективности антиагрегантов (клопидогрел, ацетилсалициловая кислота) у пациентов с различными формами проявлений атеросклероза, носителями некоторых вариантов генов *NOS3* и *CYP2C19*.

До сих пор оценки информативности генетических маркеров, ассоциированных с ССЗ для Российских популяций, нуждаются в уточнении. В связи с этим, представляют интерес исследования, выполненные на основе проекта НАРПЕЕ в отношении инфаркта миокарда (новосибирская выборка), сопоставления

Академик РАН,
Заслуженный деятель науки РФ,
Пузырев Валерий Павлович

Уважаемые коллеги!

Развитие кардиологии в XXI веке, по-видимому, невозможно без использования индивидуальных данных о генетике пациента. Секвенирование первого генома человека и последовавшее за ним стремительное развитие технологий, вызвавших существенное снижение стоимости генетического анализа и ускорение сроков его проведения, сделали возможным широкое внедрение методов генетической диагностики в научных исследованиях и в практической медицине. Примером этого могут служить работы, представленные в 10 номере журнала. В нём Вы можете найти обзорные и оригинальные статьи, посвящённые генетике комплексных заболеваний: атеросклерозу и гипертонической болезни. А кроме того, отдельное место в номере занимают три

Руководитель лаборатории молекулярной генетики
ФГБУ НМИЦ ПМ Минздрава России
К.м.н. Мешков Алексей Николаевич

в популяциях Крайнего Севера (Сургут) и трех крупных сибирских городов, а также жителей Якутии. Генетическая эпидемиология по-прежнему является основой в решении подобного рода задач.

Все больше накапливаются данные о том, что наряду с унаследованными дефектами генома, важное значение имеют ненаследуемые мутации, возникающие в онтогенезе (постзиготическая изменчивость генома). Это — область эпигенетической наследственности.

В одной из статей представлены результаты изучения у каждого из пациентов с коронарным атеросклерозом одновременно около 15 тыс. генов. Выявлены дифференциально метилированные 46 CpG сайтов 42 генов, из которых 8 генов связаны с развитием болезни. Обсуждаются и другие формы неменделевского наследования, в частности “парадоминантное наследование”, а также представлен сравнительный анализ спектра вариантов числа копий участков ДНК (CNU) в лейкоцитах и клетках артерий при их атеросклеротическом поражении.



клинических случая редких моногенных наследственных заболеваний, связанных с развитием различных форм кардиомиопатий: миофибрилярной миопатии, болезни Данона и атаксии Фридрейха, где использование методов генетической диагностики помогает в дифференциальной диагностике и более точной оценке прогноза заболевания. Надеюсь, что статьи данного номера будут не только интересны, но и полезны в практической и научной деятельности.



С 2016г статьи в журнал принимаются через редакционную платформу: www.russjcardiol.elpub.ru

НОВЫЕ ПРАВИЛА ПУБЛИКАЦИИ АВТОРСКИХ МАТЕРИАЛОВ (2017):
<http://russjcardiol.elpub.ru/jour/about/submissions#authorGuidelines>

ОБЗОР ЗАРУБЕЖНЫХ НОВОСТЕЙ КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

Опубликовано соглашение экспертов по смене, или “переключению” между разными препаратами — антагонистами рецепторов тромбоцитов к АДФ. Авторы статьи, Angiolillo, et al. (2017) отмечают, что широкий выбор препаратов и их сходная доказательная база привели к тенденции у врачей менять терапию у одного и того же больного. Это может быть небезопасно. Авторы выделяют модальности перехода “эскалация” (с клопидогрела на прасугрел или тикагрелор), “де-эскалация” (в обратном направлении) и “смена” (между тикагрелором и прасугрелом), а также типы перехода “внутри-” и “межклассовый”, имеющие отношение как к пероральным, так и парентеральным антитромбоцитарным препаратам. Выделяется понятие потенциала к развитию взаимодействия между препаратами (например, тикагрелор на клопидогрел или на прасугрел, кангрелор на клопидогрел или прасугрел). Полная версия соглашения экспертов опубликована 14 ноября 2017 года.

(По данным: *Circulation*, 2017)

Авторы из Франции провели исследование показателей риска контраст-индуцированной нефропатии при коронарном вмешательстве (ЧКВ) по поводу инфаркта миокарда с подъемом сегмента ST (STEMI). Silvain, et al. (2017) включили 1114 последовательно госпитализированных пациента, которым выполнялось ЧКВ. Риск нефропатии рассчитывался по ряду принятых шкал. Наиболее дискриминантной оказалась шкала RIFLE (СКД-ЕРІ) для определения риска внутрибольничной летальности, однолетней летальности и необходимости гемодиализа. С однолетней летальностью независимо были связаны остановка кровообращения, нестабильная гемодинамика, наличие почечной недостаточности, старший возраст и большой объем контрастного вещества. При этом, связи между собственно ухудшением функции почек и объемом контраста не обнаружено.

(По данным: *Heart*, 2017)

Приводятся результаты исследования FAME (Fearson, et al., 2017), посвященного изучению чрескожного коронарного вмешательства при стабильной стенокардии с учетом данных фракционного резерва кровотока, а не одной лишь ангиографии. Включено 888 пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца и низким резервом кровотока, которых рандомизировали в группы ЧКВ и только медикаментозного ведения. Спустя 3 года число больших нежелательных явлений было значительно ниже в группе ЧКВ (10% и 22%), главным образом, за счет числа экстренных реваскуляризований. Недостоверно меньше было число смертей и событий инфаркта миокарда в группе ЧКВ. Медико-экономический анализ также показал преимущество ЧКВ перед консервативным ведением больных.

(По данным: *Circulation*, 2017)

Проведен анализ случаев венозной тромбоэмболии у пациентов, включенных в исследования препаратов ворапаксар (TRA2P-TIMI 50) и тикагрелор (PEGASUS-TIMI). Среди 47,6 тыс. участников со стабильным поражением артерий у 301 в течение трех лет наблюдения случилось 343 случая венозной тромбоэмболии. Кроме независимой ассоциации риска с возрастом, массой тела и другими факторами, число бассейнов атеросклеротического поражения вносило вклад в трехлетний риск венозной тромбоэмболии (ВТЭ): 0,76% для одного бассейна, 1,53% для двух и 2,45% для трех). Риск ВТЭ снижался существенно при более интенсивной антитромбоцитарной терапии. Таким образом, отмечают авторы, есть связь между выраженностью атеросклероза и риском ВТЭ, и даже предлагают включить её в число конечных точек при исследованиях антитромбоцитарной терапии.

(По данным: *Circulation*, 2017)

Румынские авторы сообщают о протективном влиянии статинов на почки при сахарном диабете 2 типа. Vlad, et al. (2017) провели полугодовое проспективное исследование 63 пациентов, рандомизированных в группу приема розувастатина или эквивалентной дозы аторвастатина. Измерялись уровни подоцитов мочи, подоцит-ассоциированных молекул, биомаркеров дисфункции проксимальных отделов извитых канальцев. Обнаружено, что в сравнении с розувастатином аторвастатин снижает подоцитурию, уровень нефрина мочи, уровень сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) мочи, степень микроальбуминурии, а также конечных продуктов гликозилирования. Авторы также отмечают, что показана корреляция между изменениями в клубочках и в проксимальном извитом канальце в ранние стадии диабетической нефропатии.

(По данным: *Renal Failure*, 2017)

Авторы из США, Fiedler, et al. (2017), обратились к рискам хирургии клапана аорты по поводу тяжелой регургитации у пациентов с тяжелой дисфункцией миокарда. После анализа обширной базы данных, авторы выявили 40 пациентов, подходивших по всем критериям, в частности, фракции выброса ЛЖ менее 35%. Из них 18 были прооперированы трансаортально, остальные получали только медикаментозное лечение. Наблюдение длилось 6,58 лет, а средняя продолжительность жизни в группе операции составила 6,31 года. В группе операции летальность составила 28%, тогда как в консервативной группе — 91%. При этом, факторами плохого прогноза независимо были терминальная болезнь почек и заболевания периферических артерий. Авторы отмечают, что несмотря на тяжелое состояние пациентов, трансаортальное протезирование клапана аорты по поводу тяжелой регургитации может улучшить прогноз.

(По данным: *Heart*, 2017)

МУТАЦИЯ ГЕНА *DES* В СЕМЬЕ ПРОБАНДА С МИОФИБРИЛЛЯРНОЙ МИОПАТИЕЙ И РАЗВИТИЕМ НЕКОМПАКТНОЙ КАРДИОМИОПАТИИ, ПРИВЕДШЕЙ К ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА

Мясников Р. П.¹, Щербакова Н. В.¹, Куликова О. В.¹, Мешков А. Н.¹, Харлап М. С.¹, Киселева А. В.¹, Жарикова А. А.¹, Дадали Е. Л.⁵, Семенова Н. А.⁵, Корецкий С. Н.¹, Благова О. В.⁴, Мершина Е. А.², Синицын В. Е.², Драпкина О. М.¹, Бойцов С. А.³

Цель. Проведение клинико-инструментального обследования и молекулярно-генетического тестирования методом экзомного секвенирования пробанду с сочетанием миопатии и некомпактной кардиомиопатии левого желудочка (НКЛЖ) и его родственникам 1 и 2 степени родства.

Материал и методы. Объект исследования: пробанд с НКЛЖ и его родственники 1 и 2 степени родства. Всем участникам было проведено клинико-инструментальное обследование, включающее в себя: забор крови для генетического анализа, общий анализ крови, биохимический анализ крови: общий белок, Аст, Алт, ЛДГ, общий билирубин, мочевины, креатинин, мочевая кислота, калий, натрий, КФК, МБ-КФК, BNP, С-РБ, Коагулограмма: АЧТВ, тромбиновое время, антиромбин III, МНО, D-димер, ЭКГ, Суточное мониторирование ЭКГ по Холтеру и МРТ сердца, если его проведение было возможно. Диагноз некомпактного миокарда был установлен на основании ЭхоКГ критериев некомпактного миокарда. Секвенирование выполнялось на геномном секваторе Illumina HiSeq 1500 (Illumina, США). Геномные библиотеки были приготовлены с помощью набора Kapa Library Amplification kit (Roche, Швейцария), экзомное обогащение с использованием набора NimbleGen SeqCap EZ Exome v3.0 (Roche, Швейцария). Также проводился биоинформатический анализ, определение патогенности и приоритизация вариантов нуклеотидной последовательности 188 генов, связанных с развитием кардиомиопатий.

Результаты. У пробанда было выявлено сочетание миофибриллярной миопатии и семейной формы НКЛЖ (МРТ и ЭхоКГ критерии), также выявлен новый вероятно патогенный вариант в гене *DES* — с.330_338del, других патогенных и вероятно патогенных вариантов найдено не было.

Заключение. Новый вариант гена *DES* с.330_338del предположительно отвечает за развитие как миофибриллярной миопатии, так и НКЛЖ.

Российский кардиологический журнал 2017, 10 (150): 9–16
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-9-16>

Ключевые слова: *DES*, экзомное секвенирование, некомпактная кардиомиопатия левого желудочка, кардиомиопатии, миофибриллярная миопатия, трансплантация сердца, скелетная миопатия, сердечная недостаточность, внезапная сердечная смерть.

¹ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр профилактической медицины Минздрава России, Москва; ²ФГАУ Лечебно-реабилитационный центр Минздрава России, Москва; ³ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии Минздрава России, Москва; ⁴ФГБОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет (ПМГМУ) им. И. М. Сеченова, Москва; ⁵Медико-генетический научный центр, Москва, Россия.

Мясников Р.П. — к.м.н., н.с. отдела клинической кардиологии и молекулярной генетики, Щербакова Н.В. — м.н.с. лаборатории молекулярной генетики, Куликова О.В. — врач-кардиолог, Мешков А.Н.* — к.м.н., руководитель лаборатории молекулярной генетики, Харлап М.С. — к.м.н., с.н.с. отдела клинической кардиологии и молекулярной генетики, Киселева А.В. — к.б.н., с.н.с. лаборатории молекулярной генетики, Жарикова А.А. — м.н.с. лаборатории молекулярной генетики, Дадали Е.Л. — д.м.н., профессор, зав. научно-консультативным отделом, Семенова Н.А. — к.м.н., с.н.с. научно-консультативного отдела, Корецкий С.Н. — к.м.н., с.н.с. отдела клинической кардиологии и молекулярной генетики, Благова О.В. — д.м.н. профессор кафедры факультетской терапии № 1, Мершина Е.А. — к.м.н., зав. отделением томографии, доцент кафедры лучевой диагностики, лучевой терапии и медицинской физики, Синицын В.Е. — д.м.н., профессор, руководитель Центра лучевой диагностики, профессор кафедры лучевой диагностики, лучевой терапии и медицинской физики, Драпкина О.М. — член-корр. РАН, д.м.н., профессор, директор, Бойцов С.А. — член-корр. РАН, д.м.н., профессор, генеральный директор.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
 meshkov@lipidclinic.ru

АВ-блокада — атриоventрикулярная блокада, АМКР — антагонист минерал-кортикоидных рецепторов, ГКМП — гипертрофическая кардиомиопатия, ДКМП — дилатационная кардиомиопатия, ЖТ — желудочковая тахикардия, иАПФ — ингибитор ангиотензинпревращающего фермента, КДР — конечнодиастолический размер, КМП — кардиомиопатия, ЛЖ — левый желудочек, МНО — международное нормализованное отношение, МРТ — магнитно-резонансная томография, МСКТ — мультиспиральная компьютерная томография, НКЛЖ — некомпактная кардиомиопатия левого желудочка, НМГ — низкомолекулярные гепарины, ПЖ — правый желудочек, CRT-D — ресинхронизирующие устройства с функцией кардиостимулятора/дефибриллятора, ТМЖП — толщина межжелудочковой перегородки, ФВ ЛЖ — фракция выброса левого желудочка, ХСН — хроническая сердечная недостаточность, ЧСС — частота сердечных сокращений, ЭКГ — электрокардиография, ЭКС — электрокардиостимулятор, ЭхоКГ — эхокардиография.

Рукопись получена 21.09.2017

Рецензия получена 22.09.2017

Принята к публикации 25.09.2017

DES GENE MUTATION IN A FAMILY OF PROBAND WITH MYOFIBRILLARY MYOPATHY AND NON-COMPACTION CARDIOMYOPATHY, RESULTED IN CARDIAC TRANSPLANTATION

Myasnikov R. P.¹, Shcherbakova N. V.¹, Kulikova O. V.¹, Meshkov A. N.¹, Kharlap M. S.¹, Kiseleva A. V.¹, Zharkova A. A.¹, Dadali E. L.⁵, Semenova N. A.⁵, Koretsky S. N.¹, Blagova O. V.⁴, Mershinina E. A.², Sinityn V. E.², Drapkina O. M.¹, Boytsov S. A.³

Aim. To perform clinical and instrumental examination and genetic testing using the method of exome sequencing of proband and his relatives of 1 and 2 degrees of kinship with myofibrillary myopathy and non-compaction cardiomyopathy.

Material and methods. The object of the study: proband with non-compaction cardiomyopathy and his relatives of 1 and 2 degrees of kinship. All participants underwent clinical and instrumental examination including: blood collection for genetic testing, complete cell blood count, biochemical blood assay (levels of total protein, alanine-aminotransferase, aspartate aminotransferase, lactate dehydrogenase, bilirubin, urea, creatinine, uric acid, potassium, sodium, creatinekinase, MB-fraction of creatinekinase, brain natriuretic peptides,

C-reactive protein), coagulation profile (partial thromboplastin time, thrombin clotting time, levels of antithrombin III, INR, D-dimer), ECG, Holter ECG monitoring, cardiac MRI). The non-compaction myocardium was diagnosed according to echocardiographic criteria of non-compaction myocardium. Sequencing was performed with genomic sequenator Illumina HiSeq 1500 (Illumina, USA). Genomic libraries were prepared with Kapa Library Amplification Kit (Roche, Switzerland), NimbleGen SeqCap EZ Exome v3.0 (Roche, Switzerland) were used for exome enrichment. Then bioinformatic analysis was done; variants in 188 genes associated with any cardiomyopathy development were prioritized and assessed for pathogenity.

Results. Proband was diagnosed with myofibrillar myopathy and familial form of non-compaction cardiomyopathy (according to MRI and echocardiographic criteria). Novel probably pathogenic variant was found in *DES* gene — c.330_338del. Other pathogenic and probably pathogenic variants were not found.

Conclusion. Novel variant of *DES* gene c.330_338del is probably responsible for the development of myofibrillar myopathy and non-compaction cardiomyopathy.

Russ J Cardiol 2017, 10 (150): 9–16

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-9-16>

Некомпактная кардиомиопатия левого желудочка (НКЛЖ) — генетически обусловленная кардиомиопатия (КМП), которая характеризуется наличием повышенной трабекулярности и выраженных межтрабекулярных пространств, сообщающихся с полостью левого желудочка (ЛЖ). Заболевание представляет большую проблему в кардиологии, вследствие высокой смертности и наличия серьезных осложнений. Согласно литературным данным распространенность заболевания колеблется в пределах 3-26 на 10000 человек [1-3], однако, учитывая проблему гипо- и гипердиагностики некомпактного миокарда, эти данные носят весьма условный характер. Клиническая картина НКЛЖ различна: выявляются как бессимптомные формы, так и варианты с прогрессирующим течением заболевания, проявляющиеся в виде сердечной недостаточности, тромбоэмболических осложнений, желудочковых нарушений ритма сердца, в некоторых случаях заболевание дебютирует развитием внезапной сердечной смерти [2, 4]. Описаны как спорадические, так и семейные случаи НКЛЖ, при этом, на долю последних приходится от 26 до 64% [2]. В настоящее время описано более 60 генов, связанных с развитием семейных случаев заболевания, и в большинстве случаев тип наследования аутосомно-доминантный. Описаны как изолированные формы НКЛЖ, так и сочетание некомпактного миокарда с другой патологией, прежде всего, с нервно-мышечными расстройствами [2, 5, 6]. В тоже время, при генетическом тестировании семейных форм некомпактной КМП патогенные мутации в уже известных генах, связанных с заболеванием, выявляются не более чем в половине случаев [2]. Это свидетельствует о наличии еще других неизученных генов.

В нашем исследовании пациенту с сочетанием миопатии и НКЛЖ и его родственникам 1 и 2 степени родства мы провели клинико-инструментальное обследование и молекулярно-генетическое тестирование методом экзомного секвенирования и впервые описали сочетание миофибриллярной миопатии, вызванной новой делецией гена *DES* и НКЛЖ.

Материал и методы

Объект исследования: пробанд с семейной формой некомпактного миокарда, родственники паци-

Key words: *DES*, exome sequencing, left ventricular non-compaction cardiomyopathy, cardiomyopathy, myofibrillar myopathy, cardiac transplantation, skeletal myopathy, heart failure, sudden cardiac death.

¹National Research Center for Preventive Medicine of the Ministry of Health, Moscow; ²Treatment and Rehabilitation Center of the Ministry of Health, Moscow; ³National Medical Research Center of Cardiology of the Ministry of Health, Moscow; ⁴I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health, Moscow; ⁵Medical and Genetic Scientific Center, Moscow, Russia.

ента с диагностированным заболеванием. Все участники подписали информированное согласие на участие в исследовании и обработку персональных данных. Дизайн исследования был одобрен этическим комитетом ФГБУ “НМИЦПМ” Минздрава России. Пробанду и всем родственникам было проведено клинико-инструментальное обследование, включающее в себя: взятие крови для генетического анализа, общий анализ крови, биохимический анализ крови: общий белок, АсТ, АлТ, ЛДГ, общий билирубин, мочевины, креатинин, мочевиная кислота, калий, натрий, КФК, МБ-КФК, ВПР, С-РБ; коагулограмма: АЧТВ, тромбиновое время, антитромбин III, МНО, D-димер, ЭКГ, Суточное мониторирование ЭКГ по Холтеру и МРТ сердца, если едженниго проведение было возможно. Диагноз некомпактного миокарда был установлен на основании ЭхоКГ-критериев некомпактного миокарда: выявление двухслойной структуры утолщенной стенки ЛЖ — некомпактного (N) и компактного (C), где N/C >2, три и более трабекул в ЛЖ в направлении от верхушки к папиллярным мышцам, в одной ЭхоКГ-проекции, выявление кровотока в межтрабекулярных пространствах [2].

Генетический анализ. Выделение ДНК проводили с помощью набора QIAamp® DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Германия). Концентрацию ДНК определяли на спектрофотометре NanoPhotometer (Implen, Германия). Геномные библиотеки были приготовлены с помощью набора Kapa Library Amplification kit (Roche, Швейцария). Далее было выполнено экзомное обогащение с использованием набора NimbleGen SeqCap EZ Exome v3.0 (Roche, Швейцария). Контроль качества был проведен с помощью Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent, США) и Qubit 2.0 (ThermoFisher, США). Секвенирование выполнялось на геномном секвенаторе Illumina HiSeq 1500 (Illumina, США) ридами длиной (2×125 bp). Все этапы эксперимента проводились согласно протоколам производителей средств.

Биоинформатический анализ. Парные чтения, полученные после секвенирования, были предоставлены для анализа в формате fastq. Оценка качества чтений была проведена с помощью программы FastQC, после чего были удалены с конца каждого чтения нуклеотиды, вероятность ошибки в которых была более 1 на 100, с помощью программы

Trimmomatic. Прошедшие процедуру фильтрации пары чтений были картированы на геном человека версии hg19, в качестве картировщика выбрана программа bwa mem. Удаление дублированных чтений осуществлено с помощью программы samtools. В результате для каждого пациента был получен BAM файл, содержащий информацию об уникальных чтениях, картированных на референсный геном. Неточности выравнивания в областях вставок и делеций были устранены при помощи программы GATK, также с помощью GATK проводили поиск SNP в рамках целевых участков генома. В результате для каждого пациента были получены файлы, содержащие список вариантов нуклеотидной последовательности, их координаты, данные о покрытии и прочие характеристики. Найденные варианты нуклеотидной последовательности были аннотированы с помощью программы ANNOVAR.

Определение патогенности и установка приоритета вариантов нуклеотидной последовательности. В финальный анализ включались варианты, находящиеся в двух группах генов: 1 группа — 66 генов, ранее связанных с развитием НМЛЖ и 2 группа дополнительно 122 гена, связанные с развитием других КМП (табл. 1). Все найденные варианты в двух группах генов были аннотированы и отфильтрованы согласно данным о частоте встречаемости минорного аллеля, результатах компьютерного предсказания влияния на структуру белка изменений нуклеотидной последовательности (SIFT и PolyPhen2), наличии ранее описанных ассоциаций с одним из видов КМП и наличии семейной агрегации с фенотипом. Варианты проходили проверку на соответствие критериям патогенности, согласно рекомендациям ACMG 2015г [7]. Отфильтрованные варианты перед включением в результаты генетического исследования были проанализированы врачом и исследованы на предмет упоминания в новейших публикациях.

Подтверждение найденных вариантов методом секвенирования по Сенгеру. Праймеры для получения ПЦР-продукта длиной 395 п.н.: DES_del_f, 5'-TCTAAGGGCTCCTCCAGCTC-3'; DES_del_r 5'-CGCTGGTTAGTGAGCACCTC-3'. В 20 мкл смеси для ПЦР содержалось 0,2 мМ каждого нуклеотида, 1 х буфер для ПЦР, 100 нг ДНК-матрицы, 20 нг каждого праймера, 2,5 U ДНК-полимеразы. Амплификацию проводили на амплификаторе "GeneAmp PCR System 9700" (Thermo Fisher Scientific, USA) при следующих параметрах: 94° С — 30 с; 30 циклов: 94° С — 30 с, 65° С — 45 с, 72° С — 90 с; 72° С — 45 с, 4° С — ∞.

Перед секвенированием исследуемый фрагмент ДНК очищался от неспецифических продуктов ПЦР с использованием коммерческого реактива ExoSAP-IT по протоколу фирмы-производителя. Нуклеотидная последовательность продуктов ПЦР определялась методом циклического секвенирования с по-

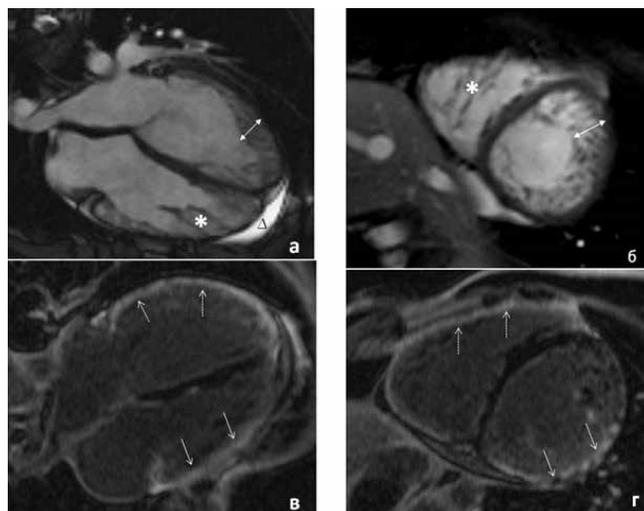


Рис. 1. МРТ пробанда.

мощью набора реактивов ABI PRISM® BigDye™ Terminator v. 3.1 с последующим анализом продуктов реакции на автоматическом секвенаторе ДНК Applied Biosystem 3730 DNA Analyzer (Thermo Fisher Scientific, USA).

Результаты

Данные анамнеза, клинического и инструментального обследования. Пробанд — пациент 25 лет астенического телосложения. Рост 180 см, вес 52 кг. С отягощенным семейным анамнезом по КМП, хронической сердечной недостаточностью, нарушениям ритма сердца и проводимости, нейромышечным заболеваниям. С 13 лет наблюдался у кардиолога с диагнозом ГКМП, синдром WPW(В-тип), медикаментозную терапию не получал, беспокоила общая слабость, утомляемость. С 2010г после периода интенсивных статических нагрузок (тренажерный зал) появилась одышка при аэробной физической нагрузке. В конце 2014г перенес вирусную инфекцию с повышением температуры тела, болями в поясничной области. Был назначен нолицин с положительным эффектом. При проведении ультразвукового исследования брюшной полости выявлена жидкость в плевральной и брюшной полости, гепатоспленомегалия, в связи с чем был госпитализирован в стационар. При проведении ЭхоКГ было выявлено снижение фракции выброса (ФВ) до 34%, диффузный гипокинез ЛЖ, признаки некомпактного миокарда (критерии Chin, Jenni, Stolberger) [8, 9, 10] выявлена жидкость в брюшной и плевральной полости. По данным МРТ сердца с гадолинием выявлено снижение ФВ ЛЖ до 33%, картина некомпактной КМП с повышением трабекулярности ЛЖ и ПЖ, удовлетворяющей критериям некомпактного миокарда, дилатацией полости ЛЖ до 5,9 см, признаки миокардита (субэпикардальное и трансмуральное накопление

Таблица 1

Список генов для анализа

Гены НКЛЖ	Гены других КМП
ACTC1, ACTN2, AMPD1, ANKRD1, ARFGEF2, BAG3, CASQ2, CNBP, CSRP3, DMD, DMPK, DNAJC19, DSP, DTNA, EYA1, FBN2, FLNC, GBE1, GLA, HADHB, HBB, HCCS, HCN4, HMGCL, ITGA7, KCNH2, KCNQ1, LAMP2, LDB3, LMNA, MIB1, MLYCD, MMACHC, MYBPC3, MYH6, MYH7, MYH7B, MYL2, MYL3, MYPN, NKX2-5, NNT, NOTCH1, PKP2, PLEC, PLEKHM2, PLN, PMP22, PRDM16, PTPN11, RYR1, RYR2, SCN5A, SDHA, SDHD, SIX1, SIX5, TAZ, TFAP2A, TNNC1, TNNT3, TNNT2, TNNT3, TPM1, TTN, YWHAЕ	AARS2, ABCC9, ACAD9, ACADVL, ACTA1, ACTA2, AGK, AGL, AGPAT2, ALMS1, ANK2, ATP5E, ATPAF2, BRAF, BSCL2, CALR3, CAV3, CBL, COA5, COQ2, COX15, COX6B1, CRELD1, CRYAB, CTF1, CTNNA3, DES, DLD, DNM1L, DOLK, DSC2, DSG2, ELN, EMD, EYA4, FAH, FHL1, FHL2, FHOD3, FKRP, FKTN, FLNA, FOXD4, FOXRED1, FXN, GAA, GATA4, GATA6, GATAD1, GFM1, GJA1, GJA5, GLB1, GNPTAB, GUSB, HFE, HRAS, ILK, JAG1, JPH2, JUP, KCNJ2, KCNJ8, KLF10, KRAS, LAMA2, LAMA4, LIAS, MAP2K1, MAP2K2, MRPL3, MRPS22, MTO1, MURC, MYH11, MYLK2, MYOM1, MYOT, MYOZ2, NEBL, NEXN, NRAS, OBSL1, PDHA1, PDLIM3, PHKA1, PITX2, PMM2, PRKAG2, PSEN1, PSEN2, RAF1, RBM20, SCO2, SGCA, SGCB, SGCD, SHOC2, SLC22A5, SLC25A3, SLC25A4, SMAD3, SOS1, SPHA, SPRED1, SURF1, SYNE1, SYNE2, TBX1, TBX20, TBX5, TCAF, TGFB3, TMEM43, TMEM70, TMPO, TRIM63, TSFM, TTR, TXNRD2, VCL, XK

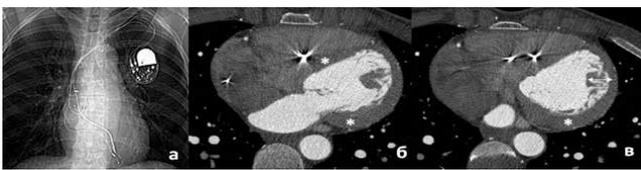


Рис. 2. МСКТ мать пробанда.

контрастного вещества в отсроченную фазу в базальных и средних сегментах передне- и задне-боковой, нижней стенок ЛЖ), а также контрастирование свободной стенки ПЖ, гидроперикард (рис. 1). По данным суточного мониторирования ЭКГ по Холтеру отмечалась частая желудочковая экстрасистолия с неустойчивыми пробежками ЖТ, АВ-блокада 1 степени, полная блокада левой ножки пучка Гиса. Пациенту была назначена стандартная многокомпонентная терапия сердечной недостаточности. На фоне регулярного приема вышеуказанной терапии отмечалась слабая положительная динамика, сохранялись явления сердечной недостаточности. В июне 2015г пациенту было имплантировано ресинхронизирующее устройство с функцией дефибриллятора. Явления недостаточности кровообращения были сведены к минимуму, однако в июле 2015г появились осиплость голоса вплоть до афонии, ограничение движений в левой руке, выраженная слабость. При проверке работы CRT-D-данных за дисфункцию устройства получено не было. Был консультирован неврологом, предположен неврит возвратного и плечевого нерва, назначена терапия нестероидными противовоспалительными средствами и витаминами группы В, временно отменен варфарин. Через некоторое время на фоне отмены варфарина стала нарастать одышка, в связи с чем был госпитализирован в стационар, где при проведении ЭхоКГ выявлено снижение ФВ ЛЖ до 25% и наличие флотирующего тромба в области верхушки ЛЖ. Учитывая появление осиплости голоса, ограничения в подвижности плеча, пациент был повторно консультирован неврологом.

При осмотре отмечалось ограничение активных движений, болезненность при подъеме плеча выше средней линии, диффузное снижение мышечного тонуса, негрубый кифосколиоз грудного отдела, гипотрофия мышц лица, девиация языка влево. Было рекомендовано проведение дифференциальной диагностики между дистальной миопатией со слабостью голосовых связок и глотки (аутосомно-доминантное наследование) и митохондриальной миопатией. На фоне терапии НМГ и варфарином в динамике отмечено полное исчезновение тромботических масс. С 2016г отмечалось резкое прогрессирование явлений недостаточности кровообращения, снижение ФВ до 20% на фоне многокомпонентной диуретической терапии бета-блокаторами, иАПФ, АМКР. С учетом связи тяжелой декомпенсации с перенесенной инфекцией, данных МРТ сердца (субэпикардальное отсроченное контрастирование), проведен анализ крови на кардиотропные вирусы (в крови не выявлены) и антикардиальные антитела — отмечено повышение титра антител к антигенам эндотелия до 1:160, гладкой мускулатуры до 1:320, волокон проводящей системы до 1:160, что не позволяло исключить наличие миокардита. Однако проведение иммуносупрессивной терапии признано малоперспективным. В мае 2016г пациенту была выполнена ортотопическая трансплантация сердца. В настоящее время пациент регулярно принимает цитостатики, явления недостаточности кровообращения отсутствуют, в то же время отмечаются прогрессирующие неврологические нарушения в виде выраженной мышечной слабости, осиплости голоса.

Мать пробанда 43 года — астеничного телосложения, в 25 лет появилась осиплость голоса, в 30 лет была диагностирована АВ-блокада III степени, по поводу чего имплантирован ЭКС, позже диагностирована ГКМП. В дальнейшем при обследовании по данным ЭхоКГ заподозрена некомпактная кардиопатия (критерии Chin, Jenni, Stolberger) [8, 9, 10]. С целью верификации НКЛЖ проведена КТ сердца с контрастом (рис. 4), при которой была отмечена

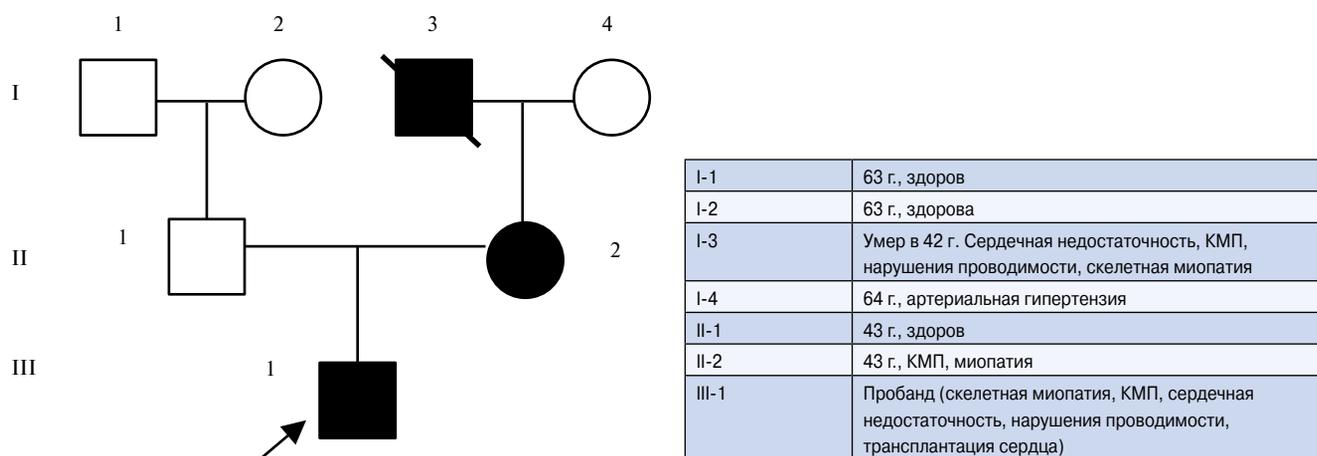


Рис. 3. Родословная.

Пациент/симптомы	III-1	II-2	II-1	I-3	I-4
Возраст	23	43	43	42	64
Пол	М	Ж	М	М	Ж
Рост	180 см	175 см	187 см	183 см	164 см
Масса	52 кг	50 кг	95 кг	60,8 кг	85 кг
ИМТ	16,0 кг/м ²	16,3 кг/м ²	27,1 кг/м ²	18,1 кг/м ²	31,6 кг/м ²
Признаки миопатии	+	+	-	+	-
Явления СН	+	+	-	+	-
КМП	+	+	-	+	-
ЭхоКГ критерии некомпактного миокарда	+	+	-	-	-
НЖ НРС	+	+	-	+	-
Нарушения проводимости сердца	+	+	-	+	-
Имплантируемые устройства	CRT-d	ЭКС	-	ЭКС	-
ФВ	26%	58%	65%	Нет данных	63%
Тромбоэмболические осложнения	Тромбоз полости ЛЖ	-	-	-	-
КФК	599 Е/л	326 Е/л	188 Е/л	Нет данных	71 Е/л

Рис. 4. Клиническая характеристика семьи.

дилатация всех камер сердца, симметричная гипертрофия миокарда ЛЖ и папиллярных мышц, повышение трабекулярности миокарда по передне-боковой стенке ЛЖ. Проведение МРТ сердца было невозможно в связи с имплантированным ЭКС.

При осмотре: снижен глоточный и небный рефлекс, небная занавеска свисает. Осиплость голоса. Диффузная мышечная гипотония, гипотрофия. Сила мышц в плечевом и тазовом поясах 3 балла, в дистальных 4 балла. Ходьба на носках не затруднена, на пятках невозможна. Выраженные приемы Говерса. Сухожильные рефлексы с рук высокие, с ног — коленные не вызываются, ахиллов сохранен слева, справа не вызывается. Тугоподвижность в плечевых и голеностопных суставах. Тремор пальцев вытянутых рук, интенционный тремор, усиливающийся при волнении. Периодически фасцикуляции в мышцах плечевого пояса. В позе Ромберга — пошатывание. Слабость мимической мускулатуры. Движения глазных яблок в полном объеме, птоза нет.

Семья была консультирована в МГНЦ, где был поставлен диагноз: миофибриллярная миопатия.

Отцу пробанда 43 лет проведено комплексное кардиологическое и неврологическое обследование. По результатам ЭхоКГ признаков некомпактного миокарда не выявлено. ТМЖП 1,0 см, КДР 5,3 см. Данных за наличие миопатии получено не было.

Дед по материнской линии умер в 42 года. По данным медицинской документации находился под наблюдением кардиолога с 1972г по поводу одышки, нарушений ритма сердца. В 1977г отмечалась резкая слабость, потери сознания, редкий пульс. По данным ЭКГ была выявлена полная АВ-блокада — имплантирован ЭКС. Тогда же диагностирован парез мягкого неба. В дальнейшем неоднократные госпитализации в стационар, прогрессирование сердечной недостаточности, выставлялся диагноз ГКМП. В 1991г дед по материнской линии скончался по причине прогрессирующей сердечной недостаточности.

Таблица 2

Список вариантов, найденных в генах, связанных с НКЛЖ

Ген	№ хромосомы и позиции	Гетерозиготность	rs_id	Частота минорного аллеля в 1000 геномов	Семейная агрегация	Тип варианта по ACMG 2015
<i>PRDM16</i>	chr1_3328948	het	rs200109766	0.000199681		неопределенного значения
<i>DMPK</i>	chr19_46283586	het	rs199935282	0.000798722	да	неопределенного значения
<i>RYR1</i>	chr19_39003006	het	rs61739911	0.000998403	да	неопределенного значения
<i>MYH7B</i>	chr20_33575677	het	rs754511	0.00259585	да	доброкачественный
<i>TTN</i>	chr2_179410282	het	rs62621206	0.00559105	да	вероятно доброкачественный
<i>TTN</i>	chr2_179446381	het	rs72646869	0.00579073		вероятно доброкачественный
<i>TTN</i>	chr2_179582853	het	rs72648982	0.0121805	да	вероятно доброкачественный
<i>TTN</i>	chr2_179612383	het	rs72648907	0.0145767		вероятно доброкачественный
<i>ITGA7</i>	chr12_56092668	het	rs74867235	0.0155751		вероятно доброкачественный

Таблица 3

Список вариантов, найденных в генах, связанных с КМП

Ген	№ хромосомы и позиции	Гетерозиготность	rs_id	Частота минорного аллеля в 1000 геномов	Семейная агрегация	Тип варианта по ACMG 2015
<i>DSC2</i>	chr18_28650748	het	rs151024019	0.000599042		вероятно доброкачественный
<i>DSG2</i>	chr18_29111109	het	rs193922639	0.000998403		вероятно доброкачественный
<i>ANK2</i>	chr4_114279628	het	rs36210417	0.00399361		доброкачественный
<i>TMEM43</i>	chr3_14170981	het	rs35028636	0.00838658		вероятно доброкачественный
<i>JUP</i>	chr17_39925713	het	rs41283425	0.0239617	да	доброкачественный
<i>GLB1</i>	chr3_33055688	het	rs73826339	0.0349441	да	доброкачественный
<i>FOXD4</i>	chr9_117506	het	rs2492215	0.0433		вероятно доброкачественный
<i>RBM20</i>	chr10_112579830	het	rs376071070	0.0001		неопределенного значения
<i>DES</i>	chr2_220283514_220283522del	het	н.д.	н.д.	да	вероятно патогенный

Бабушке по материнской линии 64 лет проведено комплексное кардиологическое и неврологическое обследование. По результатам ЭхоКГ признаков некомпактного миокарда не выявлено. ТМЖП 1,1 см, КДР 5,1 см. Данных за наличие миопатии получено не было (рис. 3).

Данные молекулярно-генетической диагностики. Секвенирование экзона было проведено пробанду, родителям пробанда и бабушке по материнской линии пробанда. Список всех несинонимичных вариантов по группе 1 и группе 2 генов с частотой минорного аллеля менее 5% по данным базы 1000 геномов приведен в таблицах 2 и 3, соответственно. В группе генов, связанных с НКЛЖ, не было выявлено патогенных и вероятно-патогенных вариантов. В группе генов других КМП также не было выявлено патогенных вариантов. Был выявлен один вероятно патогенный вариант, который ранее не был описан — делеция 9 нуклеотидов “GGAGCTGCA” NM_001927:g.220283514_220283522del (NM_001927.3:c.330_338del) в первом экзоне гена десмина (*DES*), приводящая к потере трех аминокислот в белке десмина: глутаминовая кислота (Glu), лейцин (Leu), глутамин (Gln). Данный вариант был подтвержден методом секвенирования по Сенгеру. Указанный вариант был выявлен у пробанда и у его матери, а у остальных родственни-

ков отсутствовал. Таким образом, при анализе кодирующих последовательностей 188 генов, связанных с развитием КМП, мы выявили только один вероятно патогенный вариант, для которого также была выявлена семейная агрегация с миопатией и НКЛЖ.

Обсуждение

В данной работе приведены результаты комплексного клинично-инструментального и генетического исследования семьи с сочетанием у ее членов миофибриллярной миопатии, КМП и выраженных нарушений ритма и проводимости сердца. В результате обследования было выявлено сочетание миофибриллярной миопатии и семейной формы НКЛЖ (МРТ и ЭхоКГ критерии), а также методом экзомного секвенирования выявлен новый вероятно патогенный вариант в гене *DES* — предположительно ответственный за развитие как миофибриллярной миопатии, так и НКЛЖ.

Генетическая и фенотипическая гетерогенность НКЛЖ, спорные вопросы этиологии и прогноза пациентов с некомпактным миокардом, а также несовершенство ЭхоКГ- и МРТ-критериев некомпактности ЛЖ делают достаточно актуальными вопросы генетического исследования НКЛЖ, особенно, у пациентов с семейной формой. Интерес вызывает

группа пациентов с НКЛЖ в сочетании с нервно-мышечными расстройствами. Внимание к этой группе обусловлено ранним дебютом заболевания, низким качеством жизни из-за тяжести основного заболевания, а также неблагоприятным прогнозом за счет наличия тяжелой сердечной недостаточности, жизнеопасных нарушений ритма сердца и проводимости [2, 5, 11, 12]. Миофибриллярные миопатии — гетерогенная группа нервно-мышечных заболеваний, вызванных мутациями в генах десмина (*DES*), α В-кристаллина (*CRYAB*), миотилина (*MYOT*), филамина С (*FLNC*), а также *BAG3* и *ZASP* [13].

Общей патологической картиной миофибриллярных миопатий является растворение миофибрилл, агрегация деградированных миофибриллярных продуктов и эктопическая экспрессия белков, при этом клинические проявления при дефекте каждого из вышеперечисленных белков различны. Десмин — структурный белок, входящий в состав промежуточных филаментов в сердечной мышце, скелетной и гладкой мускулатуре. Образуя непрерывную цитоскелетную сеть, десмин взаимодействует с другими белками и формирует каркас, поддерживающий пространственную взаимосвязь между миофибриллами и другими структурными элементами клетки, что обеспечивает поддержание клеточной целостности, передачу силы и механохимической сигнализации.

К настоящему времени в научной литературе отсутствует информация о связи мутаций в гене *DES* с развитием НКЛЖ, что по-видимому связано с относительно небольшим сроком активного изучения как самой НКЛЖ, так и функциональных особенностей мутаций самого гена *DES*. Ранее описанные варианты в гене десмина приводят к развитию ДКМП, ГКМП и рестриктивной КМП. Стоит отметить, что один и тот же вариант в одной семье может приводить к развитию разных типов КМП. При этом, в современной научной литературе и генетических базах данных отсутствует информация о развитии НМЛЖ при десмин-зависимых миофибриллярных миопатиях. Полученные данные представляют особый интерес в свете непрекращающихся дискуссий относительно НКЛЖ как самостоятельной нозологии. Тем не менее, у вышеописанных пациентов имелись клинические признаки, характерные как для компактной КМП (тромбоэмболические осложнения, выраженная некомпактность ЛЖ, удовлетворяющая МРТ и ЭхоКГ-критериям, наличие фиброза), так и для десминопатии: нарушения проводимости, требующие постановки ЭКС и CRT.

Несмотря на то, что представленным пациентам по техническим причинам пока не проведен морфологический анализ скелетных мышц и не осуществлена функциональная оценка патогенности описанной мутации, клинические данные (характер

нервно-мышечных нарушений у пробанда и кровных родственников) ярко свидетельствуют о наличии десминопатии. Фенотипические проявления найденной нами мутации у лиц мужского пола в данной семье сопряжены с крайне неблагоприятным прогнозом и низким качеством жизни: у обоих пациентов имеются как выраженные проявления нервно-мышечных нарушений, так и поражения сердечной мышцы, приведшие к развитию КМП (в случае пробанда — НКЛЖ) и выраженным нарушениям ритма и проводимости, потребовавшим имплантации CRT-D (пробанд)/ЭКС (дедушка пробанда). Кроме того, в случае пробанда в 24-летнем возрасте проведена ортотопическая трансплантация сердца, а в случае дедушки пробанда — летальный исход в 42 года от развития острой сердечно-сосудистой недостаточности на фоне декомпенсации ХСН. При этом, у матери пробанда нарушения со стороны сердечно-сосудистой системы не так катастрофичны: имеет место некомпактный миокард ЛЖ с сохраненной ФВ ЛЖ и отсутствием явлений сердечной недостаточности; нейро-мышечные нарушения выражены значительно, однако в настоящее время пациентка не придает им существенного внимания.

Стоит обратить внимание на патофизиологические аспекты десминопатий: мутации в гене *DES* приводят к повреждению структуры десмина, содержащегося в больших количествах в клетках проводящей системы сердца, особенно, в волокнах Пуркинье. У всех наших пациентов имелись выраженные нарушения проводимости, а у пробанда — появление полной блокады левой ножки пучка Гиса, ставшей поводом к решению по имплантации ресинхронизирующего устройства. Однако, несмотря на наличие I класса показаний к имплантации устройства (ХСН III ФК. по NYHA, ФВ 26%, QRS >150 мс), пациент не только не ответил на ресинхронизирующую терапию, но явления ХСН и систолическая дисфункция прогрессивно ухудшались. Длительное время данная ситуация, как и наличие частой политопной желудочковой экстрасистолии и эпизодов желудочковой тахикардии, объяснялись наличием подострого миокардита (субэпикардальные зоны контрастирования в верхушечных отделах, по передней, передне-боковой и задней стенкам ЛЖ по данным МРТ с контрастом, и связь ухудшения состояния с перенесенной ОРВИ), исключить который нельзя, однако, учитывая активное развитие нарушений передачи импульса в кардиомиоцитах при десминопатии, проблема носит комплексный характер. Еще одним косвенным доказательством в пользу патогенности выявленного нами нового варианта гена *DES* является тот факт, что он расположен в I А сегменте α -спирального ядра десмина. По сравнению с сегментами 1В и 2В, где представлено подавляющее большинство мутаций с описанием фенотипических характеристик, име-

ется единичная информации о наличии в данном сегменте патогенных вариантов. Однако, в работе Vernengo L, et al. впервые был выявлен вариант — делеция соседнего с нашим вариантом кодона р. E114del (с.340_342del) в 1A регионе белка десмина, у пациента с сочетанием миопатии и ГКМП. Описанный вариант предположительно вызывает локальное конформационное изменение, что приводит к серьезным изменениям в десминовой сети [14]. Таким образом, можно предположить схожее влия-

ние на десминовую сеть при делеции трех соседних аминокислот в десмине.

Заключение

Новый вариант гена *DES* с.330_338del предположительно отвечает за развитие как миофибриллярной миопатии, так и НКЛЖ.

Благодарности. Работа поддержана средствами гранта РФФИ 17-04-00521 А.

Литература

- Ritter M, Oechslin E, Sutsch G, et al. Isolated noncompaction of the myocardium in adults. *Mayo Clin Proc* 1997; 72: 26-31.
- Finsterer J, Stöllberger C, Towbin JA. Left ventricular noncompaction cardiomyopathy: cardiac, neuromuscular, and genetic factors. *Nat Rev Cardiol*. 2017 Apr; 14 (4): 224-37. doi: 10.1038/nrcardio.2016.207. Epub 2017 Jan 12. Review.
- Sandhu R, Finkelhor RS, Gunawardena DR, Bahler RC. Prevalence and characteristics of left ventricular noncompaction in a community hospital cohort of patients with systolic dysfunction. *Echocardiography* 2008; 25: 8-12.
- Myasnikov RP, Blagova OV, Kulikova OV, et al. The specifics of noncompacted cardiomyopathy manifestation. *Cardiovascular Therapy and Prevention* 2015; 14 (5): 78-82. DOI: 10.15829/1728-8800-2015-5-78-82 (In Russ.) Мясников Р.П., Благова О.В., Куликова О.В. и др. Особенности манифестации некомпактной кардиомиопатии. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2015; 14 (5): 78-82. DOI: 10.15829/1728-8800-2015-5-78-82
- Stöllberger C, Finsterer J, Blazek G. Left ventricular hypertrabeculation/noncompaction and association with additional cardiac abnormalities and neuromuscular disorders. *Am J Cardiol* 2002; 90: 899-902.
- Dong X, Fan P, Tian T, et al. Recent advancements in the molecular genetics of left ventricular noncompaction cardiomyopathy. *Clin Chim Acta*. 2017 Feb; 465: 40-4. doi: 10.1016/j.cca.2016.12.013.
- Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015 May; 17 (5): 405-24. doi: 10.1038/gim.2015.30.
- Stöllberger C, Finsterer J. Left ventricular hypertrabeculation/noncompaction. *J Am Soc Echocardiogr*. 2004 Jan; 17(1):91-100.
- Chin TK, Perloff JK, Williams RG. Isolated noncompaction of left ventricular myocardium: a study of eight cases. *Circulation*. 1990 Aug; 82(2):507-13.
- Jenni R, Oechslin E, Schneider J, et al. Echocardiographic and pathoanatomical characteristics of isolated left ventricular non-compaction: a step towards classification as a distinct cardiomyopathy. *Heart*. 2001 Dec; 86(6): 666-71.
- Myasnikov RP, Kulikova OV, Kharlap MS, et al. Non-compaction myocardium of the left ventricle secondary prevention of thromboembolism. *Cardiovascular Therapy and Prevention* 2017; 16 (1): 100-4. DOI:10.15829/1728-8800-2017-1-100-104 (In Russ.) Мясников Р.П., Куликова О.В., Харлап М.С., и др. Некомпактный миокард левого желудочка: вторичная профилактика тромбоземболических осложнений. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2017; 16 (1): 100-4. DOI:10.15829/1728-8800-2017-1-100-104
- Blagova OV, Nedostup AV, Sedov VP, et al. Heart transplantation as the method of treatment of the progressive cardiomyopathy in patients with primary muscular dystrophy. *Clinical and experimental surgery* 2017; 3 (In Russ.) Благова О.В., Недоступ А.В., Седов В.П. Трансплантация сердца как метод лечения прогрессирующей кардиомиопатии у больных с первичными миодистрофиями, 2017; 3.
- Olivé M, Kley RA, Goldfarb LG. Myofibrillar myopathies: new developments. *Curr Opin Neurol*. 2013 Oct; 26 (5): 527-35. doi: 10.1097/WCO.0b013e328364d6b1
- Vernengo L, Chourbagi O, Panuncio A, et al. Desmin myopathy with severe cardiomyopathy in a Uruguayan family due to a codon deletion in a new location within the desmin 1A rod domain. *Neuromuscular Disorders* 20 (2010) 178-87.

РОЛЬ ВАРИАБЕЛЬНЫХ САЙТОВ G-1082A И C-592A ГЕНА *IL 10* В РАЗВИТИИ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ИСХОДОВ В ТЕЧЕНИЕ ГОДА НАБЛЮДЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ БЕЗ ПОДЪЕМА СЕКМЕНТА ST

Бернс С. А.^{1,2}, Шмидт Е. А.¹, Макеева О. А.^{1,3}, Гончарова И. А.^{1,3}, Салахов Р. Р.¹, Нагирняк О. А.¹, Барбараш О. Л.¹

Цель. Изучение ассоциации варибельных сайтов G-1082A (rs3024491) и C-592A (rs1800872) гена *IL 10* с годовым исходом у больных острым коронарным синдромом без подъема сегмента ST (ОКСбпСТ).

Материал и методы. В исследование включено 178 пациентов с ОКСбпСТ, у которых определены полиморфизмы C-592A (rs1800872) и G-1082A (rs3024491) гена *IL 10*. Генотипирование с помощью TaqMan-проб проводилось на амплификаторе "iCycler iQ" (BIO-RAD, США). В группу контроля вошли 185 относительно здоровых жителей г. Кемерово. У 93 пациентов была изучена концентрация в крови интерлейкина-10 (ИЛ-10) методом твёрдофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов реактивов BIOSOURCE (Бельгия). Референсные значения ИЛ-10 определены на уровне 2,98 (1,75-4,31) пг/мл. На годовом этапе "конечные точки" развились у 42 (23,5%) пациентов, прогрессирующая стенокардия — у 30 (16,8%) пациентов, кардиоваскулярная смертность в течение года составила 1,1% (n=2), нефатальный инфаркт миокарда развился у шести (3,4%), ишемический инсульт — у четырех (2,3%) пациентов.

Результаты. При сравнении концентраций ИЛ-10 у пациентов с ОКСбпСТ с референсными значениями уровня в крови здоровых жителей г. Кемерово выявлена значимо низкая концентрация данного цитокина у пациентов с ОКСбпСТ (0,38 против 2,98 пг/мл; p=0,001). Анализ ассоциации изучаемых варибельных сайтов гена *IL 10* с неблагоприятными исходами в течение года показал, что генотип A/C rs3024491 (G-1082A) гена *IL 10* ассоциирован с развитием неблагоприятного исхода в течение года после перенесенного ОКСбпСТ. Анализ дожития до наступления "конечной точки" в течение 12 месяцев показал, что наиболее неблагоприятным является гетерозиготное носительство генотипа A/C rs3024491 (G-1082A) гена *IL 10* генотип (p=0,048).

Заключение. У пациентов с ОКСбпСТ генотип C/C rs1800872 (C-592A) гена *IL 10* ассоциирован со многими факторами кардиоваскулярного риска, тогда как генотип A/A rs3024491 (G-1082A), напротив, имеет ассоциации с протективными факторами. Генотип A/C полиморфного варианта rs3024491 (G-1082A) гена *IL 10* ассоциирован с развитием неблагоприятных годовых исходов у больных ОКСбпСТ.

Российский кардиологический журнал 2017, 10 (150): 17–22
http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-17-22

Ключевые слова: G-1082A (rs3024491) и C-592A (rs1800872) гена *IL 10*, неблагоприятный исход, острый коронарный синдром без подъема сегмента ST.

ROLE OF THE VARIABLE SITES G-1082A AND C-592A OF GENE *IL 10* IN DEVELOPMENT OF ONE YEAR ADVERSE OUTCOMES OF ST ELEVATION ACUTE CORONARY SYNDROME

Berns S. A.^{1,2}, Shmidt E. A.¹, Makeeva O. A.^{1,3}, Goncharova I. A.^{1,3}, Salakhov R. R.¹, Nagirniak O. A.¹, Barbarash O. L.¹

Aim. Evaluation of the association of variation sites G-1082A (rs3024491) and C-592A (rs1800872) gene *IL 10* with one year outcomes of ST elevation acute coronary syndrome (STEACS).

Material and methods. Totally, 178 patients included, with STEACS in whom the polymorphisms C-592A (rs1800872) and G-1082A (rs3024491) of the gene *IL 10* were checked. Genotyping was done with TaqMan "iCycler iQ" (BIO-RAD, USA). To the control group 185 relatively healthy persons included living in Kemerovo city. In 93, the concentration of interleukin-10 (IL-10) was measured by the hard-phase immune-enzyme assay, by BIOSOURCE (Belgium). Reference values of IL-10 were set at 2,98 (1,75-4,31) pg/mL. At the one-year stage, endpoints developed in 42 (23,5%) patients, progressive angina — in 30 (16,8%); cardiovascular mortality for one year reached 1,1% (n=2), non-fatal myocardial infarction developed in 6 (3,4%), ischemic stroke — in 4 (3,2%) patients.

Results. While comparing IL-10 concentrations in STEACS with the reference values in Kemerovo city inhabitants, relatively low concentration was revealed in

¹ФГБУ Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, Кемерово; ²ГБОУ ВПО Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова, Москва; ³ФГБУ Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томск, Россия.

Бернс С. А. — д.м.н., профессор, вед.н.с. лаборатории патологии кровообращения отдела мультифокального атеросклероза, профессор кафедры внутренних болезней стоматологического факультета, Шмидт Е. А.* — к.м.н., с.н.с. лаборатории патологии кровообращения отдела мультифокального атеросклероза, Макеева О. А. — к.м.н., ст.н.с. лаборатории геномной медицины отдела экспериментальной и клинической кардиологии, с.н.с. лаборатории популяционной генетики, Гончарова И. А. — к.б.н., н.с. лаборатории геномной медицины отдела экспериментальной и клинической кардиологии, н.с. лаборатории популяционной генетики, Салахов Р. Р. — к.м.н., н.с. лаборатории геномной медицины отдела экспериментальной и клинической кардиологии, Нагирняк О. А. — м.н.с. лаборатории патологии кровообращения отдела мультифокального атеросклероза, Барбараш О. Л. — д.м.н., чл.-корр. РАН, директор.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
e.a.shmidt@mail.ru, shmidt@kemcardio.ru

АГ — артериальная гипертензия, ИБС — ишемическая болезнь сердца, ИМ — инфаркт миокарда, ИМТ — индекс массы тела, ЛПВП — липопротеиды высокой плотности, НС — нестабильная стенокардия, ОКСбпСТ — острый коронарный синдром без подъема сегмента ST, ОНМК — острое нарушение мозгового кровообращения, ПИКС — постинфарктный кардиосклероз, СД — сахарный диабет, ФВ ЛЖ — фракция выброса левого желудочка, ФР — факторы риска, ИЛ10 — интерлейкин-10, TNF- α — фактора некроза опухоли- α .

Рукопись получена 13.03.2017

Рецензия получена 30.03.2017

Принята к публикации 25.07.2017

STEACS patients (0,38 vs 2,98 pg/mL; p=0,001). Association analysis of the variation sites of *IL 10* with adverse outcomes during one year showed that genotype A/C rs3024491 (G-1082A) of gene *IL 10* is associated with the development of adverse outcome after NSTEACS. Endowment analysis towards the endpoint during 12 months showed that the most adverse is heterozygous carriage of A/C rs3024491 (G-1082A) gene *IL 10* (p=0,048).

Conclusion. In NSTEACS patients genotype C/C rs1800872 (C-592A) gene *IL 10* associated with lots of cardiovascular risk factors, but genotype A/A rs3024491 (G-1082A) on the contrary, shows associations with protective factors. Genotype A/C of polymorphic variant rs3024491(G-1082A) gene *IL 10* is associated with adverse yearly outcomes in STEACS patients.

Рус J Cardiol 2017, 10 (150): 17–22

http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-17-22

Key words: G-1082A (rs3024491) and C-592A (rs1800872) gene *IL10*, adverse outcome, ST elevation acute coronary syndrome.

Moscow; ³SRI of Medical Genetics, Tomsk National Research Center of RAS, Tomsk, Russia.

¹Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo;
²A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry (MSUMD),

В экономически развитых странах острый коронарный синдром без подъёма сегмента ST (ОКСбпСТ) занимает первое место по заболеваемости и смертности [1]. Недавние исследования показали, что контроль факторов риска (ФР) может привести к уменьшению смертности от ишемической болезни сердца (ИБС), с этой целью создаются прогностические шкалы и калькуляторы риска развития ОКС для использования в практической медицине [2]. В последние годы актуальность приобретает изучение новых ФР, в частности, генетических. Исходя из современных представлений о механизмах развития острого коронарного синдрома (ОКС), можно выделить группы генов-кандидатов, продукты которых могут быть вовлечены в формирование данной патологии [3]. Роль полиморфизмов гена интерлейкина-10 (*IL10*) обсуждается для многих заболеваний, в том числе, для атеросклероза. Проводилась попытка определить рисковый генотип данного гена для осложненного течения инфаркта миокарда (ИМ) [4]. Существуют данные литературы, доказывающие связь “мутантных” аллелей полиморфизмов G-1082A и C-592A гена *IL10* с коронарным атеросклерозом, ОКС и ИМ [5, 6]. Ассоциации полиморфных вариантов G-1082A и C-592A гена *IL10* с неблагоприятными кардиоваскулярными исходами и мультифокальным атеросклерозом подтверждены немногими авторами [7-9]. Таким образом, в настоящее время существует мнение о неблагоприятном влиянии гена *IL10* на прогноз у пациентов с ОКС. Определение связи вышеу-

казанных полиморфных вариантов гена с отдаленными исходами ОКС может позволить эффективно выделить группу пациентов с повышенным риском развития неблагоприятных кардиоваскулярных событий. Целью настоящего исследования явилось изучение ассоциации варибельных сайтов G-1082A (rs3024491) и C-592A (rs1800872) гена *IL10* с отдаленным (годовым) прогнозом у больных ОКСбпСТ.

Материал и методы

В 2009г на базе Кемеровского кардиологического центра и НИИ Комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний был организован регистр, в который включались пациенты с ОКСбпСТ. Критериями включения в исследование являлись: 1) подписанная пациентом форма информированного согласия на участие в исследовании; 2) возникшие в течение 48 часов до госпитализации нестабильная стенокардия (НС) или Q-необразующий ИМ; 3) возраст старше 18 лет. Протокол исследования одобрен этическим комитетом Кемеровского кардиологического диспансера. У всех пациентов осуществлялась оценка клинико-anamnestических данных, рутинных методов исследования, а также проводилась коронароангиография. На госпитальном этапе 176 (98,9%) пациентов получали аспирин, 174 (97,9%) принимали β-блокаторы, 172 (96,7%) — ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, 170 (95,7%) — клопидогрел; статины назначались в 96,7% случаев, около 70% пациентов получали блокаторы медленных кальциевых каналов. Клинико-anamnestическая характеристика представлена в таблице 1.

У 178 пациентов определены полиморфизмы C-592A (rs1800872) и G-1082A (rs3024491) гена *IL10*. Молекула дезоксирибонуклеиновой кислоты выделялась из лейкоцитов крови модифицированным методом фенол/хлороформной экстракции. Генотипирование с помощью TaqMan-проб проводилось на амплификаторе “iCycler iQ” (BIO-RAD, США). Полимеразную цепную реакцию для TaqMan-генотипирования выполняли согласно инструкции Applied Biosystems, США. Запись результатов производилась по наличию S-образной кривой, характеризующей накопление амплификата в пробе. В группу контроля вошли 185 относительно здоровых индивидуума — русские жители г. Кемерово, выразившие добровольное согласие на участие в исследовании. Распределения генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли

Таблица 1

Исходные клинико-anamnestические характеристики пациентов (n=178)

Показатели	Величины
Мужчины, n (%)	119 (66,8)
Возраст, годы	59,8 (58,4; 61,1)
ПИКС в анамнезе, n (%)	59 (33,1)
Сахарный диабет, n (%)	32 (17,9)
Курение, n (%)	92 (51,7)
Артериальная гипертензия, n (%)	156 (87,6)
ФВЛЖ в день госпитализации, %	54,3 (52,8; 55,7)
Индекс массы тела, кг/м ²	29,2 (28,3; 29,9)
ОНМК в анамнезе, n (%)	19 (10,7)
Реваскуляризация миокарда в анамнезе, n (%)	16 (8,9)
Нестабильная стенокардия, n (%)	48 (26,9)
Инфаркт миокарда, n (%)	130 (73,0)
Клиренс креатинина, мл/мин	86,8 (81,9; 91,6)

Таблица 2

**Сравнение частоты генотипов и аллелей
исследуемых полиморфизмов
у больных ОКСбпСТ и здоровых добровольцев, n (%)**

SNP	Генотип, аллель	Распределение частот генотипов и аллелей		
		Здоровые	Больные ОКСбпСТ	p
rs3024491	C/C	61 (33,5)	60 (33,7)	0,95
	C/A	94 (51,6)	86 (48,3)	
	A/A	27 (14,8)	26 (14,6)	
	A	148 (40,6)	138 (40,1)	
rs1800872	G/G	100 (54,1)	96 (53,9)	0,96
	G/T	70 (37,8)	64 (35,9)	
	T/T	15 (8,1)	15 (8,4)	
	T	100 (27,0)	94 (26,4)	

на соответствие ожидаемым при равновесии Харди-Вайнберга с помощью критерия χ^2 .

Дополнительно у 93 пациентов была изучена концентрация в крови интерлейкина-10 (ИЛ-10). Эти пациенты не имели какой-либо значимой сопутствующей патологии (критерии исключения — острые заболевания или обострение хронических воспалительных заболеваний, почечная и гепатоцеллюлярная недостаточность, заболевания легких, онкологические и психические заболевания). Концентрации цитокинов оценивались количественным методом твёрдофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов реактивов фирмы BIOSOURCE (Бельгия). Измерение осуществлялось на иммуноферментном планшетном ридере “Униплан” (фирма “ПИКОН”, Москва). С целью определения референсных значений ИЛ-10 была исследована кровь 20 добровольцев от 25 до 50 лет без признаков инфекционных и сердечно-сосудистых заболеваний. Установлены референсные значения ИЛ-10 для городских жителей города Кемерово на уровне 2,98 (1,75-4,31) пг/мл. Взятие крови для определения биологических и генетических маркеров производилось на 11-13-е сутки госпитализации по поводу индексного ОКС.

На этапе госпитализации рецидив ИМ без летального исхода развился у 5 (2,8%) больных, ангинозные боли рецидивировали у 13 (7,3%) пациентов. Через год проводилась повторная оценка объема принимаемой пациентами терапии, подтверждался факт проведения реваскуляризации, наличия “конечных точек” (кардиоваскулярной смерти, госпитализаций по поводу ОНМК, ИМ, ИС). На годовом этапе “конечные точки” развились у 42 (23,5%) пациентов, прогрессирующая стенокардия — у 30 (16,8%) пациентов, кардиоваскулярная смертность в течение года составила 1,1% (n=2), нефатальный ИМ развился у шести (3,4%), ОНМК — у четырех (2,3%) пациентов.

Статистическая обработка результатов исследования осуществлялась с помощью программы SPSS версии 16.0 (США), калькулятор для расчета статистики в исследованиях “случай-контроль” Генэксперт (2013). Две независимые группы по количественному признаку сравнивались с помощью U-критерия Манна-Уитни. Анализ различия частот в двух независимых группах проводился при помощи точного критерия Фишера с двусторонней доверительной вероятностью, критерия χ^2 с поправкой Йетса. Различия в сравниваемых группах считались достоверными при уровне статистической значимости (p) менее 0,05.

Результаты

При сравнении концентраций ИЛ-10 у пациентов с ОКСбпСТ с референсными значениями уровня в крови здоровых жителей г. Кемерово выявлена зна-

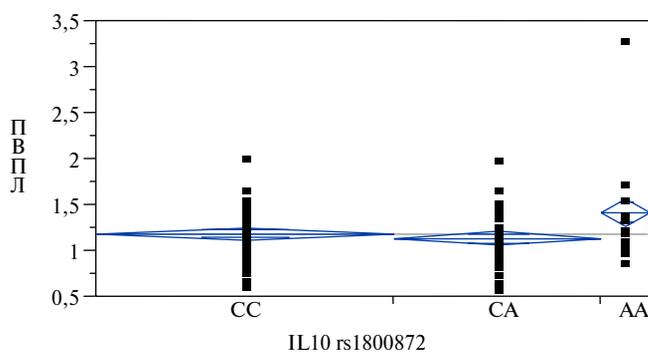


Рис. 1. Ассоциация rs1800872 *IL10* с уровнем ЛПВП у больных ОКСбпСТ.

чимо низкая концентрация данного цитокина у пациентов с ОКСбпСТ (0,38 против 2,98 пг/мл; $p=0,001$). При сравнении средних величин концентрации ИЛ-10 в группах благоприятного и неблагоприятного исхода значимых различий не установлено.

Частоты генотипов и аллелей полиморфизмов rs1800872 (C-592A) и rs3024491 (G-1082A) гена *IL10* для здоровых добровольцев и больных ОКСбпСТ представлены в таблице 2. Изучались ассоциации исследуемых полиморфизмов с различными клиническими показателями. Установлено, что носители генотипов C/C и C/A rs1800872 (C-592A) гена *IL10* достоверно чаще, чем носители генотипа A/A, имели ПИКС в анамнезе (29,0% и 42,9%, соответственно, против 6,7%, $p=0,01$). Выявлена тенденция к ассоциации генотипа C/C с СД 2 типа. Носители генотипа C/C имели СД 2 типа в 25,0% случаев, генотипа C/A — в 18,6% случаев ($p=0,07$). При этом, у больных с генотипом A/A не было ни одного случая СД 2 типа. Анализ частот аллелей показал, что у больных без СД 2 типа (n=147) частота аллели А составила 29,6%, тогда как у пациентов с СД 2 типа (n=38) — 17,1% ($p=0,03$, $\chi^2=4,77$). Носители генотипа A/A имели более высокую концентрацию ЛПВП в крови (рис. 1), чем носители генотипов C/A и C/C ((1,42 (1,27-1,57) против 1,14 (1,06-1,21) ммоль/л и 1,19 (1,12-1,24) ммоль/л, соответственно; $p=0,005$).

Таблица 3

Оценка частоты генотипов и аллелей гена *IL10* и их ассоциаций с наличием неблагоприятного исхода на годовом этапе у больных ОКСбпСТ

Генотип/ Аллель	Неблагоприятный годовой исход, n=42	Благоприятный исход, n=134	χ^2	p	OR	95% CI
Генотипы rs1800872 (C-592A) гена <i>IL10</i>			Общая модель наследования			
G/G	24 (57,1%)	69 (51,4%)	1,64	0,44	1,29	0,64-2,60
G/T	13 (30,9%)	56 (41,7%)			0,64	0,31-1,34
T/T	5 (11,9%)	11 (8,2%)			1,54	0,50-4,70
Аллели			Мультипликативная модель			
G	61 (72,6%)	194 (71,9%)	0,05	0,82	1,07	0,62-1,84
T	23 (27,4%)	78 (29,1%)			0,94	0,54-1,62
Генотипы rs3024491 (G-1082A) гена <i>IL10</i>			Общая модель наследования			
A/A	4 (9,5%)	23 (17,1%)	7,08	0,03	0,51	0,17-1,56
A/C	29 (69,0%)	61 (45,5%)			2,67	1,28-5,58
C/C	9 (21,5%)	50 (37,4%)			0,46	0,20-1,04
Аллели			Мультипликативная модель			
A	37 (44,1%)	107 (39,9%)	0,45	0,5	1,18	0,72-1,94
C	47 (55,9%)	161 (60,1%)			0,84	0,51-1,39

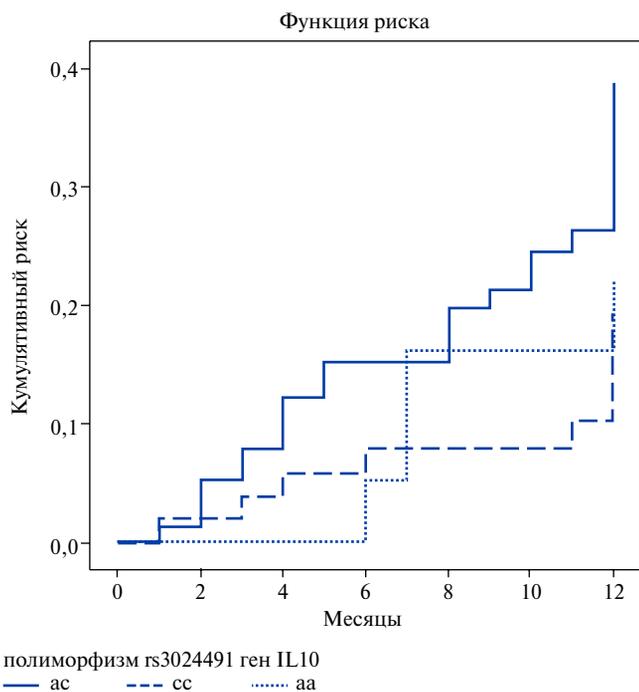


Рис. 2. Риск развития “конечных точек” в течение 12 месяцев в зависимости от генотипа полиморфизма rs3024491 гена *IL10* (метод Каплана-Мейера).

При исследовании взаимосвязи полиморфных вариантов rs1800872 (C-592A) и rs3024491 гена *IL10* с концентрацией цитокинов крови в нашем исследовании установлено, что носители генотипа А/А полиморфизма rs1800872 характеризовались большим уровнем ИЛ-10 по сравнению с носителями генотипов С/А и С/С (1,20 (0,57; 1,83) пг/мл против 0,38 (0,15; 0,61) пг/мл и 0,36 (0,14; 0,57) пг/мл, соответственно, p=0,04). Связи полиморфизма rs3024491

гена *IL10* с концентрацией цитокинов крови выявлено не было.

Анализ ассоциации изучаемых варибельных сайтов гена *IL-10* с неблагоприятными исходами в течение года показал, что генотип А/С rs3024491 (G-1082A) гена *IL10* ассоциирован с развитием неблагоприятного исхода в течение года после перенесенного ОКСбпСТ (табл. 3).

При анализе ассоциаций исследуемых полиморфизмов с госпитальным и отдаленным прогнозами достоверных данных в отношении rs1800872 (C-592A) гена *IL10* не получено. Анализ дожития до наступления “конечной точки” в течение 12 месяцев показал, что наиболее неблагоприятным является гетерозиготное носительство генотипа А/С rs3024491 (G-1082A) гена *IL10* (p=0,048). На рисунке 2 представлена оценка риска развития “конечных точек” в течение 12 месяцев в зависимости от генотипа полиморфного варианта rs3024491 гена *IL10*.

Обсуждение

В последнее время много внимания уделяется анализу возможных причин неблагоприятного отдаленного прогноза у больных ОКСбпСТ. Одной из причин рецидивирующей ишемии миокарда являются процессы неспецифического воспаления вследствие цитокинового дисбаланса в интима коронарных артерий [10]. Так, в исследовании Kirbis S, et al. (2010) проводилось сравнение интракоронарных концентраций интерлейкина-6, -8, -10 и С-реактивного белка у пациентов с ОКС и стабильной стенокардией. Выявлено достоверное повышение уровней ИЛ-6 и ИЛ-10 у больных ОКС [11]. Ранее выявлено неблагоприятное влияние на годовой прогноз у пациентов с ОКСбпСТ повышения концентрации TNF-α и ИЛ-8,

тогда как уровень противовоспалительного фактора ИЛ-10 был достоверно более высоким в группе стабильного течения ИБС и группе здоровых доноров [12]. Такие же результаты относительно ИЛ-10 получены и в нашем исследовании, что подтверждает противовоспалительную роль данного цитокина. Однако в литературе существуют неоднозначные мнения относительно влияния на прогноз ИЛ-10 у больных ОКС. Так, в работе Cavusoglu E, et al. (2011) установлено, что повышение концентрации ИЛ-10 достоверно связано с увеличением частоты развития неблагоприятных исходов (фатальный и нефатальный ИМ) в течение пяти лет наблюдения [13]. В то же время, в исследовании “CAPTURE”, включившем 1090 пациентов с ОКСбпСТ, наблюдавшихся в течение четырех лет, определялась прогностическая ценность уровней различных цитокинов, в том числе, ИЛ-10. У больных с повышенным уровнем ИЛ-10 отмечался сниженный риск смерти или повторного ИМ [14], в то время как сниженный уровень ИЛ-10 ассоциируется с коронарным атеросклерозом [15]. В нашем исследовании на годовой прогноз влияние ИЛ-10 доказано не было, что может быть связано с небольшой численностью пациентов, включенных в исследование. Кроме того, уровень продукции цитокинов обусловлен и рядом других факторов, одним из которых является генетическая детерминированность. Так, по нашим данным выявлена ассоциация генотипов С/С и С/А rs1800872 (С-592А) гена *IL10* с перенесенным ранее ИМ. При этом, не было получено достоверных различий в частотах генотипов и аллелей полиморфных вариантов rs1800872 (С-592А) и rs3024491 (G-1082А) гена *IL10* у пациентов с ОКСбпСТ и здоровых добровольцев, что позволяет экстраполировать полученные данные на генеральную совокупность. Нами установлено, что наиболее благоприятным в отношении ассоциации с ПИКС и СД 2 типа был генотип А/А rs1800872 (С-592А), в то время как по данным Коненкова В. И. (2011) не была установлена связь полимор-

физма С-592А *IL10* с ИМ в анамнезе [5]. Кроме того, нами показано, что носители генотипа А/А (и аллели А) характеризовались большим уровнем ИЛ-10 по сравнению с носителями генотипов С/А и С/С. Несмотря на это, в нашем исследовании носительство генотипа А/А полиморфизма rs1800872 *IL10* является прогностически благоприятным, так как ассоциируется с высоким уровнем ЛПВП и ИЛ-10, а также отсутствием СД 2 типа и ПИКС у носителей данного генотипа.

В отношении полиморфизма rs3024491(G-1082А) гена *IL10* установлена достоверно неблагоприятная прогностическая роль — генотип А/С ассоциировался с развитием “конечных точек” в течение 12 месяцев после ОКСбпСТ. Наши данные подтверждают результаты проведенных ранее исследований. Так, в исследовании Благодатских К. А. (2011) оценивались ассоциации долгосрочного прогноза (18 месяцев) с полиморфизмами G-174С гена *IL6*, G-1082А гена *IL10*, G-308А гена *TNF*, и Thr-26Asn гена *LTA*. Показано, что носители аллели А полиморфного маркера G-1082А гена *IL10* чаще имели неблагоприятный исход по сравнению с носителями генотипа G/G [16].

Заключение

Таким образом, генотип С/С полиморфизма rs1800872 (С-592А) может рассматриваться как фактор риска неблагоприятного течения заболевания, в то время как носительство генотипа А/А данного полиморфного варианта гена *IL10* не показало связи с неблагоприятными исходами для больных ОКСбпСТ. Носительство генотипа А/С rs3024491(G-1082А) гена *IL10* может рассматриваться как предиктор развития неблагоприятных исходов у больных ОКСбпСТ в течение года. Дальнейшее изучение влияния данных генотипов на течение нестабильных форм ИБС позволит выделить группу высокого риска повторных сосудистых катастроф и разработать методы их профилактики.

Литература

- Shalnova SA, Konradi AO, Karpov JuA, et al. Cardiovascular mortality in 12 Russian Federation regions — participants of the “Cardiovascular Disease Epidemiology in Russian Regions” study. *Russ J Cardiol* 2012; 5 (97): 6-11. (In Russ.) Шальнова С.А., Конради А.О., Карпов Ю.А. и др. Анализ смертности от сердечно-сосудистых заболеваний в 12 регионах Российской Федерации, участвующих в исследовании “эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний в различных регионах России”. *Российский кардиологический журнал* 2012; 5 (97): 6-11. DOI: 10.15829/1560-4071-2012-5-6-11.
- Suspitsina IN, Sukmanova IA. Risk factors and prediction of myocardial infarction in males of different age. *Russian Journal of Cardiology* 2016; 8 (136): 58-63. (In Russ.) Суспицына И.Н., Сукманова И.А. Факторы риска и прогнозирование развитие инфаркта миокарда у мужчин различных возрастных групп. *Российский кардиологический журнал* 2016; 8 (136): 58-63. DOI: 10.15829/1560-4071-2016-8-58-63.
- Vargas-Alarcón G, Fragoso JM, Delgado H. Acute coronary syndrome. *Physiopathology and genetics. Rev Invest Clin* 2011; 63 (1): 64-74.
- Aimagambetova AO, Karazhanova LK, Kotlyar A, Tokbulatova MO. Cytokine gene polymorphism with myocardial infarction in subjects of Russian nationality. *Science & Healthcare* 2016; 5: 121-30. (In Russ.) Аймагамбетова А.О., Каржанова Л.К., Котляр А., Токбулатова М.О. Полиморфизм генов цитокинов при инфаркте миокарда у лиц русской национальности. *Наука и здравоохранение* 2016; 5: 121-30. URL: <http://journal.ssmu.kz/index.php?statija=2103&lang=ru>.
- Konenkov VI, Shevchenko AV, Prokofiev VF, et al. Gene polymorphism of protein-regulators of the inflammation at atherosclerosis complicated with development of myocardial infarction. *Ateroskleroz* 2011; 1: 5-18. (In Russ.) Коненков В.И., Шевченко А.В., Прокофьев В.Ф. и др. Полиморфизм генов белков-регуляторов воспаления при атеросклерозе, осложненном развитием острого инфаркта миокарда. *Атеросклероз* 2011; 1: 5-18. URL: http://www.sibran.ru/journals/issue.php?ID=120735&ARTICLE_ID=131841.
- Ianni M, Callegari S, Rizzo A, et al. Pro-inflammatory genetic profile and familiarity of acute myocardial infarction. *Immunity & Ageing* 2012; 9: 14.
- Wang Y, Zheng J, Liu P, et al. Association between the Interleukin 10-1082G>A polymorphism and coronary heart disease risk in a Caucasian population: a meta-analysis. *Int J Immunogenet* 2012; 2: 144-50. DOI: 10.1111/j.1744-313X.2011.01072.x.
- Yu GI, Cho HC, Cho YK, et al. Association of promoter region single nucleotide polymorphisms at positions -819C/T and -592C/A of interleukin 10 gene with ischemic heart disease. *Inflamm Res* 2012; 8: 899-905. DOI: 10.1007/s00011-012-0482-2.

9. Berns SA, Schmidt EA, Makeeva OA, et al. Relationship between polymorphisms of G-1082A and C-592A loci of the IL10 gene and multifocal atherosclerosis in patients with acute coronary syndrome without segment ST elevation. *Klinicheskaja medicina* 2015; 11: 28-34. (In Russ.) Бернс С. А., Шмидт Е. А., Макеева О. А. и др. Связь полиморфизмов локусов G-1082A и C-592A гена IL10 с мультифокальным атеросклерозом у больных острым коронарным синдромом без подъема сегмента ST. *Клиническая медицина* 2015; 11: 28-34.
10. Min X, Lu M, Tu S, Wang X, et al. Serum cytokine profile in relation to the severity of coronary artery disease. *Biomed Res Int.* 2017; 2017: 4013685. DOI: 10.1155/2017/4013685.
11. Kirbis S, Breskvar UD, Sabovic M, et al. Inflammation markers in patients with coronary artery disease — comparison of intracoronary and systemic levels. *Wien Klin Wochenschr* 2010; 2: 31-4. DOI: 10.1007 / s00508-010-1343.
12. Barbarash OL, Avramenko OE, Osokina AV, et al. Role of inflammatory factors in evaluating prognosis of patients with unstable angina in combination with type 2 diabetes. *Saharnyj diabet* 2012; 4: 39-45. (In Russ.) Барбараш О.Л., Авраменко О.Е., Осокина А.В. и др. Роль провоспалительных факторов в оценке прогноза больных прогрессирующей стенокардией в сочетании с сахарным диабетом 2 типа. *Сахарный диабет* 2012; 4: 39-45. URL: <http://endojournals.ru/index.php/dia/article/view/5536>.
13. Cavusoglu E, Marmur JD, Hojjati MR, et al. Plasma interleukin-10 levels and adverse outcomes in acute coronary syndrome. *Am J Med* 2011; 8: 724-30. DOI: 10.1016/j.amjmed.2011.02.040.
14. Oemrawsingh RM, Lenderink T, Akkerhuis KM. Multimarker risk model containing troponin-T, interleukin 10, myeloperoxidase and placental growth factor predicts long-term cardiovascular risk after non-ST-segment elevation acute coronary syndrome. *Heart* 2011; 97: 1061-6.
15. Huo Y, Chu Y, Guo L, et al. Cortisol is associated with low frequency of interleukin 10-producing B cells in patients with atherosclerosis. *Cell Biochem Funct.* 2017; 35 (3): 178-83. DOI: 10.1002/cbf.3262.
16. Blagodatskikh KA. Studying of the association of polymorphic gene markers CRP, IL6, IL10, TNF and LTA with the development of adverse outcome in patients with acute coronary syndrome: Author. Dis. ... Cand. biol. Sciences: 03.01.03. Moscow 2011; p. 21. (In Russ.) Благодатских К.А. Изучение ассоциации полиморфных маркеров генов CRP, IL6, IL10, TNF и LTA с развитием неблагоприятного исхода у больных, перенёвших острый коронарный синдром: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.01.03. Москва 2011; 21 с.

АССОЦИАЦИЯ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ RS62116755 ГЕНА *GACAT3*, RS12170546 ГЕНА *PARVB*, RS16994849 ГЕНА *PLCB1*, RS78143315 ГЕНА *PDCD6IP* С ВНЕЗАПНОЙ СЕРДЕЧНОЙ СМЕРТЬЮ

Иванова А. А.¹, Максимов В. Н.^{1,2}, Малютина С. К.^{1,2}, Новоселов В. П.^{2,3}, Савченко С. В.^{2,3}, Воевода М. И.¹

Цель. Проверка ассоциации с внезапной сердечной смертью (ВСС) однонуклеотидных полиморфизмов rs62116755 гена *GACAT3*, rs12170546 гена *PARVB*, rs16994849 гена *PLCB1*, rs78143315 гена *PDCD6IP*, которые были выявлены в собственном полногеномном ассоциативном исследовании как молекулярно-генетические маркеры ВСС.

Материал и методы. Группа ВСС (n=388, средний возраст 52,9±9,2 лет, мужчины — 77,2%, женщины — 22,8%) сформирована с использованием критериев ВСС Всемирной Организации Здравоохранения и Европейского общества кардиологов. Группа контроля (n=387, средний возраст 52,4±8,8 лет, мужчины — 62,3%, женщины — 37,7%) подобрана по полу и возрасту из банка ДНК международных исследований MONICA, HAPIEE. ДНК выделена методом фенол-хлороформной экстракции. Генотипирование выполнено методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов.

Результаты. Не выявлено ассоциации с ВСС однонуклеотидных полиморфизмов rs62116755 гена *GACAT3*, rs78143315 гена *PDCD6IP*. В группе ВСС доля носителей генотипа ТТ полиморфизма rs12170546 гена *PARVB* статистически значимо больше, а генотипа ТС значимо меньше, чем в контрольной группе (ОШ =1,66, 95% ДИ 1,25-2,21, p=0,001; ОШ =0,67, 95% ДИ 0,50-0,90, p=0,009, соответственно). В группе младше 50 лет частота носителей генотипа GG полиморфизма rs16994849 гена *PLCB1* статистически значимо больше, а генотипа AA меньше по сравнению с контрольной группой (ОШ =4,92, 95% ДИ 1,01-23,20, p=0,032; ОШ =0,54, 95% ДИ 0,31-0,93, p=0,029, соответственно). В группе мужчин старше 50 лет доля носителей генотипа GG полиморфизма rs16994849 гена *PLCB1* значимо меньше, чем в контрольной группе (ОШ =0,11, 95% ДИ 0,01-0,91, p=0,024).

Заключение. Однонуклеотидные полиморфизмы rs62116755 гена *GACAT3*, rs78143315 гена *PDCD6IP* не связаны с ВСС. Генотип ТТ полиморфизма rs12170546 гена *PARVB* является генотипом риска ВСС, а генотип ТС обладает протективным эффектом в ее отношении. Генотип GG полиморфизма rs16994849 гена *PLCB1* является генотипом риска ВСС для лиц младше 50 лет и обладает протективным эффектом в группе старше 50 лет. Генотип AA полиморфизма rs16994849 гена *PLCB1* обладает протективным эффектом в отношении ВСС для лиц младше 50 лет.

Ключевые слова: внезапная сердечная смерть, GWAS, *GACAT3*, *PARVB*, *PLCB1*, *PDCD6IP*.

¹Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины — филиал ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск; ²ГБОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Новосибирск; ³Новосибирское областное клиническое бюро судебно-медицинской экспертизы, Новосибирск, Россия.

Иванова А. А.* — к.м.н., м.н.с. лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, Максимов В. Н. — д.м.н., доцент, зав. лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, профессор кафедры медицинской генетики и биологии медико-профилактического факультета, Малютина С. К. — д.м.н., профессор, профессор кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки врачей, зав. лабораторией этиопатогенеза и клиники внутренних заболеваний, Новоселов В. П. — д.м.н., профессор, начальник, Савченко С. В. — д.м.н., профессор, профессор кафедры судебной медицины лечебного факультета, Воевода М. И. — д.м.н., профессор, академик РАН, директор.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
ivanova_a_a@mail.ru

HAPIEE — Health, Alcohol and Psychosocial factors In Eastern Europe, MONICA — Multinational MONItoring of trends and determinants in Cardiovascular disease, ВСС — внезапная сердечная смерть, ЛПВП — липопротеины высокой плотности, ЛПНП — липопротеины низкой плотности, ОНП — однонуклеотидный полиморфизм.

Рукопись получена 12.05.2017
Рецензия получена 04.06.2017
Принята к публикации 13.06.2017

Российский кардиологический журнал 2017, 10 (150): 23–28

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-23-28>

ASSOCIATION OF THE MONONUCLEOTIDE POLYMORPHISMS RS62116755 OF GENE *GACAT3*, RS12170546 OF GENE *PARVB*, RS16994849 OF GENE *PLCB1*, RS78143315 OF GENE *PDCD6IP* WITH SUDDEN CARDIAC DEATH

Ivanova A. A.¹, Maksimov V. N.^{1,2}, Malyutina S. K.^{1,2}, Novoselov V. P.^{2,3}, Savchenko S. V.^{2,3}, Voevoda M. I.¹

Aim. To check the association of sudden cardiac death (SCD) with mononucleotide polymorphisms rs62116755 gene *GACAT3*, rs12170546 gene *PARVB*, rs16994849 gene *PLCB1*, rs78143315 gene *PDCD6IP*, that were set as genetic markers of SCD in previous full-genome associative original study.

Material and methods. Group of SCD (n=388, mean age 52,9±9,2 y.o., males — 77,2%, females — 22,8%) was formed by the SCD criteria of World Health Organization and European Society of Cardiology. Controls matched by sex and age (n=387, mean age 52,4±8,8 y.o., males — 62,3%, females — 37,7%) from the DNA banks of international studies MONICA, HAPIEE. Separation of DNA was done with the phenol-chloroform extraction. Genotyping was done by polymerase chain reaction with further polymorphism analysis of the lengths of restriction fragments.

Results. There was no association with SCD of the mononucleotide polymorphisms rs62116755 gene *GACAT3*, rs78143315 gene *PDCD6IP*. In SCD group the number

of TT carriers rs12170546 gene *PARVB* was significantly lower than in controls (OR =1,66, 95% CI 1,25-2,21, p=0,001; OR =0,67, 95% CI 0,50-0,90, p=0,009, respectively). In the group younger than 50 y.o. the number of GG carriers rs16994849 gene *PLCB1* was significantly higher, and of genotype AA — lower, comparing to the controls (OR =4,92, 95% CI 1,01-23,20, p=0,032; OR =0,54, 95% CI 0,31-0,93, p=0,029, respectively). In males older than 50 the part of GG carriers rs16994849 gene *PLCB1* was significantly lower than in control group (OR =0,11, 95% CI 0,01-0,91, p=0,024).

Conclusion. Mononucleotide polymorphisms rs62116755 gene *GACAT3*, rs78143315 gene *PDCD6IP* were not related to SCD. Genotype TT of polymorphism rs12170546 gene *PARVB* is a genotype of risk of SCD, and genotype TC is protective. Genotype GG of polymorphism rs16994849 gene *PLCB1* is the genotype of risk for SCD for those younger than 50 y.o. and is protective in those older than

50. Genotype AA of polymorphism rs16994849 gene *PLCB1* is protective against SCD in those younger 50 y.o.

Russ J Cardiol 2017, 10 (150): 23–28

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-23-28>

Key words: sudden cardiac death, GWAS, *GACAT3*, *PARVB*, *PLCB1*, *PDCD6IP*.

В ходе проведения собственного полногеномного ассоциативного исследования внезапной сердечной смерти (ВСС) был получен список возможных новых молекулярно-генетических маркеров ВСС. Исследование проведено в центре “Биоинженерия” РАН на платформе Illumina Omni1S-8v1H12, содержащей 1,2 млн маркеров. Для анализа на чипе использовали хранимую ДНК группы ВСС (200 мужчин) и контрольной группы (200 мужчин, участников проекта HAPIEE). Исследование проводилось в двух репликах. После попарного сравнения выборок по частотам полиморфизмов получен список возможных новых молекулярно-генетических маркеров ВСС [1]. Выявленные новыми высокотехнологичными методами молекулярно-генетические маркеры требуют обязательной проверки в исследованиях дизайна “случай-контроль” для исключения ложноположительных результатов. Таким образом, целью данного исследования является проверка ассоциации с ВСС некоторых однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП), выявленных в качестве молекулярно-генетических маркеров ВСС в собственном полногеномном ассоциативном исследовании.

Материал и методы

Дизайн исследования — “случай-контроль”.

Группа ВСС (n=388, средний возраст 52,9±9,2 лет, мужчины — 77,2%, женщины — 22,8%) сформирована с использованием критериев Всемирной Организации Здравоохранения и Европейского общества кардиологов. Согласно критериям, ВСС определяется как ненасильственная, неожиданная смерть, наступившая вследствие сердечной патологии, характеризующаяся развитием летального исхода в течение одного часа с момента возникновения острых симптомов. При отсутствии свидетелей смерти необходимо, чтобы состояние здоровья умершего оценивалось окружающими как стабильное и не вызывающее опасений в срок до 24 часов с установленного времени смерти [1]. В группу ВСС включены лица, умершие вне лечебно-профилактических учреждений на территории Октябрьского района г. Новосибирска, после проведения судебно-медицинского исследования причиной смерти которых была признана сердечная патология. Основные патологоанатомические диагнозы лиц, включенных в группу ВСС: острая коронарная недостаточность и острая недостаточность кровообращения, которые удовлет-

¹SRI of Therapy and Prevention Medicine — branch of FSBSI Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of SD RAS, Novosibirsk; ²Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk; ³Novosibirsk Oblast Clinical Bureau of Forensic Expertise, Novosibirsk, Russia.

воряют критериям ВСС Всемирной Организации Здравоохранения и Европейского общества кардиологов [2]. Из группы исключены лица, находившиеся в состоянии алкогольного и наркотического опьянения, которое могло спровоцировать развитие летального исхода. Также исключены лица с патологоанатомическими диагнозами гипертрофическая кардиомиопатия, острый инфаркт миокарда. В ходе проведения аутопсии у умерших забиралась ткань миокарда массой 5-10 г, которая хранилась в дальнейшем при температуре -20° С до этапа выделения ДНК.

Группа контроля (n=387, средний возраст 52,4±8,8 лет, мужчины — 62,3%, женщины — 37,7%) подобрана по полу и возрасту из банка ДНК международных исследований Multinational MONItoring of trends and determinants in CARDiovascular disease (MONICA) и Health, Alcohol and Psychosocial factors In Eastern Europe (HAPIEE). В ходе проведения исследований у участников была забрана венозная кровь в пробирки с ЭДТА, которая хранилась в дальнейшем при температуре -20° С до этапа выделения ДНК.

Выделение ДНК выполнено методом фенол-хлороформной экстракции из ткани миокарда и венозной крови [3].

Выбор ОНП из списка возможных новых молекулярно-генетических маркеров ВСС осуществлялся, учитывая локализацию, функциональную характеристику ОНП, частоту редкого аллеля в популяции, литературные данные по связи других ОНП гена, в котором локализован исследуемый ОНП, с ВСС, сердечно-сосудистой патологией или другой патологией, которая играет роль в патогенезе ВСС. Таким образом, выбраны четыре полиморфизма: rs62116755 гена *GACAT3*, rs12170546 гена *PARVB*, rs16994849 гена *PLCB1*, rs78143315 гена *PDCD6IP*.

Генотипирование по выбранным ОНП выполнено методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов. Детекцию продуктов амплификации и рестрикции осуществляли методом электрофореза в 5% полиакриламидном геле с последующим окрашиванием бромистым этидием (EtBr).

Для генотипирования по rs62116755 гена *GACAT3* использовали праймеры: 5'-GGAGTGACACTGGAACATCAGT -3'(F) и 5'-CAGGAAAAGTTGCTGAGTTGТАСТА -3'(R). Смесь для ПЦР объемом 25 мкл включала: Трис-НСI (рН 9,0) 75 мМ, (NH₄)₂SO₄ 20мМ, Tween-20,01%, 2,5 мМ

MgCl₂, по 0,3 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единицу активности Таq-ДНК-полимеразы (“СибЭнзим”, Новосибирск). Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 33 цикла, включающих денатурацию 95° С 30 сек, отжиг праймеров 56° С 30 сек и элонгацию 72° С 30 сек. Рестрикцию проводили с 10 единицами активности рестриктазы HaeIII (“СибЭнзим”, Новосибирск). Размер продукта амплификации 167 п.н. После проведения рестрикции при генотипе ТТ определялся продукт 167 п.н., при СС генотипе — продукты 89 п.н. и 78 п.н., при гетерозиготном генотипе СТ все перечисленные продукты: 167 п.н., 89 п.н., 78 п.н.

Для генотипирования по rs12170546 гена *PARVB* использовали праймеры: 5'-GGTGCCTGGCAAACAGA -3'(F) и 5'-TTCCACTTCCCAGGAGAC -3'(R). Смесь для ПЦР объемом 25 мкл включала: Трис-НСI (рН 9,0) 75 мМ, (NH₄)₂SO₄ 20мМ, Tween-20,01%, 2,5 мМ MgCl₂, по 0,4 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единицу активности Таq-ДНК-полимеразы (“СибЭнзим”, Новосибирск). Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 33 цикла, включающих денатурацию 95° С 30 сек, отжиг праймеров 58° С 30 сек и элонгацию 72° С 30 сек. Рестрикцию проводили с 10 единицами активности рестриктазы BamH I (“СибЭнзим”, Новосибирск). Размер продукта амплификации 115 п.н. После проведения рестрикции при генотипе ТТ определялся продукт 115 п.н., при СС генотипе — продукты 79 п.н. и 36 п.н., при гетерозиготном генотипе ТС все перечисленные продукты: 115 п.н., 79 п.н., 36 п.н.

Для генотипирования по rs16994849 гена *PLCB1*, использовали праймеры: 5'-ACTGATAATTTAGTGAATAAAGTGTCTG -3'(F) и 5'-AAGAAAAAGATCAGAGTTATCCTAAAA -3'(R). Смесь для ПЦР объемом 25 мкл включала: Трис-НСI (рН 9,0) 75 мМ, (NH₄)₂SO₄ 20мМ, Tween-20,01%, 3,0 мМ MgCl₂, по 0,8 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единицу активности Таq-ДНК-полимеразы (“СибЭнзим”, Новосибирск). Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 33 цикла, включающих денатурацию 95° С 30 сек, отжиг праймеров 58° С 30 сек и элонгацию 72° С 30 сек. Рестрикцию проводили с 10 единицами активности рестриктазы TaqI (“СибЭнзим”, Новосибирск). Размер продукта амплификации 189 п.н. После проведения рестрикции при генотипе GG определялся продукт 189 п.н., при AA генотипе — продукты 162 п.н. и 27 п.н., при гетерозиготном генотипе AG все перечисленные продукты: 189 п.н., 162 п.н., 27 п.н.

Для генотипирования по rs78143315 гена *PDCD6IP* использовали праймеры: 5'-CCTGGGGAATGGAGGTTGGGGATCTTAACAATCATG -3'(F) и 5'-TGAGCCCAATTAACSTCCACAGAAGCG -3'(R).

Смесь для ПЦР объемом 25 мкл включала: 10 мкл 2,5-кратной смеси для ПЦР-РВ №М-428 (ЗАО “Синтол”), 3,5 мМ MgCl₂, по 0,6 мМ каждого праймера. Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 33 цикла, включающих денатурацию 95° С 30 сек, отжиг праймеров 60° С 30 сек и элонгацию 72° С 30 сек. Рестрикцию проводили с 10 единицами активности рестриктазы AsplI (“СибЭнзим”, Новосибирск). Размер продукта амплификации 216 п.н. После проведения рестрикции при генотипе AA определялся продукт 216 п.н., при GG генотипе — продукты 192 п.н. и 24 п.н., при гетерозиготном генотипе GA все перечисленные продукты: 216 п.н., 192 п.н., 24 п.н.

Полученные результаты статистически обработаны с помощью пакета программ SPSS 16.0, определены частоты генотипов и аллелей, изучаемых ОНП в группе ВСС и в контрольной группе, в контрольной группе с использованием критерия хи-квадрат оценено соответствие частот генотипов равновесию Харди-Вайнберга. Сравнение групп по частотам генотипов и аллелей выполнено с помощью таблиц сопряженности с использованием критерия хи-квадрат по Пирсону. В случае четырёхпольных таблиц применен точный двусторонний критерий Фишера с поправкой Йетса на непрерывность. Относительный риск ВСС по конкретному аллелю или генотипу вычислен как отношение шансов (ОШ) с использованием точного двухстороннего критерия Фишера и критерия хи-квадрат по Пирсону. В качестве уровня значимости использовали $p < 0,05$.

С целью более полного понимания причастности ОНП к развитию ВСС в контрольной группе на предмет ассоциации с выбранными ОНП рассмотрены антропометрические (систолическое, диастолическое, пульсовое артериальное давление, частота сердечных сокращений, индекс массы тела, окружность талии), биохимические параметры (концентрация липопротеинов низкой (ЛПНП) и высокой плотности (ЛПВП), триглицеридов, общего холестерина, глюкозы), а в группе ВСС — данные морфологического исследования (масса сердца, толщина межжелудочковой перегородки, левого и правого желудочка). Нормальность распределения параметров исследована с использованием теста Колмогорова-Смирнова. При нормальном распределении дальнейшие расчеты проведены с использованием теста ANOVA, при отклонении от нормального распределения использован тест Крускалла-Уоллиса. В качестве уровня значимости также использовали $p < 0,05$.

Результаты

В контрольной группе наблюдаемые частоты генотипов ОНП rs62116755 гена *GACAT3*, rs12170546 гена *PARVB*, rs16994849 гена *PLCB1*, rs78143315 гена *PDCD6IP* соответствуют ожидаемым частотам

Таблица 1

Частоты генотипов и аллелей полиморфизмов rs62116755 гена GACAT3, rs78143315 гена PDCD6IP в группе ВСС и контрольной группе

ОНП	rs62116755 гена GACAT3				rs78143315 гена PDCD6IP				
	Группа ВСС		Контрольная группа		Генотип/аллель	Группа ВСС		Контрольная группа	
	n	%	n	%		n	%	n	%
ТТ	18	4,6	14	3,8	AA	1	0,3	1	0,3
СТ	109	28,2	103	27,7	GA	38	9,8	32	8,4
СС	260	67,2	255	68,5	GG	349	89,9	347	91,3
Достоверность различий (p)	0,81				Достоверность различий (p) 0,80				
Аллель Т	0,19		0,18		Аллель А	0,05		0,04	
Аллель С	0,81		0,82		Аллель G	0,95		0,96	

Таблица 2

Частоты генотипов и аллелей полиморфизма rs12170546 гена PARVB в группе ВСС и контрольной группе

Генотип/аллель	Группа ВСС		Контрольная группа	
	n	%	n	%
ТТ*	239	62,1	192	49,6
ТС*	123	31,9	159	41,1
СС	23	6,0	36	9,3
Достоверность различий (p)	0,002			
Аллель Т	0,78		0,7	
Аллель С	0,22		0,3	

Примечание: * — указывает на статистически значимые различия.

Таблица 4

Частоты генотипов и аллелей полиморфизма rs16994849 гена PLCB1 в группе младше 50 лет

Генотип/аллель	Группа ВСС		Контрольная группа	
	n	%	n	%
GG*	9	6,6	2	1,4
AG	35	25,7	27	19,1
AA*	92	67,6	112	79,5
Достоверность различий (p)	0,025			
Аллель G	0,19		0,11	
Аллель А	0,81		0,89	

Примечание: * — указывает на статистически значимые различия.

Таблица 3

Частоты генотипов и аллелей полиморфизма rs12170546 гена PARVB в группе мужчин

Генотип/аллель	Группа ВСС		Контрольная группа	
	n	%	n	%
ТТ*	181	65,6	119	49,4
ТС*	80	29,0	99	41,1
СС	15	5,4	23	9,5
Достоверность различий (p)	0,001			
Аллель Т	0,8		0,7	
Аллель С	0,2		0,3	

Примечание: * — указывает на статистически значимые различия.

Таблица 5

Частоты генотипов и аллелей полиморфизма rs16994849 гена PLCB1 в группе мужчин старше 50 лет

Генотип/аллель	Группа ВСС		Контрольная группа	
	n	%	n	%
GG*	1	0,6	7	5,3
AG	50	30,5	40	30,1
AA	113	68,9	86	64,7
Достоверность различий (p)	0,047			
Аллель G	0,16		0,2	
Аллель А	0,84		0,8	

Примечание: * — указывает на статистически значимые различия.

согласно равновесию Харди-Вайнберга ($\chi^2=0,78$; 0,14; 1,54; 0,08, соответственно).

По частотам генотипов и аллелей полиморфизмов rs62116755 гена GACAT3, rs78143315 гена PDCD6IP не выявлено статистически значимых различий между группами (табл. 1).

В группе ВСС доля носителей генотипа ТТ полиморфизма rs12170546 гена PARVB статистически значимо больше, а генотипа ТС значимо меньше, чем в контрольной группе (ОШ =1,66, 95% ДИ 1,25-2,21, p=0,001; ОШ =0,67, 95% ДИ 0,50-0,90, p=0,009, соответственно) (табл. 2). При разделении групп по полу и возрасту данные различия сохраняются только в группе мужчин (табл. 3). В группе мужчин для генотипа ТТ отношение шансов составляет 1,95 (95% ДИ

1,37-2,78, p=0,0002), а для генотипа ТС — 0,59 (95% ДИ 0,41-0,84, p=0,004).

В возрастной категории до 50 лет в группе ВСС частота носителей генотипа GG полиморфизма rs16994849 гена PLCB1 статистически значимо выше, а генотипа AA ниже по сравнению с контрольной группой (ОШ =4,92, 95% ДИ 1,01-23,20, p=0,032; ОШ =0,54, 95% ДИ 0,31-0,93, p=0,029, соответственно) (табл. 4). В группе мужчин старше 50 лет, умерших ВСС, доля носителей генотипа GG полиморфизма rs16994849 гена PLCB1 значимо меньше, чем в контрольной группе соответствующего пола и возраста (ОШ =0,11, 95% ДИ 0,01-0,91, p=0,024) (табл. 5).

В контрольной группе выявлена ассоциация генотипов полиморфизма rs62116755 гена GACAT3 с кон-

Таблица 6

Концентрация липопротеинов высокой плотности в зависимости от генотипа полиморфизма rs62116755 гена *GACAT3* в контрольной группе

Генотип	Концентрация липопротеинов высокой плотности Me (Q25-Q75), мг/дл	Достоверность различий (p)
ТТ	62,0 (53,0-69,5)	0,005
СТ	60,0 (52,0-72,25)	
СС	54,0 (46,25-66,0)	

Примечание: Me — медиана, Q25 — 25-й процентиль, Q75 — 75-й процентиль.

центрацией ЛПВП ($p=0,005$) (табл. 6). У носителей генотипа СС уровень ЛПВП значимо меньше, чем у носителей генотипов ТТ и ТС ($p=0,001$) (табл. 7). Также в контрольной группе выявлена ассоциация генотипов полиморфизма rs78143315 гена *PDCD61P* с концентрацией ЛПНП ($p=0,036$). У носителей генотипа GA концентрация ЛПНП ниже ($101,57 \pm 35,33$ мг/дл), чем у носителей генотипов AA и GG ($121,61 \pm 42,83$ мг/дл) ($p=0,019$). Кроме того, в группе ВСС у носителей генотипа GA толщина левого желудочка значимо больше, чем у носителей генотипов GG и AA ($p=0,005$) (табл. 8).

Обсуждение

Однонуклеотидные полиморфизмы rs62116755 гена *GACAT3*, rs12170546 гена *PARVB*, rs16994849 гена *PLCB1*, rs78143315 гена *PDCD61P*, согласно данным литературы, ранее не были включены ни в одно исследование.

Однонуклеотидный полиморфизм rs62116755 (g.16071334C>T) локализован в интроне гена *GACAT3*. Частота редкого аллеля Т в европейской популяции составляет около 12%. Ген *GACAT3* (gastric cancer associated transcript 3, 2p24.3) не является протеинкодирующим геном, его продуктом является транскрипт, ассоциированный с раком желудка [4]. Длинные некодирующие РНК играют важную роль в возникновении и развитии онкологических заболеваний. Длина таких транскриптов составляет более 200 нуклеотидов, они регулируют экспрессию генов на разных уровнях [5]. Показана связь транскрипта, кодируемого геном *GACAT3*, с размером опухоли, метастазированием и стадией по классификации TNM у пациентов с раком желудка. Однако роль *GACAT3* в патогенезе данной нозологии пока остается не известной [6]. Согласно полученным нами результатам, полиморфизм rs62116755 гена *GACAT3* не ассоциирован с ВСС. Однако выявлена связь полиморфизма с концентрацией ЛПВП. Носители генотипа СС имеют уровень ЛПВП значимо меньший, чем носители генотипов ТТ и ТС. Таким образом, возможно, полиморфизм rs62116755 гена *GACAT3* имеет отношение к нарушениям липидного обмена, но дан-

Таблица 7

Концентрация липопротеинов высокой плотности в зависимости от генотипа полиморфизма rs62116755 гена *GACAT3* в контрольной группе при использовании доминантной модели

Генотип	Концентрация липопротеинов высокой плотности Me (Q25-Q75), мг/дл	Достоверность различий (p)
ТТ+СТ	60,0 (52,25-72,0)	0,001
СС	54,0 (46,25-66,0)	

Примечание: Me — медиана, Q25 — 25-й процентиль, Q75 — 75-й процентиль.

Таблица 8

Толщина левого желудочка в зависимости от генотипа полиморфизма rs78143315 гена *PDCD61P* в группе ВСС

Генотип	Толщина левого желудочка Me (Q25-Q75), см	Достоверность различий (p)
GG+AA	1,5 (1,4-1,7)	0,005
GA	1,75 (1,6-1,98)	

Примечание: Me — медиана, Q25 — 25-й процентиль, Q75 — 75-й процентиль.

ное предположение требует дополнительного исследования в фокусной группе.

Однонуклеотидный полиморфизм rs12170546 локализован в интроне гена *PARVB* (с.112+2002T>C), частота редкого аллеля С в популяции составляет около 35%. Ген *PARVB* (parvin beta, 22q13.31) кодирует β -парвин, который является частью актинсвязывающих протеинов, которые играют роль в организации цитоскелета и клеточной адгезии [7]. Белок *PARVB* состоит из 364 аминокислот. Альтернативный сплайсинг гена *PARVB* приводит к синтезу двух протеинов, состоящих из 350 и 313 аминокислот [8]. В отличие от α -парвина и γ -парвина, β -парвин экспрессируется преимущественно в сердце и скелетной мускулатуре [9]. В селезенке и тромбоцитах экспрессируются в основном короткие формы β -парвина [8]. Изменения в гене играют роль в развитии рестеноза после проведения чрескожного коронарного вмешательства. Показана ассоциация с рестенозом для ряда полиморфизмов гена *PARVB*, наиболее статистически значимая ассоциация выявлена для полиморфизма rs139107 ($p<0,001$). Экстраклеточное ремоделирование, миграция и пролиферация гладкомышечных клеток сосудов считаются ключевыми процессами в развитии рестеноза. А β -парвин является модулятором клеточной выживаемости и играет важную роль в ангиогенезе [9]. Белок *PARVB* также имеет отношение к опухолевой супрессии [7]. Полученные нами результаты позволяют сделать вывод, что генотип ТТ полиморфизма rs12170546 гена *PARVB* является генотипом риска ВСС, а генотип ТС обладает протективным эффектом в ее отношении. При этом при разделении групп по полу и возрасту различия сохраня-

ются в группе мужчин, что говорит о наибольшем развитии эффекта генотипов полиморфизма в отношении ВСС именно в группе мужчин.

Однонуклеотидный полиморфизм rs16994849 локализован в интроне гена *PLCB1* (с.247-118080A>G), частота редкого аллеля G в европейской популяции составляет около 14%. Ген *PLCB1* (phospholipase C beta 1, 20p12.3) кодирует одну из четырех изоформ фермента фосфолипазы бета, которая катализирует образование инозитол 1,4,5-трифосфата и диацилглицерола из фосфатидинозитол 4,5-бисфосфата. Эта реакция играет важную роль во внутриклеточной передаче многих внеклеточных сигналов [10]. Гиперэкспрессия гена вызывает развитие гипертрофии кардиомиоцитов. В ряде крупных исследований показана связь вариантов гена *PLCB1* с уровнем аполипотеина В, холестерина, ЛПВП крови, индексом массы тела и инсультом. Варианты в гене *PLCB1* связывают с предрасположенностью к образованию аневризм коронарных артерий у пациентов с синдромом Кавасаки [11]. Согласно результатам нашего исследования, генотип GG полиморфизма rs16994849 гена *PLCB1* является генотипом риска, а генотип AA обладает протективным эффектом в отношении ВСС для лиц младше 50 лет. В группе старше 50 лет генотип GG полиморфизма связан с протективным эффектом в отношении ВСС. Таким образом, полученные нами данные об ассоциации генотипа GG полиморфизма с ВСС являются довольно противоречивыми, что может быть связано с недостаточно большими по численности возрастными группами. Чтобы сделать однозначные выводы об ассоциации полиморфизма rs16994849 гена *PLCB1* с ВСС, необходимо провести дополнительное исследование с увеличением численности групп.

Однонуклеотидный полиморфизм rs78143315 локализован в интроне гена *PDCD6IP* (с.209+3156G>A). Частота редкого аллеля A в европейской популяции составляет около 4%. Ген *PDCD6IP* (programmed cell death 6 interacting protein, 3p22.3) кодирует протеин,

который играет роль в цитокинезе, формировании внутриполостных эндосом. Гиперэкспрессия гена может блокировать апоптоз [12]. Ген *PDCD6IP* относят к генам онкологической предрасположенности [13]. По результатам проведенного исследования не выявлено ассоциации с ВСС полиморфизма rs78143315 гена *PDCD6IP*. Однако показана ассоциация полиморфизма с концентрацией ЛПНП в группе контроля и толщиной левого желудочка в группе ВСС, что может говорить о связи ОНП с липидным обменом и гипертрофией миокарда, но полученные результаты требуют обязательной проверки в целевых группах по данным нарушениям.

Заключение

Генотип ТТ полиморфизма rs12170546 гена *PARVB* является генотипом риска ВСС, а генотип ТС обладает протективным эффектом в ее отношении, с большим развитием эффекта в группе мужчин. Генотип GG полиморфизма rs16994849 гена *PLCB1* является генотипом риска ВСС для лиц младше 50 лет и обладает протективным эффектом в группе старше 50 лет. В связи с неоднозначностью полученных результатов требуется дополнительное исследование на больших по размеру группах. Генотип AA полиморфизма rs16994849 гена *PLCB1* обладает протективным эффектом в отношении ВСС для лиц младше 50 лет.

Не выявлено ассоциации с ВСС однонуклеотидных полиморфизмов rs78143315 гена *PDCD6IP* и rs62116755 гена *GACAT3*. Показана ассоциация полиморфизма rs78143315 гена *PDCD6IP* с уровнем ЛПНП и толщиной левого желудочка, а полиморфизма rs62116755 гена *GACAT3* с уровнем ЛПВП.

Благодарности. Исследование выполнено при поддержке стипендии Правительства Новосибирской области. Кроме того, работа частично поддержана бюджетными проектами № 0324-2016-0002 и № 0120.0502961.

Литература

- Babenko VN, Maximov VN, Kulakova EV, et al. Genome analysis of pull DNA in human cohort. *Vavilovsky zhurnal genetiki i selektsii*, 2014; 18 (4-2): 847-55. (In Russ.) Бабенко В.Н., Максимов В.Н., Кулакова Е.В. и др. Полногеномный анализ пулированных выборок ДНК когорт человека. *Вавиловский журнал генетики и селекции*, 2014; 18 (4-2): 847-55.
- Priori SG, Aliot E, Blomstrom-Lundqvist C, et al. The Task Force for the Management of Patients with Ventricular Arrhythmias and the Prevention of Sudden Cardiac Death of the European Society of Cardiology (ESC). *Europace* 2015; 17 (11): 1601-87.
- Sambrook J, Russell DW. Purification of nucleic acids by extraction with phenol: chloroform. *CSH Protoc.* 2006; 2006 (1).
- GACAT3 gastric cancer associated transcript 3 (non-protein coding) [Homo sapiens (human)]. Database Gene. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/104797537> (20 April 2017)
- Sun W, Yang Y, Xu C, et al. Roles of long noncoding RNAs in gastric cancer and their clinical applications. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2016; 142 (11): 2231-7.
- Shen W, Yuan Y, Zhao M, et al. Novel long non-coding RNA GACAT3 promotes gastric cancer cell proliferation through the IL-6/STAT3 signaling pathway. *Tumour Biol.* 2016; 37 (11): 14895-902.
- PARVB parvin beta [Homo sapiens (human)]. Database Gene. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/29780> (20 April 2017)
- Sepulveda JL, Wu C. The parvins. *Cell Mol Life Sci.* 2006; 63 (1): 25-35.
- Verschuren JJ, Trompet S, Sampietro ML, et al. Pathway analysis using genome-wide association study data for coronary restenosis — a potential role for the PARVB gene. *PLoS One.* 2013; 8 (8): e70676.
- PLCB1 phospholipase C beta 1 [Homo sapiens (human)]. Database Gene. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/23236> (20 April 2017)
- Lin YJ, Chang JS, Liu X, et al. Genetic variants in PLCB4/PLCB1 as susceptibility loci for coronary artery aneurysm formation in Kawasaki disease in Han Chinese in Taiwan. *Sci Rep.* 2015; 5: 14762.
- PDCD6IP programmed cell death 6 interacting protein [Homo sapiens (human)]. Database Gene. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/10015> (20 April 2017)
- Yu Q, Zhou C, Wang J, et al. A functional insertion/deletion polymorphism in the promoter of PDCD6IP is associated with the susceptibility of hepatocellular carcinoma in a Chinese population. *DNA Cell Biol.* 2013; 32 (8): 451-7.

ГЕНОТИП -786СС ГЕНА ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ NO-СИНТАЗЫ NOS3 КАК ФАКТОР НЕБЛАГОПРИЯТНОГО ТЕЧЕНИЯ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА И РИСКА ПОВЫШЕННОЙ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ НА ФОНЕ ПРИЕМА АНТИАГРЕГАНТОВ

Муслимова Э. Ф., Реброва Т. Ю., Афанасьев С. А., Сергиенко Т. Н., Репин А. Н.

Цель. Изучить ассоциации полиморфизма T-786C гена NOS3 с тяжестью течения ишемической болезни сердца (ИБС) и с агрегационной активностью тромбоцитов в выборке пациентов, принимающих клопидогрел и препараты ацетилсалициловой кислоты (АСК) после планового стентирования коронарных артерий.

Материал и методы. В исследование включены 203 мужчины с ИБС, принимающие препараты АСК и клопидогрел в рамках двойной антиагрегантной терапии после планового коронарного вмешательства. Выполнен тест индуцированной агрегации тромбоцитов с аденозиндифосфатом (АДФ) (2,5 мкМ и 5,0 мкМ) и эпинефрином (0,2 мкМ). Генотипирование провели с помощью аллель-специфичной полимеразной цепной реакции ("SNP-экспресс", НПФ Литех, Россия). Статистическую обработку результатов проводили с помощью тестов Манна-Уитни, Крускала-Уолиса и критерия χ^2 Пирсона или двустороннего точного теста Фишера. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. В исследуемой выборке генотипы -786ТТ, -786ТС, -786СС встречались с частотами 72 (35,4%), 99 (48,8%), 32 (15,8%), соответственно. Для носителей генотипа -786СС характерна наибольшая степень агрегации тромбоцитов при индукции АДФ в концентрации 2,5 мкмоль ($p=0,047$) и при индукции эпинефрином ($p=0,008$). Носители генотипа -786ТС имели наименьшую фракцию выброса ЛЖ ($p=0,035$).

Заключение. В выборке мужчин, больных ИБС, носительство генотипа -786СС полиморфизма T-786C гена NOS3 оказалось сопряжено с высокой агрегацией тромбоцитов в ответ на индукцию АДФ и эпинефрином на фоне приема клопидогрела и препаратов АСК. Для этих пациентов носительство генотипа -786СС гена NOS3 может быть предиктором неблагоприятного развития ИБС.

Российский кардиологический журнал 2017, 10 (150): 29–32
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-29-32>

Ключевые слова: полиморфизм, NOS3, ИБС, агрегация тромбоцитов.

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, Россия.

Муслимова Э. Ф.* — к.м.н., м.н.с. лаборатории молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики, Реброва Т. Ю. — к.м.н., н.с. лаборатории молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики, Афанасьев С. А. — д.м.н., профессор, руководитель лаборатории молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики, Сергиенко Т. Н. — к.м.н., н.с. отделения реабилитации больных ССЗ, Репин А. Н. — д.м.н., профессор, руководитель отделения реабилитации больных ССЗ.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
 muslimovEF@yandex.ru

NO — оксид азота, АДФ — аденозиндифосфат, АСК — ацетилсалициловая кислота, ИБС — ишемическая болезнь сердца, ИМ — инфаркт миокарда, ЛЖ — левый желудочек, НТГ — нарушение толерантности к глюкозе, СД — сахарный диабет, ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания, ФК — функциональный класс, ХСН — хроническая сердечная недостаточность.

Рукопись получена 16.05.2017

Рецензия получена 04.06.2017

Принята к публикации 13.06.2017

GENOTYPE -786CC OF THE ENDOTHELIAL NITRIC OXIDE SYNTHASE GENE NOS3 AS A FACTOR OF ADVERSE CORONARY HEART DISEASE COURSE AND INCREASED ON-TREATMENT PLATELET AGGREGATION

Muslimova E. F., Rebrova T. Yu., Afanasiev S. A., Sergienko T. N., Repin A. N.

Aim. To assess the associations of polymorphism T-786C gene NOS3 with the severity of clinical course of coronary heart disease (CHD) and platelet aggregability in the selection of patients receiving clopidogrel and acetylsalicylic acid (ASA) compounds after selective coronary intervention.

Material and methods. In the study, 203 CHD males included, taking ASA and clopidogrel as double antiplatelet therapy for coronary intervention. The test performed, of induced platelet aggregation with adenosine diphosphate (ADP) (2,5 mcM and 5,0 mcM) and epinephrine (0,2 mcM). Genotyping was done with the allele specific polymerase chain reaction ("SNP-express", SPF Litekh, Russia). Statistics was done with Mann-Whitney test, Kruskal-Wallis test and Pearson chi-square or bi-test by Fisher. Differences were taken as significant at $p < 0,05$.

Results. In the studied group, genotypes -786ТТ, -786ТС, -786СС were found with the prevalences 72 (35,4%), 99 (48,8%), 32 (15,8%), respectively. For the carriers of -786СС there was found highest grade of platelet aggregation with ADP 2,5 mcM

($p=0,047$) and with epinephrine ($p=0,008$). Carriers of -786ТС had the highest left ventricle ejection fraction ($p=0,035$).

Conclusion. In the selection of CHD males taking ASA and clopidogrel, carriage of -786СС polymorphism T-786C gene NOS3 was related to higher platelet aggregation in response to ADP and epinephrine. For these patients, the carriage of genotype -786СС gene NOS3 might be a predictor of thrombotic complications after coronary stenting and more adverse outcome of CHD.

Russ J Cardiol 2017, 10 (150): 29–32

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-29-32>

Key words: polymorphism, NOS3, CHD, platelet aggregation.

SRI of Cardiology, Tomsk National Research Medical center of RAS, Tomsk, Russia.

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) остается одним из наиболее социально значимых сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). В его основе лежат нарушения кровотока в коронарных артериях, вызванные атеросклерозом — комплексным патологическим процессом, развивающимся в стенках кровеносных

сосудов [1]. Развитие атеросклеротического повреждения сосудов обусловлено, в том числе, эндотелиальной дисфункцией. Её возникновение сопряжено с изменением продукции оксида азота (NO). Установлено, что NO играет ключевую роль в релаксации, снижении миграции и пролиферации гладкомышечных клеток,

участвует в ингибировании адгезии тромбоцитов и лейкоцитов к эндотелию, а также окисления липопротеинов низкой плотности. Образование NO регулируется через изменение экспрессии или активности фермента эндотелиальной NO-синтазы [2].

Эндотелиальная NO-синтаза кодируется геном *NOS3* (gene ID 4846; MIM 163729). Описан ряд полиморфизмов этого гена, и полиморфизм T-786C (rs2070744; NM_000603.4:c.-51-762C>T) предложено рассматривать в качестве возможного предиктора ИБС. Показано, что мутация T-786C в промоторной области гена *NOS3* приводит к снижению его транскрипции, что определяет недостаток наработки фермента и является причиной снижения синтеза и высвобождения NO [3, 4]. Отмечено наличие ассоциации аллеля -786C с острым инфарктом миокарда [5], артериальной гипертензией [6], а также инсулинорезистентностью [7].

С учетом вышеизложенного, представляется важным изучить ассоциацию полиморфизма T-786C гена *NOS3* не только с тяжестью течения ИБС, но с агрегационной активностью тромбоцитов в выборке пациентов, принимающих клопидогрел и препараты ацетилсалициловой кислоты после стентирования коронарных артерий.

Материал и методы

В работе соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией 1975г, пересмотренной в 1989г в Гонконге. Протокол исследова-

ния одобрен Комитетом по биомедицинской этике НИИ кардиологии. Все пациенты дали информированное согласие на участие в исследовании.

В исследование включены 203 пациента мужского пола, у которых была диагностирована ИБС в форме стенокардии напряжения и перенесенного инфаркта миокарда (ИМ). Все пациенты перенесли плановое чрескожное коронарное вмешательство со стентированием коронарных артерий. В выборку не включали пациентов, у которых имели место следующие факторы: ИМ менее 6 месяцев до начала исследования или острый коронарный синдром в период пребывания в стационаре, хроническая сердечная недостаточность (ХСН) IV функционального класса (ФК) по классификации Нью-Йоркской Ассоциации Кардиологов, тяжелая сопутствующая патология (онкологические заболевания, тяжелая форма печеночной недостаточности, хроническая болезнь почек, ХОБЛ). Пациенты наблюдались в отделении реабилитации больных ССЗ НИИ кардиологии (г. Томск), где им была назначена стандартная антиангинальная и двойная антиагрегантная терапия, включающая препараты ацетилсалициловой кислоты (АСК) и клопидогрел. В период нахождения в стационаре всем пациентам были проведены стандартные инструментальные и лабораторные обследования. Клиническая характеристика больных ИБС представлена в таблице 1.

Функциональную активность тромбоцитов на фоне приема клопидогрела (75 мг) и АСК (75-100 мг) определяли методом оптической агрегометрии с использованием оригинальных реактивов на приборе AggRAMTM (Helena Laboratories, Великобритания). В качестве индукторов агрегации были использованы аденозиндифосфат (АДФ) в концентрациях 2,5 и 5,0 мкмоль, а также эпинефрин (адреналин) в концентрации 0,2 мкмоль. За 0% агрегации принимали оптическую плотность обогащенной тромбоцитами плазмы, за 100% агрегации — бедной тромбоцитами плазмы.

Образцы ДНК получали из лейкоцитов венозной крови с использованием набора “Wizard Genomic DNA Purification Kit” (Promega, США). Амплификацию проводили методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции с использованием коммерческого набора “SNP-экспресс” (НПФ Литех, Россия) на термоджеле T-100 (Bio-Rad, США). Детекцию продуктов осуществляли электрофоретически в 3% агарозном геле с добавлением бромистого этидия.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ SPSS v.13.0 (IBM, США). Для анализа количественных данных использовали тест Манна-Уитни и тест Крускала-Уоллиса. При получении значимых различий между несколькими группами проводились попарные сравнения с поправкой на множественность. Для оценки соответствия распределения генотипов равновесию Харди-Вайнберга использовали

Таблица 1

Клиническая характеристика пациентов

Показатель	Значение
Возраст (Me (Q1; Q3) лет)	57 (52; 63) (n=203)
Инфаркт миокарда в анамнезе, n (%)	158 (77,8)
Возраст первичного инфаркта миокарда (Me (Q1; Q3) лет)	53 (45; 57) (n=158)
Стенокардия I/II/III ФК, n (%):	43 (23,9)/86 (47,8)/51 (28,3)
ХСН I/II/III ФК, n (%):	51 (26,4)/101 (52,3)/41 (21,3)
Фракция выброса левого желудочка (Me (Q1; Q3) %)	62 (55; 65) (n=165)
Уровень общего холестерина (Me (Q1; Q3) ммоль/л)	4,9 (4,2; 5,9) (n=172)
Уровень триацилглицеролов (Me (Q1; Q3) ммоль/л)	1,69 (1,30; 2,34) (n=156)
Уровень глюкозы (Me (Q1; Q3) ммоль/л)	5,7 (5,4; 6,2) (n=179)
Ожирение, n (%)	72 (35,5)
Артериальная гипертензия, n (%)	176 (86,7)
Гипертрофия левого желудочка, n (%)	49 (24,1)
Сахарный диабет 2-го типа, n (%)	34 (16,7)
Нарушение толерантности к глюкозе, n (%)	23 (11,3)
Агрегация с АДФ 2,5 (Me (Q1; Q3) %)	33,4 (24,4; 41,7) (n=129)
Агрегация с АДФ 5,0 (Me (Q1; Q3) %)	46,8 (37,9; 55,7) (n=144)
Агрегация с эпинефрином (Me (Q1; Q3) %)	53,5 (41,7; 67,3) (n=112)

Сокращения: Me — медиана, Q1, Q3 — 25-й и 75-й перцентили, АДФ — аденозиндифосфат, ФК — функциональный класс, ХСН — хроническая сердечная недостаточность.

Таблица 2

Степень агрегации (%) тромбоцитов у больных ИБС в зависимости от индуктора и полиморфных вариантов гена *NOS3*

Индуктор агрегации тромбоцитов	Генотипы <i>NOS3</i>			p
	ТТ	ТС	СС	
Индукция с АДФ 2,5 (Ме (Q1; Q3) %)	31,1 (22,2; 36,6) (n=43)	32,4 (25,6; 41,3) (n=55)	38,0 (28,9; 53,3) (n=22)	0,047
Индукция с АДФ 5,0 (Ме (Q1; Q3) %)	44,5 (39,3; 51,7) (n=49)	47,3 (37,6; 57,4) (n=62)	49,5 (39,5; 68,1) (n=24)	0,190
Индукция эпинефрином (Ме (Q1; Q3) %)	52,9 (43,2; 60,2) (n=38)	49,9 (36,5; 63,7) (n=53)	68,2 (50,5; 76,6) (n=21)	0,008

Сокращения: Ме — медиана, Q1, Q3 — 25-й и 75-й перцентили, p — уровень значимости при сравнении групп генотипов ТТ, ТС, СС, АДФ — аденозиндифосфат.

Таблица 3

Клиническая характеристика течения ИБС в зависимости от полиморфных вариантов гена *NOS3*

Показатель	Генотипы <i>NOS3</i>			p
	ТТ	ТС	СС	
Возраст (Ме (Q1; Q3) лет)	59 (54; 65,5) (n=72)	57 (50,5; 63) (n=99)	56 (52,5; 61) (n=32)	0,165
Возраст первичного ИМ (Ме (Q1; Q3) лет)	52,5 (46; 57) (n=54)	53 (45; 58,5) (n=71)	53 (45; 57) (n=26)	0,976
Стенокардия I/II/III ФК, n (%)	19 (31,2)/21 (34,4)/21 (34,4)	20 (22,2)/50 (55,6)/20 (22,2)	4 (13,8)/15 (51,7)/10 (34,5)	0,073
ХСН I/II/III ФК, n (%)	18 (26,5)/31 (45,6)/19 (27,9)	22 (23,4)/57 (60,6)/15 (16,0)	11 (35,5)/13 (41,9)/7 (22,6)	0,168
Фракция выброса ЛЖ (Ме (Q1; Q3) %)	63 (56; 67) (n=57)	61 (53,5; 64) (n=82)	63 (60; 65) (n=26)	0,035
АГ, n (%)	61 (84,7)	87 (87,9)	28 (87,5)	0,826
Гипертрофия ЛЖ, n (%)	14 (19,4)	30 (30,3)	5 (15,6)	0,123
Наличие СД и НТГ, n (%)	22 (30,6)	31 (31,3)	4 (12,5)	0,101
Глюкоза (Ме (Q1; Q3) ммоль/л)	5,7 (5,3; 6,1) (n=65)	5,9 (5,4; 6,3) (n=88)	5,7 (5,4; 6,0) (n=26)	0,301
Ожирение, n (%)	22 (30,6)	36 (36,4)	14 (43,8)	0,416
ОХС (Ме (Q1; Q3) ммоль/л)	4,8 (4,3; 5,5) (n=61)	5,0 (4,1; 6,0) (n=86)	5,4 (3,8; 5,9) (n=25)	0,940
ТАГ (Ме (Q1; Q3) ммоль/л)	1,71 (1,33; 2,39) (n=4)	1,68 (1,28; 2,36) (n=79)	1,70 (1,30; 2,18) (n=23)	0,934

Сокращения: Ме — медиана, Q1, Q3 — 25-й и 75-й перцентили, p — уровень значимости при сравнении групп генотипов ТТ, ТС, СС, АГ — артериальная гипертензия, ИМ — инфаркт миокарда, ЛЖ — левый желудочек, ОХС — общий холестерин, НТГ — нарушение толерантности к глюкозе, СД — сахарный диабет 2-го типа, ТАГ — триацилглицерол, ФК — функциональный класс, ХСН — хроническая сердечная недостаточность.

критерий χ^2 Пирсона. Для сравнения дискретных величин использовали критерий χ^2 Пирсона или двусторонний точный тест Фишера. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

На начальном этапе исследования в сформированной выборке пациентов были определены частоты встречаемости генотипов и аллелей полиморфизма T-786C гена *NOS3*. Частота генотипов -786ТТ, -786ТС и -786СС среди больных ИБС составляла, соответственно, 72 (35,4%), 99 (48,8%) и 32 (15,8%), а их распределение не противоречило равновесию Харди-Вайнберга ($p=0,833$).

При этом, аллель -786С встречался в выборке с частотой 40%, что сопоставимо с данными, полученными другими исследователями для пришлой, русской популяции города Томска [8].

Между группами пациентов, являющихся носителями разных генотипов, был проведен сравнительный анализ функциональной активности тромбоцитов на фоне приема антиагрегантов. Результаты этого исследования представлены в таблице 2. Оказалось, что наибольшая степень агрегации тромбоцитов при индукции АДФ в концентрации 2,5 мкмоль и при индукции

эпинефрином была характерна для носителей генотипа -786СС. При попарном сравнении групп статистически значимые различия по агрегации тромбоцитов с АДФ 2,5 мкмоль обнаружены между гомозиготами -786ТТ и -786СС ($p=0,048$). При сравнении групп по эпинефрин-индуцированной агрегации статистически значимые различия показаны между пациентами с генотипами -786ТТ и -786СС ($p=0,033$) и между пациентами с генотипами -786ТС и -786СС ($p=0,009$).

Также между носителями генотипов -786ТТ, -786ТС и -786СС была проведена сравнительная оценка показателей, отражающих тяжесть течения ИБС. Соответствующие результаты представлены в таблице 3. Рассматриваемые группы оказались сопоставимы по таким клиническим характеристикам, как частота встречаемости случаев I, II, III ФК стенокардии и ХСН. Но обнаружены и различия. Так, носители гетерозиготного генотипа -786ТС характеризовались наименьшим значением фракции выброса левого желудочка (ЛЖ) по сравнению с носителями генотипа -786ТТ ($p=0,048$ при попарном сравнении).

Обсуждение

Установлено, что при однонуклеотидном полиморфизме T-786C гена *NOS3* имеет место понижен-

ная транскрипция этого гена и недостаток выработки фермента эндотелиальной NO-синтазы. В результате нарушается синтез NO, что провоцирует развитие эндотелиальной дисфункции [2, 3]. В совокупности с другими факторами риска, развитие дисфункции эндотелия способствует возникновению и прогрессированию ИБС [9].

В научной литературе представлено достаточно материала, демонстрирующего связь полиморфизма T-786C гена *NOS3* с риском развития ССЗ. Так, для носителей аллеля -786C характерен повышенный тонус венечных артерий и склонность к коронарному спазму, что служит основой для развития ИБС [4]. Установлена ассоциация между генотипом -786CC гена *NOS3* и риском ОИМ [5]. Есть сведения о том, что полиморфизм T-786C ассоциирован с риском развития резистентной к лекарственной терапии артериальной гипертензии [6].

В нашей выборке больных ИБС мы не обнаружили статистически значимые различия между носителями генотипов -786TT, -786TC и -786CC по частоте встречаемости I, II, III ФК стенокардии и ХСН. Также не выявлено различий между рассматриваемыми группами в распределении случаев артериальной гипертензии, гипертрофии ЛЖ, нарушений углеводного обмена и ожирения. Тем не менее, и в нашем исследовании для пациентов, являющихся носителями генотипа -786TC, была характерна меньшая фракция выброса ЛЖ.

Общепринятой практикой, направленной на предотвращение прогрессирования ИБС и тромботических осложнений, особенно, после чрескожного коронарного вмешательства, является назначение таким пациентам антиагрегантных препаратов [10]. Активно изучаются и полиморфизмы генов, влияющих на метаболизм лекарственных препаратов,

например, полиморфизмы гена цитохрома P-450 *CYP2C19*, и таким образом определяющих эффективность антиагрегантной терапии [11]. Но известно, что процесс тромбообразования в значительной мере определяется состоянием эндотелия сосудов. Синтезируемый эндотелиальными клетками оксид азота участвует в ингибировании адгезии тромбоцитов и лейкоцитов к эндотелию и замедлении образования тромбов в артериях. В результате снижения синтеза NO, эндотелий может менять свой антитромботический потенциал на тромбогенный [2]. Таким образом, полиморфизм T-786C гена *NOS3* может определять эффективность подавления функциональной активности тромбоцитов антиагрегантными препаратами, в том числе, клопидогрелом и АСК.

Действительно, мы выявили у носителей генотипа -786CC повышенную степень агрегации тромбоцитов в ответ на индукцию АДФ и эpineфрином на фоне приема клопидогрела и препаратов АСК. В свою очередь, более высокая активность тромбоцитов у гомозигот -786CC может, несмотря на антиагрегантную терапию, являться фактором риска как тромботических осложнений коронарных вмешательств, так и неблагоприятного течения ИБС.

Заключение

В выборке мужчин, больных ИБС, носительство генотипа -786CC полиморфизма T-786C гена *NOS3* оказалось сопряжено с высокой агрегацией тромбоцитов в ответ на индукцию АДФ и эpineфрином на фоне приема клопидогрела и препаратов АСК. Для этих пациентов носительство генотипа -786CC гена *NOS3* является предиктором тромботических осложнений после стентирования коронарных артерий и более неблагоприятного развития ИБС.

Литература

- Mendis S, Puska P, Norrving B. Global atlas on cardiovascular disease prevention and control. Geneva: WHO, 2011: 3.
- Berezovskaya GA, Ganyukov VI, Karpenko MA. Restenosis and in-stent stenosis: pathogenic mechanisms and prognostic markers. Russ J Cardiol 2012, 6 (98): 91-5. (In Russ.) Березовская Г.А., Ганюков В.И., Карпенко М.А. Рестеноз и тромбоз внутри стента: патогенетические механизмы развития и прогностические маркеры. Российский кардиологический журнал 2012, 6 (98): 91-5. DOI: 10.15829/1560-4071-2012-6-91-95
- Dosenko VE, Zagoriy VY, Haytovich NV, et al. Allelic polymorphism of endothelial NO-synthase gene and its functional manifestations. Acta Biochimica Polonica 2006; 2 (53): 299-302.
- Yaghoubi AR, Khaki-Khatibi F. T-786C single-nucleotide polymorphism (SNP) of endothelial nitric oxide synthase gene and serum level of vascular endothelial relaxant factor (VERF) in nondiabetic patients with coronary artery disease. African Journal of Biotechnology 2012; 11 (93): 15945-9.
- Parkhomenko AN, Kozhukhov SN, Lutay YaM, et al. The T-786C polymorphism of the endothelial nitric oxide gene: connection with the efficacy of thrombolysis in patients with acute myocardial infarction. UMJ 2008, 4 (66): 20-3. (In Russ.) Пархоменко А.Н., Кожухов С.Н., Лутай Я.М. и др. Полиморфизм T-786C промотора гена эндотелиальной NO-синтазы: связь с эффективностью тромболитической терапии у пациентов с острым инфарктом миокарда. Украинский медицинский журнал 2008, 4 (66): 20-3.
- Cruz-González I, Corra E, Sánchez-Ledesma M, et al. Association between T-786C NOS3 polymorphism and resistant hypertension: a prospective cohort study. BMC Cardiovascular Disorders 2009; 9: 35.
- Vecoli C, Andreassi MG, Liga R, et al. T-786→C polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with insulin resistance in patients with ischemic or non-ischemic cardiomyopathy. BMC Medical Genetics 2012; 13: 92.
- Kucher AN, Babushkina NP, Markova VV, et al. Genetic variation in the candidate genes for cardiovascular diseases in representatives of four ethnic groups from Siberia. Medical Genetics 2010, 5: 24-34. (In Russ.) Кучер А.Н., Бабушкина Н.П., Маркова В.В. и др. Изменчивость полиморфных вариантов генов-кандидатов заболеваний сердечно-сосудистой системы у представителей четырех этнических групп Сибирского региона. Медицинская генетика 2010, 5: 24-34.
- Khabibulina MM. Effect of angiotensin converting enzyme lisinopril on the state of vascular bed in premenopausal women with arterial hypertension. Kardiologija 2013, 2: 38-42. (In Russ.) Хабибулина М.М. Влияние ингибитора ангиотензинпревращающего фермента лизиноприла на состояние сосудистого русла у женщин с артериальной гипертензией в период менопаузы. Кардиология 2013, 2: 38-42.
- Ganyukov VI, Protopopov AV. Medication support of percutaneous coronary intervention. Novosibirsk: AREAL, 2014: 11-3. (In Russ.) Ганюков В.И., Протопопов А.В. Медикаментозное сопровождение чрескожного коронарного вмешательства. Новосибирск: АРЕАЛ, 2014: 11-3.
- Repin AN, Sergienko TN, Muslimova EF, et al. Gene CYP2C19 polymorphism G681A influence on the efficacy of clopidogrel in endovascular treatment of ischemic heart disease comorbid with type 2 diabetes. Russ J Cardiol 2015, 10 (126): 81-5. (In Russ.) Репин А.Н., Сергиенко Т.Н., Муслимова Э.Ф. и др. Влияние полиморфизма G681A гена CYP2C19 на эффективность клопидогреля при эндоваскулярном лечении ишемической болезни сердца в сочетании с сахарным диабетом 2 типа. Российский кардиологический журнал 2015, 10 (126): 81-5. DOI: 10.15829/1560-4071-2015-10-81-85

КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД ПРИ ОЦЕНКЕ ИНФОРМАТИВНОСТИ В РОССИЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ИНФАРКТОМ МИОКАРДА И ЕГО ФАКТОРАМИ РИСКА

Максимов В. Н.¹, Орлов П. С.¹, Иванова А. А.¹, Ложкина Н. Г.², Куимов А. Д.², Савченко С. В.², Новоселов В. П.², Воевода М. И.¹, Малютина С. К.¹

Цель. Оценить использование комплексной оценки информативности в Российской популяции генетических маркеров инфаркта миокарда, идентифицированных в полногеномных ассоциативных исследованиях.

Материал и методы. Группа больных ИМ (200 человек) и контрольная группа (420 человек) были сформированы на основе популяционной выборки 45-69 летних жителей г. Новосибирска (9400 человек), которая была собрана в ходе работы по международному проекту HAPIEE. Пациенты с инфарктом миокарда, поступившие в блок интенсивной терапии ГКБ № 1 (160 человек). Лица, умершие внезапной сердечной смертью, подвергнутые судебно-медицинскому исследованию (n=285). Группа долгожителей собиралась в ходе домашних визитов и среди пациентов домов престарелых г. Новосибирска (85 человек). Геномную ДНК выделяли из венозной крови и ткани миокарда методом фенол-хлороформной экстракции. Полиморфизм генов тестировали с помощью ПЦР в реальном времени в соответствии с протоколом фирмы производителя (зонды TaqMan, Applied Biosystems, USA) на приборе ABI 7900HT. В исследование были взяты следующие ОНП: rs499818, rs619203, rs10757278 и rs1333049 (хр. 9), rs1376251, rs2549513, rs4804611, rs17465637.

Результаты. ОНП, которые на этапе отбора для исследования не имели существенных различий, показали на нашей популяции очень разнородные результаты. Два ОНП оказались тесно сцепленными rs10757278 и rs1333049 (хр. 9) и для дальнейшего анализа был оставлен rs1333049. Из семи других, только пять ОНП показали ассоциацию с ИМ разной степени надежности. Такие, как rs1333049 показали ассоциацию с ИМ на всех группах и подгруппах, другие только в отдельных группах, с ограничениями по полу и возрасту. rs2549513 и rs17465637 вообще оказались не ассоциированными с ИБС. Но при этом rs2549513 показал ассоциацию с показателями липидного и углеводного обмена, а также с выраженностью коронарного атеросклероза и неблагоприятным прогнозом в течение года после ИМ. Тогда как rs17465637 оказался только слабо ассоциированным с ИМТ.

Заключение. Комплексный подход к изучению роли полиморфизма весьма трудоемок, но он дает достаточную уверенность в значимости полученных результатов, в их неслучайном характере, позволяет отобрать наиболее надежные, показавшие ассоциацию не только с основным патологическим фенотипом, но и его факторами риска.

Российский кардиологический журнал 2017, 10 (150): 33–41
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-33-41>

Ключевые слова: инфаркт миокарда, однонуклеотидный полиморфизм, rs499818, rs619203, rs10757278, rs1333049, rs1376251, rs2549513, rs4804611, rs17465637.

¹НИИТПМ — филиал ИЦиГ СО РАН, Новосибирск; ²ФГБОУ ВО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Максимов В. Н.* — д.м.н., доцент, зав. лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, Орлов П. С. — н.с. лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, Иванова А. А. — к.м.н., м.н.с. лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, Ложкина Н. Г. — д.м.н., доцент кафедры факультетской терапии лечебного факультета, Куимов А. Д. — д.м.н., профессор, зав. кафедрой факультетской терапии лечебного факультета, Савченко С. В. — д.м.н., профессор кафедры судебной медицины, Новоселов В. П. — д.м.н., профессор, зав. кафедрой судебной медицины, Воевода М. И. — д.м.н., академик РАН, директор, Малютина С. К. — д.м.н., профессор, зав. лабораторией этиопатогенеза и клиники внутренних заболеваний.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
 medik11@mail.ru

ВОЗ — Всемирная Организация Здравоохранения, ВСС — внезапная сердечная смерть, ИБС — ишемическая болезнь сердца, ИМ — инфаркт миокарда, ИМТ — индекс массы тела, КА — коронарный атеросклероз, ЛПВП — липопротеины высокой плотности, ЛПНП — липопротеины низкой плотности, ОКС — острый коронарный синдром, ОНП — однонуклеотидный полиморфизм, ОХС — общий холестерин, ОШ — отношение шансов, ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания, ФВЛЖ — фракция выброса левого желудочка, ЧСС — частота сердечных сокращений, HAPIEE — Health, Alcohol and Psychosocial factors In Eastern Europe.

Рукопись получена 27.06.2017

Рецензия получена 30.06.2017

Принята к публикации 04.09.2017

COMPLEX EVALUATION OF THE SIGNIFICANCE OF POPULATION GENETIC MARKERS ASSOCIATED WITH MYOCARDIAL INFARCTION AND RISK FACTORS

Maksimov V. N.¹, Orlov P. S.¹, Ivanova A. A.¹, Lozhkina N. G.², Kuimov A. D.², Savchenko S. V.², Novoselov V. P.², Voevoda M. I.¹, Maluytina S. K.¹

Aim. To evaluate the utilization of complex significance evaluation in Russian population, of genetic markers of myocardial infarction identified in entire-genomic associative studies.

Material and methods. Group of MI patients (n=200) and control group (n=420) were created based on populational selection of 45-69 year old citizens of Novosibirsk (9400 persons), collected during the international project HAPIEE; myocardial infarction patients, admitted to intensive care unit of the Hospital № 1 (160 persons); sudden cardiac death victims, post forensic investigation (n=285). Longevity group was collected during home visits and in the nursing houses (n=85). Genomic DNA was extracted from venous blood and myocardial tissue by phenol-chlorophorm method. Genes polymorphism was tested with PCR real-time according to the protocol by equipment developer (TaqMan, Applied Biosystems, USA), device ABI 7900HT. For the study, the following MNP were selected:

rs499818, rs619203, rs10757278 and rs1333049 (chr. 9), rs1376251, rs2549513, rs4804611, rs17465637.

Results. Mononucleotide polymorphisms, that did not show differences at pretest stage, showed significant distinctions in the studied population. Two MNP were closely linked: rs10757278 and rs1333049 (chr. 9) so for further assessment the rs1333049 was retained. Among other seven, only five MNP showed relation with MI of various strength. Some, like the rs1333049 showed association with MI in all groups and subgroups, while the others — only in separate groups, with restriction by sex and gender. The rs2549513 and rs17465637 showed to be not associated with CHD at all, though rs2549513 showed association with lipid and glucose metabolism, as with the severity of coronary atherosclerosis and adverse prognosis for 1 year post-MI. The rs17465637 was just poorly associated with BMI.

Conclusion. Complex approach to assessment of polymorphism role is quite demanding, but provides with a high grade of insurance in the significance of the results obtained, of non-random character of the results, and makes it to choose the most credible, that have showed association not only with the main pathological phenotype, but with its risk factors.

Russ J Cardiol 2017, 10 (150): 33–41

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-33-41>

Key words: myocardial infarction, mononucleotide polymorphism, rs499818, rs619203, rs10757278, rs1333049, rs1376251, rs2549513, rs4804611, rs17465637.

¹SRI of Therapy and Prevention Medicine — branch of FSBSI Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of SD RAS, Novosibirsk; ²FSBEI HE Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Поиск генетических маркеров повышенного риска развития распространенных заболеваний продолжается уже не одно десятилетие. Особенно активно он велся в первые годы после завершения программы “Геном человека”. Для анализа обычно отбирались ОНП (от единичных до нескольких десятков, иногда сотен) в функционально значимых генах. Один из существенных недостатков такого подхода заключается в исключении из анализа участков ДНК, содержащих не идентифицированные гены, а также генов, продукты которых, по современным представлениям, не участвуют в развитии заболевания. Потом, благодаря быстрому совершенствованию технологий массового генотипирования, получили распространение полногеномные ассоциативные исследования. Все известные в настоящее время гены занимают менее 2% от общей последовательности ДНК человека. Использование полногеномного подхода позволило найти ОНП маркеры в межгенных участках ДНК. В ведущих мировых журналах опубликован целый ряд результатов исследований, посвященных идентификации новых генетических маркеров, ответственных за наследственную предрасположенность к ИБС, выполненных на уровне полногеномного анализа [1-4]. Принципиальными общими особенностями этих исследований является анализ больших выборок пациентов и соответствующих контрольных групп (несколько тысяч индивидов), обязательное реплицирование анализа ассоциаций на независимо обследованных выборках и использование высоко разрешающих методов генотипирования, как правило, высокоплотных чипов для генотипирования по нескольким сотням тысяч генетических маркеров. В частности, был выполнен полногеномный анализ на Фремингемской когорте. Фремингемское исследование является одним из первых эталонных крупномасштабных эпидемиологических когортных проектов, направленных на динамическое наблюдение за распространенностью сердечно-сосудистых заболеваний в популяции, оценку их ассоциации с различными факторами риска [2]. В 2007г был обнаружен локус на коротком плече 9-й хромосомы (9p21), ассоциированный с инфарктом миокарда [4]. В последующие годы исследования генетической компоненты предрасположенности к ИБС продолжались на разных этнических группах [5-7]. До сих пор, спустя 10 лет после первой публикации, нет еди-

ного мнения о вкладе в риск развития ИБС даже локуса 9p21. Так, в Корею в 2008г Shen GQ, et al. показали ассоциацию локуса 9p21 с ИБС, однако в 2016г Lee CJ, et al. пришли к выводу, что при проспективном наблюдении маркер rs1333049 оказался не связанным с исходами [8]. Кроме того, до сих пор неясны механизмы реализации замен в нуклеотидной последовательности этого участка ДНК в патологический фенотип. Когда исследователь имеет дело с изменением участка ДНК, кодирующего структуру белка-фермента, задача по оценке последствий такого изменения значительно упрощается: можно оценить количество белка и его функциональные свойства в зависимости от генотипа. В случае же с межгенным промежутком получается, что известно изменение в последовательности ДНК и известен фенотип, а о механизме реализации одного в другое остается только строить гипотезы. Если не стоит цель использовать этот участок ДНК как мишень для неких терапевтических воздействий, то для использования ОНП в качестве маркера повышенного риска развития того или иного патологического фенотипа совершенно необязательно знать механизм реализации. Более важно убедиться, что маркер является полиморфным в нашей этнической группе и ассоциирован с изучаемым фенотипом, поскольку ни то, ни другое, не гарантировано априори. Маркер, который работает в Западной Европе, может оказаться мономорфным в русской популяции или со слишком низкой частотой “аллеля риска” или не играть роль для значимого повышения риска развития заболевания в русской популяции. Помимо обычных реплицирующихся исследований в поисках ответа на вопрос о роли того или иного маркера в развитии заболевания в нашей популяции может помочь комплексный подход к оценке его информативности в российской популяции. Это и исследования случай-контроль с основным фенотипом, и исследования патогенетически близких фенотипов, факторов риска, исследования в проспективном дизайне с регистрацией новых случаев и оценкой прогностической ценности маркера. Если же мы предполагаем заметный вклад в развитие заболевания, являющегося одной из основных причин смертности населения, то — исследования частот генотипов и аллелей в разных возрастных группах (от подростков до стариков). Отчасти такой подход реализован нами для оценки нескольких мар-

керов повышенного риска развития ИБС по данным зарубежных полногеномных ассоциативных исследований.

Материал и методы

1) Группа больных инфарктом миокарда и контрольная группа (подобранная по полу и возрасту, отношение 1:2) были сформированы на основе популяционной выборки 45-69-летних жителей Октябрьского и Кировского районов г. Новосибирска (9400 человек), которая была собрана НИИ терапии СО РАМН в ходе работы по международному проекту НАPIEE (Health, Alcohol and Psychosocial factors In Eastern Europe). Программа исследования включала следующее: измерение артериального давления, антропометрия (рост, вес, объем талии, бедер), социально-демографические характеристики, опрос о курении, потреблении алкоголя (частота и типичная доза), уровне физической активности, оценку липидного профиля (общий холестерин; триглицериды, холестерин липопротеидов высокой плотности), опрос на выявление стенокардии напряжения (Rose), ЭКГ покоя в 12 отведениях. Выборка больных инфарктом миокарда 200 человек (мужчины 129, женщины 71), контрольная выборка без признаков ИМ 420 человек (мужчины 270, женщины 150). При формировании группы больных использовались эпидемиологические критерии ИМ на основе кодирования ЭКГ изменений по Миннесотскому коду, опросника Rose и документированного инфаркта миокарда в анамнезе: определенный инфаркт миокарда (М.К. 1-1 — 1-2-7), возможный инфаркт миокарда (М.К. 1-2-8 — 1-3), документированный инфаркт миокарда в анамнезе [9].

2) В исследование были включены пациенты с инфарктом миокарда, поступившие в блок интенсивной терапии городской клинической больницы № 1 (2009-2010гг) 160 человек (113 мужчин и 47 женщин). Средний возраст мужчин был $56,2 \pm 5,2$ года, женщин — $62,1 \pm 5,3$ года. Диагноз ИМ устанавливался по совокупности критериев, разработанных Европейским обществом кардиологов и Американской коллегией кардиологов (2000), включающих: а) типичный болевой приступ, б) изменения ЭКГ в двух и более последовательных отведениях (высокоамплитудный Т, отрицательный Т, подъем сегмента ST, патологический Q, депрессия сегмента ST, наличие QR), в) динамические изменения в уровне ферментов (КФК, КК-МВ, ТнТ, ТнI).

3) В период с 1999 по 2012гг был сформирован банк ДНК лиц, умерших внезапной сердечной смертью ($n=285$, средний возраст — $53,2 \pm 8,8$ года, мужчины составили 69,9%, женщины 30,1%). ДНК была выделена методом фенол-хлороформной экстракции из ткани миокарда внезапно умерших жителей Октябрьского района г. Новосибирска, подверг-

нутых судебно-медицинскому исследованию (без морфологических изменений характерных для инфаркта миокарда, дилатационной и гипертрофической кардиомиопатий и др.). С учетом ограниченной информации о времени развития фатального события в исследуемую группу включены случаи смерти, развившейся в течение одного часа или при отсутствии свидетелей смерти в течение не более 24 часов с момента возникновения первых симптомов и расцененных по данным аутопсии как смерть сердечного генеза.

4) Группа долгожителей собиралась в ходе домашних визитов и среди пациентов домов престарелых г. Новосибирска. Всего генотипировано 85 человек: 43 мужчины и 42 женщины. Возраст 90-105 лет. Средний возраст $91,89 \pm 1,72$ г.

Протоколы всех исследований, включенных в настоящий анализ, были одобрены Этическими комитетами учреждений-исполнителей.

Геномную ДНК выделяли из венозной крови методом фенол-хлороформной экстракции. Полиморфизм генов тестировали с помощью ПЦР в реальном времени в соответствии с протоколом фирмы производителя (зонды TaqMan, Applied Biosystems, USA) на приборе ABI 7900HT. В исследование были взяты следующие ОНП: rs499818 (хр. 6), rs619203 гена *ROS1*, rs10757278 и rs1333049 (хр. 9), rs1376251 гена *TAS2R50*, rs2549513 (хр. 16), rs4804611 гена *ZNF627* и rs17465637 гена *MIAF3*.

Статистический анализ проводился с использованием пакета программ SPSS 11.5. Первым этапом определяли частоты генотипов и аллелей изучаемых ОНП в исследуемых группах, потом оценивали соответствие частот генотипов равновесию Харди-Вайнберга в контрольной группе (по критерию хи-квадрат). Сравнение уровня таких показателей, как рост, масса тела, индекс массы тела, артериальное давление (систолическое, диастолическое, пульсовое), частота сердечных сокращений, общий холестерин, холестерин липопротеидов низкой плотности, холестерин липопротеидов высокой плотности, триглицериды, индекс атерогенности, глюкоза крови, у носителей разных генотипов проводили после проверки нормальности распределения этих признаков по тесту Колмогорова-Смирнова. Если признак отвечал критериям нормального распределения, то использовали однофакторный дисперсионный анализ. Достоверность различий между двумя генотипическими классами дополнительно проверяли с помощью t-теста для двух независимых выборок. В случае, если изучаемый признак не удовлетворял критериям нормального распределения, сравнение уровня этого признака у носителей разных генотипов проводилось с помощью теста Крускала-Уоллиса, достоверность различий между двумя генотипическими классами дополнительно проверяли

Таблица 1

Частоты генотипов ОНП в группе больных инфарктом миокарда и в контрольной группе

ОНП	Генотипы	Геронты		Контроль		Популяционный ИМ		Клинический ИМ		Внезапная смерть	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
rs17465637	AA	8	9,4	30	7,4	20	10,1	13	8,2	13	4,6
	CA	29	34,1	167	41	80	40,6	63	39,6	121	43,2
	CC	48	56,5	210	51,6	97	49,3	83	52,2	146	51,2
rs619203	CC	8	9,5	26	6,5	20	10,1	15	9,8	20	7,2
	CG	38	45,2	174	43,8	68	34,3	70	45,8	133	47,7
	GG	38	45,2	197	49,6	110	55,6	68	44,4	126	45,1
rs4804611	AA	48	57,8	226	54,1	107	54	95	59,7	167	58,6
	AG	30	36,1	173	41,4	81	40,9	58	36,5	103	36,1
	GG	5	6,0	19	4,5	10	5,1	6	3,8	15	5,3
rs2549513	AA	61	73,5	228	69,2	140	72,9	101	63,5	195	69,4
	AC	18	21,7	116	27,6	49	24,6	51	32,1	82	29,2
	CC	4	4,8	12	2,9	3	1,9	7	4,4	4	1,4
rs1376251	CC	35	41,7	214	51,6	99	50,5	73	46,2	122	46,2
	CT	43	51,2	163	39,3	79	40,3	66	41,8	110	41,7
	TT	6	7,1	38	9,2	18	9,2	19	12	32	12,1
rs1333049	CC	12	14,1	75	18	58	26,6	49	31	68	24,7
	GC	45	52,9	230	55,1	86	43,9	81	51,3	149	54,2
	GG	28	32,9	112	26,9	52	26,5	28	17,7	58	21,1
rs499818	AA	1	1,2	32	7,6	6	3	8	5,1	18	6,3
	AG	31	36,9	147	35	82	41,2	52	33,3	117	40,9
	GG	52	61,9	241	57,4	111	55,8	96	61,5	151	52,8

с помощью теста Манна-Уитни для двух независимых выборок. Ассоциация ОНП с факторами риска проверялась с помощью таблиц сопряженности с использованием критерия хи-квадрат по Пирсону. В случае четырехпольных таблиц для сравнения выборок по частотам генотипов и аллелей применяли точный двусторонний критерий Фишера. Относительный риск заболевания по конкретному аллелю или генотипу вычисляли как отношение шансов (ОШ).

Результаты и обсуждение

Частоты генотипов rs17465637, rs2549513, rs1376251, rs499818, rs619203 в контрольной группе находятся в равновесии Харди-Вайнберга. Распределение частот генотипов rs1333049 и rs4804611 в контрольной группе отклонено от равновесия Харди-Вайнберга ($\chi^2=5,22$ и $\chi^2=3,91$, соответственно). При этом, в возрастной группе до 55 лет частоты генотипов rs1333049, rs4804611 находятся в равновесии Харди-Вайнберга ($\chi^2=0,95$, $\chi^2=0,56$), а в группе старше 50 лет возникают отклонения от него. Это свидетельствует о выбывании “генотипов риска” из популяции с возрастом.

rs1333049 и rs10757278, расположенные на 9-й хромосоме, в нашем исследовании были полностью сцеплены [10]. Вследствие этого, нами представлен один из них, а именно rs1333049. В 2011г в исследовании PAGE (США) полиморфизмы rs1333049 и rs10757278

были проверены на корреляцию по неравновесному сцеплению в двух группах исследуемых, коэффициент корреляции составил 0,85 и более [11]. Ассоциация с ИБС была показана для rs1333049 в исследовании в США и Португалии, где CC генотип полиморфизма rs1333049 был ассоциирован с повышенным риском ИБС [12-14]. Кроме того, носители CC генотипа имели повышенный уровень триглицеридов и холестерина в крови [15]. По данным Ellis, et al. (2010) этот ОНП ассоциирован с ранним началом ИБС. А согласно результатам, полученным Buyschaert, et al. (2010) еще и с повторным ИМ и сердечной смертью после острого коронарного синдрома [15, 16].

В нашем исследовании rs1333049 ассоциирован с популяционным ИМ ($p=0,003$) и с клиническим ИМ ($p=0,001$) (табл. 1). Аналогичные частоты генотипов и аллелей rs1333049 получены в группе клинического ИМ (500 человек), сформированной на базе двух ведущих кардиологических клиник г. Красноярска [17]. В популяционной выборке отношение шансов иметь ИМ для носителей генотипа CC повышено почти в 2 раза, ОШ =1,9 (95% ДИ 1,3-2,9; $p=0,002$), носительство генотипа CG является протективным фактором в отношении развития ИМ ОШ =0,6 (95% ДИ 0,5-0,9; $p=0,009$). rs1333049 ассоциирован с частотой сердечных сокращений ($p=0,007$, в тесте Крускала-Уоллиса): у носителей генотипа GG она ста-

Таблица 2

Частоты генотипов ОНП у мужчин в группе больных инфарктом миокарда и в контрольной группе

ОНП	Генотипы	Геронты		Контроль		Популяционный ИМ		Клинический ИМ		Внезапная смерть	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
rs17465637	AA	4	9,3	17	6,4	12	9,5	9	8,0	10	5,2
	CA	17	39,5	109	42,3	54	42,9	49	43,8	80	41,9
	CC	22	51,2	138	52,3	60	47,6	54	48,2	101	52,9
rs619203	CC	4	9,5	20	7,9	17	13,3	14	13,1	12	6,2
	CG	18	42,9	102	40,3	38	29,9	49	45,8	91	47,4
	GG	20	47,6	131	51,8	72	56,7	44	41,1	89	46,4
rs4804611	AA	22	52,4	148	55,2	72	56,7	72	64,3	118	59,9
	AG	18	42,9	108	40,3	51	40,2	37	33,0	68	34,5
	GG	2	4,8	12	4,5	4	3,1	3	2,7	11	5,6
rs2549513	AA	33	78,6	192	71,9	94	75,2	68	60,7	138	71,1
	AC	7	16,7	69	25,8	29	23,2	40	35,7	53	27,3
	CC	2	4,8	6	2,2	2	1,6	4	3,6	3	1,5
rs1376251	CC	19	45,2	129	48,5	67	53,2	51	45,9	84	45,9
	CT	23	54,8	112	42,1	45	35,7	49	44,1	79	43,2
	TT			25	9,4	14	11,1	11	9,9	20	10,9
rs1333049	CC	6	14,0	45	16,9	44	35,2	34	30,6	49	26,2
	GC	23	53,5	151	56,8	56	44,8	52	46,8	98	52,4
	GG	14	32,6	70	26,3	25	20	25	22,5	40	21,4
rs499818	AA	1	2,4	26	9,7	4	3,1	3	2,8	14	7,1
	AG	12	28,6	95	35,3	53	41,4	36	33,0	75	38,3
	GG	29	69,0	148	55	71	55,5	70	64,2	107	54,6

статистически значимо выше, чем у носителей генотипа CG ($p=0,002$, в тесте Манна-Уитни). В группе с клиническим ИМ у носителей генотипа CC фракция выброса левого желудочка (ФВЛЖ) самая высокая по сравнению с носителями двух других генотипов ($p=0,034$). При разделении по полу оказалось, что у мужчин статистически значимых различий нет. А у женщин, наоборот, различия оказались более выраженными и статистически значимыми, $p=0,001$ [18]. Кроме того, в группе с клиническим ИМ по результатам коронарной ангиографии выявлена ассоциация rs1333049 с многососудистым поражением коронарных артерий ($p<0,001$). Отношение шансов многососудистого поражения коронарных артерий у носителей генотипа GG в 5,4 раза меньше, чем у носителей аллеля C [19]. Найдены статистически значимые различия по частотам аллелей rs1333049 в группе ВСС и контрольной группе ($p=0,024$). В группе ВСС наблюдается увеличение доли гомозиготных генотипов CC rs1333049 по сравнению с контрольной группой ($p=0,05$). Отношение шансов ВСС у мужчин-носителей генотипа CC полиморфизма rs1333049 в 1,7 раз выше, чем в контрольной группе (95% ДИ 1,1-2,8, $p=0,019$) (табл. 2). Достоверных различий между контролем в целом и геронтами по частотам генотипов rs1333049 — нет. Однако, если посмотреть частоту генотипа CC в исследуемых группах (табл. 1), то прослеживается четкая динамика ее

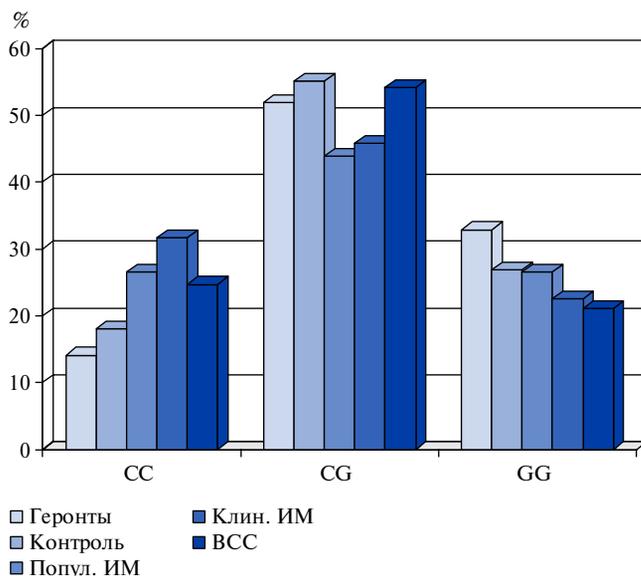


Рис. 1. Частоты генотипов rs1333049 в изучаемых группах.

убывания: клинический ИМ, популяционный ИМ, контроль, геронты (рис. 1). То есть “генотип риска” CC rs1333049, ассоциированный с ИМ, ВСС, факторами риска ССЗ “выбывает” из популяции с возрастом. Такой комплексный подход к изучению роли полиморфизма, конечно, весьма трудоемок, но он дает достаточную уверенность в значимости получен-

Таблица 3

Частоты генотипов ОНП у женщин в группе больных инфарктом миокарда и в контрольной группе

ОНП	Генотипы	Геронты		Контроль		Популяционный ИМ		Клинический ИМ		Внезапная смерть	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
rs17465637	AA	4	10,3	13	9,1	8	11,3	4	8,5	3	3,6
	CA	12	30,8	58	40,6	26	36,6	14	29,8	40	48,2
	CC	23	59,0	72	50,3	37	52,1	29	61,7	40	48,2
rs619203	CC	4	9,8	6	4,2	3	4,2	1	2,2	7	8,6
	CG	19	46,3	72	50	30	42,3	21	45,7	39	48,1
	GG	18	43,9	66	45,8	38	53,5	24	52,2	35	43,2
rs4804611	AA	26	65,0	78	52	35	49,3	23	48,9	45	54,9
	AG	11	27,5	65	43,3	30	42,3	21	44,7	33	40,2
	GG	3	7,5	7	4,7	6	8,5	3	6,4	4	4,9
rs2549513	AA	27	67,5	96	64,4	46	68,7	32	68,1	54	66,7
	AC	11	27,5	47	31,5	20	29,9	12	25,5	26	32,1
	CC	2	5,0	6	4	1	1,5	3	6,4	1	1,2
rs1376251	CC	15	36,6	85	57	32	45,7	22	46,8	34	45,3
	CT	20	48,8	51	34,2	34	48,6	17	36,2	31	41,3
	TT	6	14,6	13	8,7	4	5,7	8	17,0	10	13,3
rs1333049	CC	6	14,6	30	19,9	14	19,7	15	31,9	17	20,7
	GC	21	51,2	79	52,3	30	42,3	29	61,7	50	61,0
	GG	14	34,1	42	27,8	27	38	3	6,4	15	18,3
rs499818	AA			6	4	2	2,8	5	10,6	4	4,8
	AG	19	45,2	52	34,4	29	40,8	16	34,0	38	45,2
	GG	23	54,8	93	61,6	40	56,3	26	55,3	42	50,0

ных результатов. При проспективном наблюдении за группой клинического ИМ в г. Красноярске выявлена ассоциация аллеля С rs1333049 с частотой повторного острого коронарного синдрома (ОКС) в отдаленном периоде наблюдения (6, 12, 24 месяца) у больных ИМ, не подвергавшихся чрескожному коронарному вмешательству [17].

rs499818 расположен на коротком плече 6-й хромосомы (6p24.1). Согласно данным Фремингемского исследования этот ОНП ассоциирован с “атеросклеротическими сердечно-сосудистыми заболеваниями (ИМ, инсульт, фатальная ИБС)” [2]. В 2011г в большом мультиэтническом проспективном исследовании (PAGE, США) была подтверждена ассоциация этого ОНП с новыми случаями ИБС [11]. В нашей популяционной выборке отношение шансов для носителей генотипа AA иметь ИМ равно 0,4 (95% ДИ 0,2-0,9; p=0,03), по сравнению с носителями двух других генотипов. Условно протективный эффект носительства генотипа AA в отношении ИМ остается значимым у мужчин, как в группе популяционного, так и клинического ИМ (табл. 1 и 2). Но в группе женщин старше 50 лет с повышенным риском развития ВСС ассоциирован генотип AG rs499818 (p=0,009, OR =2,4, 95% CI 1,3-4,6) [10]. У мужчин из контрольной группы отмечено повышение индекса массы тела (ИМТ) в ряду генотипов GG, AG, AA. У носителей генотипа GG ИМТ достоверно меньше по сравнению с носителями двух других генотипов (p=0,028). Отно-

шение талия/бедро у мужчин из контрольной группы выше у гетерозигот по сравнению с носителями двух других генотипов (p=0,05). Ассоциации rs499818 с ФВЛЖ в общей группе клинического ИМ — не обнаружено. При разделении по полу у женщин ФВЛЖ повышается в ряду генотипов AA, AG, GG (p=0,05) [18]. А по результатам коронарной ангиографии, в группе с клиническим ИМ выявлена ассоциация большего объема атеросклеротического поражения коронарных артерий у пациентов с генотипом AA относительно носителей аллеля G (p=0,046) [19]. То есть, получаются неоднозначные результаты: с одной стороны, носительство генотипа AA встречается реже в группе с популяционным ИМ, с другой — у носителей этого генотипа в группе клинического ИМ чаще выявляется многососудистое поражение коронарного русла. У геронтов генотип AA встречается реже, чем во всех остальных группах — 1,2%. Таким образом, если сопоставить все данные, результаты проверки этого ОНП оказываются весьма противоречивыми, особенно, на фоне результатов такой же проверки rs1333049, описанных выше.

rs619203 гена *ROS1* (MIM 165020) расположен на длинном плече 6-й хромосомы (6q22). В США в 3-этапном исследовании была показана ассоциация этого ОНП с ИМ [20]. Однако, позднее в Германии [21] и в США [1] не обнаружили ассоциации rs619203 с ИМ. В нашей популяционной выборке носители генотипа CG реже встречаются в группе с ИМ,

по сравнению с группой контроля, ОШ = 0,67 (95% ДИ 0,47-0,96, CG vs. CC+GG, $p=0,027$). В тесте Крускала-Уоллиса выявлена ассоциация генотипов rs619203 с объемом бедер ($p=0,038$) и глюкозой ($p=0,037$). У носителей генотипа CC объем бедер ($p=0,011$), ИМТ ($p=0,05$), ОХС ($p=0,019$), и ХС ЛПВП ($p=0,046$) оказались меньше, по сравнению с носителями двух других генотипов. Пульсовое АД ($p=0,023$) и глюкоза ($p=0,016$) достоверно выше в группе носителей генотипа GG, по сравнению с группой носителей двух других генотипов. При анализе результатов исследования клинического ИМ в г. Красноярске показано, что генотип CC rs619203 можно рассматривать как генетический предиктор ИМ, не зависящий от “традиционных” факторов риска и отягощенного семейного анамнеза [22]. В группе клинического ИМ г. Новосибирска тоже есть тенденция к накоплению носителей генотипа CC, однако она не достигает уровня статистической значимости, вероятно, из-за меньшего объема группы. При разделении по полу выявляются различия: в контроле у мужчин частота генотипа CC 7,9%, у женщин — 4,2%, а у больных с ИМ они больше — 13,1% у мужчин (табл. 2) и 2,2% у женщин (табл. 3). Важно отметить, что тенденции противоположные: у мужчин в группе с ИМ носителей генотипа CC больше чем в контроле в 1,6 раза, а у женщин меньше, чем в контроле, в 1,9 раза. Это иллюстрация целесообразности анализа с разделением по полу. То же касается и возраста: когда анализируется выборка, состоящая из лиц широкого возрастного диапазона, в случае возраст-зависимого заболевания. Любая граница, разделяющая непрерывный ряд значений условна, но, тем не менее, клиницистами уже давно ИМ до 55 лет определяется, как преждевременный. Чем раньше произошел ИМ, тем сильнее он отличается по этиологической основе от ИМ в старшем возрасте.

rs4804611, ген *ZNF627* расположен на коротком плече 19-й хромосомы (19p13.2). В США в 3-этапном исследовании была показана ассоциация этого ОНП с ИМ [20]. Потом в Японии в 2008г она была подтверждена [23]. Позднее в Германии [21] и США [1] не обнаружили ассоциации rs4804611 с ИМ. Мы при разделении группы клинического ИМ по возрасту обнаружили ассоциацию rs4804611 с ИМ в виде повышения шансов развития ИМ в старшей возрастной группе (55 лет и старше) для носителей генотипа AA ОШ = 1,63 (95% ДИ 1,03-2,45, $p=0,04$, AA vs AG+GG). При анализе ассоциации ФВЛЖ с rs4804611 обнаружено достоверное различие среднего уровня ФВЛЖ у носителей разных генотипов rs4804611 ($p=0,046$). ФВЛЖ повышается в ряду генотипов AA, AG, GG. У носителей генотипа GG она достоверно выше, чем у носителей двух других генотипов ($p=0,027$) [18]. При проспективном наблюдении 280 больных острым коронарным синдромом (ОКС) в г. Новосибирске

в течение года фиксировались “твердые конечные точки” (кардиоваскулярная смерть, госпитализация в связи с повторным ишемическим событием, повторная реваскуляризация). В группе с неблагоприятным прогнозом достоверно чаще встречался генотип GG rs4804611 (9,1% vs 1,8%), ОШ = 5,57 (95% ДИ 1,35-22,96); достоверность различий сохранилась у мужчин ($p=0,021$) [24].

rs1376251 гена *TAS2R50*, (MIM 609627) расположен на коротком плече 12-й хромосомы (12p13.2). Оценка механизмов влияния замены нуклеотидов в цепи ДНК усложняется тем, что согласно базе данных NCBI Reference Assembly, этот ОНП входит в последовательности генов PRR4 (MIM 609607) и PRN1 (MIM 168730). В Германии [21] и США [1] не обнаружили ассоциации rs1376251 с ИМ, хотя в более раннем 3-этапном исследовании, выполненном в США, на всех трех этапах была показана ассоциация этого ОНП с ИМ [20]. В нашем исследовании ассоциации rs1376251 с популяционным ИМ без разделения по полу не обнаружено. Но у женщин-носительниц генотипа СТ отношение шансов иметь ИМ равно 1,8 (95% ДИ 1,1-3,2, $p=0,03$), по сравнению с носительницами двух других генотипов. В нашей выборке в целом, в тесте Крускала-Уоллиса выявлена ассоциация генотипов rs1376251 с глюкозой ($p=0,048$). У мужчин с популяционным ИМ этот ОНП ассоциирован с ХС ЛПВП ($p=0,002$). У женщин в контрольной группе выявлена ассоциация с частотой сердечных сокращений ($p=0,044$), а у женщин с ИМ — с отношением талия/бедра ($p=0,006$) и триглицеридами ($p=0,014$). В модель для многофакторного прогнозирования отдаленных исходов ОКС со стойким подъемом сегмента ST на группе пациентов с ИМ вошли: сахарный диабет, ФВЛЖ, высокочувствительный С-реактивный протеин, генотип по полиморфизму rs1376251 [25].

rs2549513, ген *MAF*, расположен на длинном плече 16-й хромосомы (16q23.2). Согласно данным Фремингемского исследования этот ОНП ассоциирован с ИБС (ИМ, фатальная ИБС) [2]. В США в исследовании PAGE была подтверждена ассоциация этого ОНП с новыми случаями ИБС [11]. Однако, на группах ИМ, сформированных в Новосибирске и Красноярске, ассоциация rs2549513 с ИМ не обнаружена. В нашей популяционной выборке выявлена ассоциация генотипов rs2549513 с ОХС ($p=0,042$) и индексом атерогенности ($p=0,015$). У носителей генотипа AA достоверно ниже уровень глюкозы ($p=0,020$), ОХС ($p=0,012$), ХС ЛПВП ($p=0,049$), индекс атерогенности ($p=0,004$) по сравнению с носителями двух других генотипов. По результатам коронарной ангиографии в группе с клиническим ИМ в Новосибирске обнаружена ассоциация rs2549513 со степенью поражения коронарных артерий у мужчин ($p=0,045$) за счет большего объема поражения у носителей мутантного аллеля С (ОШ

Таблица 4

Ассоциации ОНП с фенотипами

Фенотип	rs1333049	rs499818	rs619203	rs4804611	rs1376251	rs2549513	rs17465637
Популяционный ИМ	+	+	+		+		
Клинический ИМ	+	+	+	+			
ВСС	+	+					
ЧСС	+				+		
Пульсовое АД			+				
ФВЛЖ	+	+		+			
КА	+	+				+	
Прогноз после ИМ	+			+	+	+	
ИАТЕР						+	
ХС ЛПНП						+	
ХС ЛПВП			+		+		
ОХС			+			+	
ТГ					+		
Глюкоза			+		+	+	
Объем бедер			+				
Отношение талия/бедра		+			+		
ИМТ		+	+				+

=3,4, 95% ДИ 1,1-10,4). Для группы в целом и у женщин статистически значимых различий не выявлено [19]. При проспективном наблюдении 280 больных ОКС в г. Новосибирске в течение года оценивался прогноз. При анализе частот генотипов rs2549513 выявлены достоверные различия между группами с благоприятным и неблагоприятным прогнозом ($p=0,02$). В группе с благоприятным прогнозом достоверно чаще встречался генотип AA (70,6% vs 53%), ОШ =0,47 (95% ДИ 0,26-0,85). В группе с неблагоприятным прогнозом достоверно чаще встречался гетерозиготный генотип AC, ОШ =2,32 (95% ДИ 1,28-4,20, $p=0,007$). При разделении по полу достоверность различий сохранилась только у мужчин ($p=0,008$) [24].

rs17465637, ген *MIA3*, расположен на длинном плече 1-й хромосомы (1q41). ИМТ в контрольной группе мужчин повышается в ряду генотипов CC, AC, AA ($p=0,046$). Нами не обнаружено ассоциации rs17465637 с ВСС, популяционным и клиническим ИМ, его осложнениями и прогнозом, ни в группах в целом, ни при разделении по полу и возрасту. Согласно результатам большого проспективного исследования 2010г, ассоциация этого ОНП с ИМ тоже не обнаружена [12], хотя по данным мета-анализа 14 исследований (57916 пациентов) была показана ассоциация этого ОНП с ИБС и липидемией [26]. Вероятно, ассоциация этого ОНП с ИБС сравнительно слабая и поэтому для обнаружения требуются значительные по объему группы больных и контроля, либо в нашей популяции этот маркер входит в другой блок сцепления, поскольку отсутствуют ассоциации rs17465637 с какими-либо изученными фенотипическими показателями.

Таким образом, ОНП, которые на этапе отбора для исследования не имели существенных различий, показали на нашей популяции очень разнородные результаты. Два ОНП оказались тесно сцепленными rs10757278 и rs1333049 (хр. 9) и для дальнейшего анализа был оставлен rs1333049. Из семи других, только пять ОНП показали ассоциацию с ИМ разной степени надежности. Такие как rs1333049, показали ассоциацию с ИМ на всех группах и подгруппах, другие только в отдельных группах, с ограничениями по полу и возрасту. rs2549513 и rs17465637 вообще оказались не ассоциированными с ИБС. Но при этом, rs2549513 показал ассоциацию с показателями липидного и углеводного обмена, а также с выраженностью коронарного атеросклероза и неблагоприятным прогнозом в течение года после ИМ. Тогда как rs17465637 оказался только слабо ассоциированным с ИМТ (табл. 4).

Заключение

Комплексный подход к изучению роли полиморфизма весьма трудоемок, но он дает достаточную уверенность в значимости полученных результатов, в их неслучайном характере, позволяет отобрать наиболее надежные, показавшие ассоциацию не только с основным патологическим фенотипом, но и его факторами риска.

Благодарности. Работа частично поддержана: бюджетными проектами № 0324-2016-0002 и № 0120.0502961, грантами РФФИ (10-04-01448 и 11-04-01875).

Литература

- Horne BD, Carlquist JF, Muhlestein JB, et al. Associations with myocardial infarction of six polymorphisms selected from a three-stage genome-wide association study. *Am Heart J*. 2007 Nov; 154 (5): 969-75.
- Larson MG, Atwood LD, Benjamin EJ, et al. Framingham Heart Study 100K project: genome-wide associations for cardiovascular disease outcomes. *BMC Med Genet*. 2007 Sep 19; 8 Suppl 1: S5.
- Ozaki K, Tanaka T. Genome-wide association study to identify single-nucleotide polymorphisms conferring risk of myocardial infarction. *Methods Mol Med*. 2006; 128: 173-80.
- Samani NJ, Erdmann J, Hall AS, et al. Genomewide association analysis of coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2007; 2357, 443-53.
- Hiura Y, Fukushima Y, Yuno M, et al. Validation of the association of genetic variants on chromosome 9p21 and 1q41 with myocardial infarction in a Japanese population. *Circ J*. 2008 Aug; 72 (8): 1213-7.
- Schunkert H, Götz A, Braund P, et al. Repeated replication and a prospective meta-analysis of the association between chromosome 9p21.3 and coronary artery disease. *Circulation*. 2008 Apr 1; 117 (13): 1675-84.
- Shen GQ, Li L, Rao S, et al. Four SNPs on chromosome 9p21 in a South Korean population implicate a genetic locus that confers high cross-race risk for development of coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008 Feb; 28 (2): 360-5.
- Lee CJ, Lee JY, Oum CY, et al. The Effect of FLT1 Variant on Long-Term Cardiovascular Outcomes: Validation of a Locus Identified in a Previous Genome-Wide Association Study. *PLoS One*. 2016 Oct 13; 11 (10).
- MONICA Monograph and Multimedia Sourcebook. World's largest study of heart disease, stroke, risk factors, and population trends 1979-2002. Edited by Hugh Tunstall-Pedoe (with 64 other contributors for the WHO MONICA Project) WHO, Geneva, 2003. 237 p.
- Ivanova AA, Maksimov VN, Orlov PS, et al. Association of the genetic markers for myocardial infarction with sudden cardiac death. *Indian Heart J*. 2017 Apr; 69, Suppl 1: S8-S11.
- Franceschini N, Carty C, Buzkova P, et al. Association of genetic variants and incident coronary heart disease in multi-ethnic cohorts. The PAGE Study. *Circulation*. 2011; 4: 661-72.
- Bressler J, Folsom AR, Couper DJ, et al. Genetic variants identified in a European genome-wide association study that were found to predict incident coronary heart disease in the atherosclerosis risk in communities study. *Am J Epidemiol*. 2010 Jan 1; 171 (1): 14-23.
- Foroughmand AM, Nikkha E, Galehdari H, Jadbabaee MH. Association study between coronary artery disease and rs1333049 and rs10757274 polymorphisms at 9p21 locus in South-West Iran. *Cell J*. 2015; 17: 89-98.
- Jansen MD, Knudsen GP, Myhre R, et al. Genetic variants in loci 1p13 and 9p21 and fatal coronary heart disease in a Norwegian case-cohort study. *Mol Biol Rep*. 2014; 41: 2733-43.
- Ellis KL, Pilbrow AP, Frampton CM, et al. A Common Variant at Chromosome 9P21.3 Is Associated with Age of Onset of Coronary Disease but Not Subsequent Mortality. *Circ Cardiovasc Genet*. 2010; 3 (3): 286-93.
- Buyschaert I, Carruthers KF, Dunbar DR, et al. A variant at chromosome 9p21 is associated with recurrent myocardial infarction and cardiac death after acute coronary syndrome: The GRACE Genetics Study. *Eur Heart J*. 2010, 31 (9): 1132-41.
- Shesternya PA, Nikulina SYu, Shulman VA, et al. Clinical significance of coronary artery disease genetic markers: reality or far future? *Russ J Cardiol*, 2014; 10: 7-12. (In Russ.) Шестерня П. А., Шульман В. А., Никулина С. Ю., и др. Использование генетических маркеров ишемической болезни сердца в клинической практике: реальность или отдаленная перспектива? *Российский кардиологический журнал*, 2014; 10 (114): 7-12. DOI:10.15829/1560-4071-2014-10-7-12
- Lozhkina NG, Maksimov VN, Kulikov IV, et al. Association of genetic markers with lowered retractive heart function at patients with acute coronary syndrome. *Meditcina i obrazovaniye v Sibiri*, 2013; 3. (In Russ.) Ложкина Н.Г., Максимов В.Н., Куликов И.В., и др. Ассоциация генетических маркеров со сниженной сократительной функцией сердца у больных с острым коронарным синдромом. *Медицина и образование в Сибири: Электронный ресурс сетевого научного издания*, 2013; 3. http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=1024
- Kulikov IV, Lozhkina NG, Maksimov VN, et al. Genetic markers of severity of coronary vessels stenosis in patients with acute coronary syndrome. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal*, 2013; 33, 4: 65-70. (In Russ.) Куликов И.В., Ложкина Н.Г., Максимов В.Н., и др. Генетические маркеры тяжести поражения коронарных сосудов у больных с острым коронарным синдромом. *Сибирский научный медицинский журнал*, 2013; 33, 4: 65-70.
- Shiffman D, Ellis SG, Rowland CM, et al. Identification of four gene variants associated with myocardial infarction. *Am J Hum Genet*. 2005; 77: 596-605.
- Koch W, Hoppmann P, Schömig A, Kastrati A. Variations of specific non-candidate genes and risk of myocardial infarction: a replication study. *Int J Cardiol*. 2011; Feb 17, 147 (1): 38-41.
- Martynova EA, Shesternya PA, Nikulina SYu. Association of polymorphisms of 6 chromosome with myocardial infarction. *Sibirskoye meditsinskoye obozreniye*, 2013; 2 (80): 24-7. (In Russ.) Мартынова Е.А., Шестерня П.А., Никулина С.Ю. Ассоциация полиморфизмов шестой хромосомы с развитием инфаркта миокарда. *Сибирское медицинское обозрение*, 2013; 2 (80): 24-7.
- Yamada Y, Kato K, Oguri M, et al. Genetic risk for myocardial infarction determined by polymorphisms of candidate genes in a Japanese population. *J Med Genet*. 2008; Apr, 45 (4): 216-21.
- Lozhkina NG, Maksimov VN, Orlov PS, et al. Genetic markers of negative outcomes of the acute coronary syndrome. *Russ J Cardiol*, 2014; 10: 19-22. (In Russ.) Ложкина Н.Г., Максимов В.Н., Орлов П.С., и др. Генетические маркеры неблагоприятных исходов острого коронарного синдрома. *Российский кардиологический журнал*, 2014; 10 (114): 19-22. DOI:10.15829/1560-4071-2014-10-19-22
- Lozhkina NG, Maksimov VN, Ragino Yul, et al. Multifactor prediction of long-term outcomes of acute coronary syndrome with sustained ST segment elevation. *Russ J Cardiol*, 2015; 9: 25-31. (In Russ.) Ложкина Н.Г., Максимов В.Н., Рагино Ю.И., и др. Многофакторное прогнозирование отдаленных исходов острого коронарного синдрома со стойким подъемом сегмента ST. *Российский кардиологический журнал*, 2015; 9 (125): 25-31. DOI:10.15829/1560-4071-2015-9-25-31
- He QC, Hu YY, Zhang QP, et al. A meta-analysis of three identified single nucleotide polymorphisms at 1p13.3 and 1q41 and their associations with lipid levels and coronary artery disease. *Kaohsiung J Med Sci*. 2017; Jan, 33 (1): 1-10.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО МЕТИЛИРОВАННЫХ ГЕНОВ, ПОТЕНЦИАЛЬНО СВЯЗАННЫХ С АТЕРОСКЛЕРОЗОМ У ЧЕЛОВЕКА

Назаренко М. С.^{1,2,3}, Марков А. В.¹, Королева Ю. А.¹, Слепцов А. А.¹, Казанцев А. Н.², Барбараш О. Л.², Пузырев В. П.^{1,3}

Цель. Идентификация генов, различающихся по уровню метилирования ДНК между клетками артерий, пораженных атеросклерозом, и интактными сосудами у пациентов с атеросклеротическим поражением коронарных и сонных артерий.

Материал и методы. В группу обследования вошли пациенты с атеросклерозом, которым проведены плановые операции аортокоронарного шунтирования и каротидной эндартерэктомии, а также относительно здоровые индивиды. Оценка уровня метилирования отдельных 27578 CpG-сайтов/14475 генов выполнена с использованием микрочипа Infinium Human Methylation27 BeadChip (Illumina) в образцах атеросклеротически измененных коронарных (n=6) и сонных артерий (САБ, n=6), интактных внутренних грудных артерий (n=8) и больших подкожных вен (n=8) пациентов. Уровень метилирования в локусе 2q31.1 (*HOXD4/HOXD3/MIR10B*) определялся с помощью бисульфитного пиросеквенирования ДНК в образцах САБ и лейкоцитах у одних и тех же пациентов (n=130), а также в лейкоцитах относительно здоровых мужчин (n=110). Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакетов профессиональных программ.

Результаты. В клетках атеросклеротически измененных артерий по сравнению с интактными сосудами изменение уровня метилирования на 20% и более установлено для 46 CpG-сайтов/42 генов ($p_{FDR} < 0,05$). Из них 8 генов (*TLR4*, *TRAF1*, *ABCB11*, *NPR2*, *ALOX12*, *TMEM182*, *ALX4* и *FABP1*) являются известными кандидатами для атеросклероза/его факторов риска в результате исследований генетических ассоциаций. Наибольшее количество CpG-сайтов, в которых выявлено существенное снижение уровня метилирования в клетках атеросклеротически измененных артерий по сравнению с интактными сосудами, располагалось в локусе 2q31.1, содержащем гены *HOXD4/HOXD3/MIR10B*. В лейкоцитах пациентов уровень метилирования одного из CpG-сайтов в локусе 2q31.1 (*HOXD4/HOXD3/MIR10B*) выше у курящих (18±5%), чем у некурящих (14±6%; $p < 0,05$), а уровень метилирования другого CpG-сайта в данном регионе генома ниже у тех, кто перенес ишемический инсульт (18±8%) по сравнению с индивидами без инсульта в анамнезе (20±7%; $p < 0,05$).

Заключение. Меньшая доля идентифицированных дифференциально метилированных генов между клетками артерий, пораженных атеросклерозом, и интактными сосудами связана с атеросклерозом/его факторами риска в результате исследований генетических ассоциаций. Установлено, что изменение уровня метилирования в локусе 2q31.1 (*HOXD4/HOXD3/MIR10B*) ассоциировано с атеросклеротическим поражением артерий, а в лейкоцитах паци-

ентов уровень метилирования в данном регионе генома связан с курением и ишемическим инсультом.

Российский кардиологический журнал 2017, 10 (150): 42–48
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-42-48>

Ключевые слова: атеросклероз, метилирование ДНК, микроРНК, микрочипы, биомаркеры.

¹Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск; ²ФГБНУ Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, Томск; ³ФГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Томск, Россия.

Назаренко М. С.* — к.м.н., руководитель лаборатории популяционной генетики, Марков А. В. — к.м.н., н.с. лаборатории популяционной генетики, Королева Ю. А. — м.н.с. лаборатории популяционной генетики, Слепцов А. А. — м.н.с. лаборатории популяционной генетики, Казанцев А. Н. — м.н.с. лаборатории реконструктивной хирургии мультифокального атеросклероза, Барбараш О. Л. — д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, директор, Пузырев В. П. — д.м.н., академик РАН, профессор, научный руководитель, научный руководитель.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
 maria.nazarenko@medgenetics.ru

БЛК — лейкоциты пациентов с атеросклеротическим поражением коронарных и сонных артерий, БПВ — интактные большие подкожные вены нижних конечностей, ВГА — интактные внутренние грудные артерии, ЗЛК — лейкоциты относительно здоровых мужчин, КАБ — атеросклеротические бляшки коронарных артерий, САБ — атеросклеротические бляшки сонных артерий, ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания.

Рукопись получена 21.06.2017
 Рецензия получена 09.08.2017
 Принята к публикации 04.09.2017

IDENTIFICATION OF DIFFERENTLY METYLATED GENES POTENTIALLY RELATED TO HUMAN ATHEROSCLEROSIS

Nazarenko M. S.^{1,2,3}, Markov A. V.¹, Koroleva Yu. A.¹, Sleptsov A. A.¹, Kazantsev A. N.², Barbarash O. L.², Puzirev V. P.^{1,3}

Aim. Identification of the genes, different in the level of DNA methylation among the cells of intact or atherosclerotic arteries in patients with coronary and carotid atherosclerosis.

Material and methods. Into the study group, atherosclerosis patients were included, who had undergone coronary bypass surgery or carotid endarterectomy, and relatively healthy individuals. The assessment of methylation level of various 27578 CpG-sites/14475 genes was done with the microchip Infinium Human Methylation27 BeadChip (Illumina) in the specimens of atherosclerotically changed coronary (n=6), carotid (n=6), intact internal thoracic arteries (n=8) and large saphenous veins (n=8). Level of methylation in the locus 2q31.1 (*HOXD4/HOXD3/MIR10B*) was measured with bisulphite pyrosequencing of DNA in the vessels specimens and leucocytes of the same patients (n=130), as in the leucocytes of relatively healthy men (n=110).

Results. In the cells of atherosclerotically changed arteries, comparing to intact vessels, the change of methylation level by 20% and more is found for 46 CpG-

sites/42 genes ($p_{FDR} < 0,05$). Of those 8 genes (*TLR4*, *TRAF1*, *ABCB11*, *NPR2*, *ALOX12*, *TMEM182*, *ALX4* и *FABP1*) are known candidates for atherosclerosis or its risk factors by the results of genetics studies. Most number of CpG sites, where the highest decrease of methylation found in the cells of atherosclerotically changed arteries comparing to the intact, were located in the locus 2q31.1, with the genes *HOXD4/HOXD3/MIR10B*. In leucocytes of patients the level of methylation of one of the CpG-sites in locus 2q31.1 (*HOXD4/HOXD3/MIR10B*) higher in smokers (18±5%), than non-smokers (14±6%; $p < 0,05$), and level of methylation of one of CpG-sites in this area of genome is lower in those who had previous ischemic stroke (18±8%) comparing to those with no stroke anamnesis (20±7%; $p < 0,05$).

Conclusion. Lowest part of the identifiable differently methylated genes among the cells of lesioned arteries and intact vessels is related to atherosclerosis or its risk factors as a result of genetic studies on genetic associations. It is found that the change of methylation level in locus 2q31.1 (*HOXD4/HOXD3/MIR10B*) is associated with atherosclerotic lesion of arteries, and in leucocytes of patients the grade of

methylation in the studied region of genome is related to smoking and ischemic stroke.

Russ J Cardiol 2017, 10 (150): 42–48
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-42-48>

Согласно мировой статистике, одной из ведущих патологий в структуре болезней системы кровообращения является атеросклеротическое поражение артерий, которое приводит к таким тяжелым осложнениям как инфаркт миокарда, инсульт, внезапная смерть [1]. По своей природе атеросклероз является многофакторным заболеванием, значительный вклад в развитие которого вносит генетическая компонента [2, 3]. В настоящее время достигнуты определенные успехи в идентификации локусов, ассоциированных с атеросклеротическим поражением артерий различной локализации. В то же время, существенная доля наследуемости данного заболевания остается невыясненной [4]. Можно предположить, что один из подходов в решении данного вопроса заключается в изучении эпигенетических модификаций генома в тканях органов-мишеней при патологии.

Метилирование ДНК является первым описанным эпигенетическим механизмом и представляет собой ферментативный процесс ковалентного присоединения метильных групп к остаткам цитозина, входящим в состав CpG-динуклеотидов (CpG-сайтов). Метилирование ДНК является нормальным феноменом онтогенеза, регулирующим тканеспецифичную экспрессию генов, стабильность генома, инактивацию X-хромосомы, контроль геномного импринтинга и т.п. Однако под воздействием факторов среды, уровень и рисунок метилирования ДНК может изменяться и быть связан с формированием подверженности к сердечно-сосудистым заболеваниям (ССЗ). Многие факторы риска и биомаркеры ССЗ, такие как возраст, курение, хроническое воспаление, сахарный диабет 2 типа, ожирение, гипергомоцистемия и гиперхолестеринемия, тесно ассоциированы с уровнем метилирования ДНК [5]. Большинство работ, связывающих уровень метилирования ДНК с фенотипами ССЗ, основаны на кандидатном подходе, и проводятся с использованием относительно легко доступного для исследования материала — лейкоцитов периферической крови [6]. Принимая во внимание существующую тканеспецифичность метилирования ДНК, актуальным является изучение данной эпигенетической модификации в клетках артерий, которые являются непосредственным морфологическим субстратом атеросклероза.

В настоящее время активно выполняются исследования с использованием микрочиповых технологий и массового параллельного секвенирования, в которых в качестве материала используются лейкоциты периферической крови и клетки артерий, пора-

Key words: atherosclerosis, DNA methylation, microRNA, microchips, biomarkers.

¹SRI of Medical Genetics, Tomsk National Research Center of RAS, Tomsk; ²SRI of Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Tomsk; ³Siberian State Medical University (SSMU), Tomsk, Russia.

женных атеросклерозом и интактных [7]. Данный подход позволяет идентифицировать определенные регионы генома, регулируемые с помощью метилирования ДНК, которые, в дальнейшем, могут быть проанализированы более детально, в том числе, и на предмет участия в патогенезе заболевания. Однако, данные работы сильно различаются между собой в отношении изучаемых клинических форм патологии, регионов сосудистого русла, критериев формирования выборок и их популяционных особенностей, а также используемых методических подходов анализа уровня метилирования ДНК и алгоритмов биоинформационной обработки данных. Поэтому трудно сопоставить результаты данных работ и выявить закономерности изменения уровня и рисунка метилирования ДНК клеток артерий, являющихся основным органом-мишенью атеросклероза. Таким образом, актуальным является исследование, в котором анализируются различные регионы сосудов, различающиеся по степени их атеросклеротического поражения, взятые как у разных, так и у одних и тех же пациентов для исключения влияния генетической изменчивости.

Цель исследования заключалась в идентификации генов, различающихся по уровню метилирования ДНК между клетками артерий, пораженных атеросклерозом, и интактными сосудами у пациентов с выраженным атеросклеротическим поражением коронарных и сонных артерий.

Материал и методы

В обследование вошли мужчины с выраженным атеросклеротическим поражением коронарных и сонных артерий ($n=130$; $63,4 \pm 8$ лет) и относительно здоровые мужчины, не имеющие клинических проявлений со стороны сердечно-сосудистой системы ($n=110$; $61,3 \pm 12,8$ лет). Индивиды в выборках были русскими по национальности. Формирование выборок и клиническая характеристика пациентов проходила на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения “Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний” (г. Кемерово). Проведение исследования одобрено Комитетом по биомедицинской этике НИИ медицинской генетики (г. Томск). Все индивиды подписали информированное согласие на добровольное участие в исследовании.

У пациентов с атеросклеротическим поражением коронарных и сонных артерий, а также здоровых индивидов, получены образцы лейкоцитов перифе-

рической крови. Кроме того, в результате каротидной эндартерэктомии у пациентов получены образцы сонных артерий, которые включали биоптаты из области атеросклеротической бляшки. Образцы правых коронарных артерий, пораженных атеросклерозом, а также интактных внутренних грудных артерий и больших подкожных вен нижних конечностей собраны в результате коронарного шунтирования. Собранный биологический материал был заморожен в жидком азоте и хранился при температуре -80°C в составе биоколлекции НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ “Биобанк населения Северной Евразии”.

Анализ уровня метилирования 27578 CpG-сайтов, входящих в состав 14475 генов, выполнен с помощью микрочипа Infinium Human Methylation27 BeadChip (Illumina) с использованием ДНК клеток сосудов (атеросклеротических бляшек коронарных (КАБ, $n=6$) и сонных артерий (САБ, $n=6$), интактных внутренних грудных артерий (ВГА, $n=8$) и больших подкожных вен нижних конечностей (БПВ, $n=8$), взятых у 14 мужчин с выраженным атеросклерозом сонных и коронарных артерий, артериальной гипертензией, гиперхолестеринемией, сахарным диабетом 2 типа и инфарктом миокарда в анамнезе. Часть тканей (по 6 образцов БЛК, КАБ, ВГА и БПВ) получена от одних и тех же индивидов.

Выделение ДНК из образцов выполнено с помощью стандартной фенол-хлороформной экстракции, а для биоптатов с предварительной гомогенизацией на приборе Minily (Bertin Tech). Бисульфитная модификация ДНК осуществлена с использованием набора “EZ DNA Methylation Kit” (Zymo Research), согласно протоколу производителя.

Этапы полногеномной амплификации, ферментативного расщепления ДНК на фрагменты, очистки и гибридизации выполнены согласно стандартному протоколу производителя Illumina [8]. Интенсивность сигналов с матрицы измерялась с помощью сканера Illumina BeadArray Reader (Illumina). Первичная обработка полученных данных проводилась в пакете программ GenomeStudio Methylation Module (Illumina). В качестве параметра уровня метилирования использовали показатель индекса или уровня метилирования (β), который соответствовал отношению флуоресцентных сигналов метилированных аллелей к сумме флуоресцентных сигналов метилированных и неметилированных аллелей. Индекс метилирования β варьирует от 0 (неметилированное состояние) до 1 (полное метилирование всех CpG-сайтов в данном положении). Статистический анализ данных осуществлен с помощью пакетов lumi и limma в программной среде R (Bioconductor). Возникновение ложноположительных результатов (FDR, false discovery rate) при множественном сравнении данных скорректировано по методу Benjamini-Hochberg

(p_{FDR}). Дифференциально метилированными считались CpG-сайты с разницей среднего уровня метилирования между группами образцов $|\Delta\beta| \geq 0,2$, что превышает погрешность измерения на микрочипе и дополняет статистическую значимость различий биологически обоснованным критерием, и $p_{\text{FDR}} < 0,05$.

Для детального анализа уровня метилирования в области локуса 2q31.1 (*HOXD4/HOXD3/MIR10B*) использован метод пиросеквенирования модифицированной бисульфитом ДНК на приборе “PyroMark Q24” (Qiagen). Спектр анализируемых тканей включал САБ ($n=130$) и лейкоциты крови (БЛК, $n=130$), взятые у пациентов с выраженным атеросклеротическим поражением коронарных и сонных артерий, а также лейкоциты, полученные от относительно здоровых мужчин (ЗЛК, $n=110$). Амплификация модифицированной бисульфитом ДНК проводилась на термоциклере (Biometra) при $t_{\text{отж}} = 56^{\circ}\text{C}$ с использованием праймеров F: 5' - GGTTATTTGAATTGTTT TAGAAAG - 3'; R: Биотин-5' - CACTTAACTCTAАСТАТТСС - 3'; S: 5' - TTTTGGGTGGGATTAGAGTTGT - 3'.

Сравнение уровней метилирования отдельных CpG-сайтов в группах исследования проводилось с использованием критериев Краскела-Уоллиса, Манна-Уитни и Уилкоксона, для тестирования корреляционных отношений между измеряемыми величинами использовался коэффициент корреляции Спирмена. Различия принимались как статистически значимые при $p < 0,05$.

Экспериментальные исследования выполнены на базе Центра коллективного пользования научно-исследовательским оборудованием и экспериментальным биологическим материалом “Медицинская геномика” НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ.

Результаты и обсуждение

На первом этапе исследования было проведено сравнение уровней метилирования 27578 CpG-сайтов, входящих в состав 14475 генов, между образцами КАБ-ВГА, КАБ-БПВ, САБ-ВГА, САБ-БПВ. В результате получены списки дифференциально метилированных CpG-сайтов и генов, различающихся по уровню метилирования на 20% и более, между образцами атеросклеротически пораженных артерий (САБ и КАБ) и интактных сосудов (ВГА и БПВ). Метилирование ДНК — тканеспецифичный феномен, поэтому для того, чтобы идентифицировать вариабельность метилирования ДНК, потенциально связанную не с регионарными особенностями сосудов, а с собственно атеросклеротическим поражением артерий, мы сравнили спектр дифференциально метилированных регионов генома между клетками артерий, пораженных атеросклерозом и относящихся к разным сосудистым руслам (КАБ и САБ), и интактными сосудами (ВГА и БПВ).

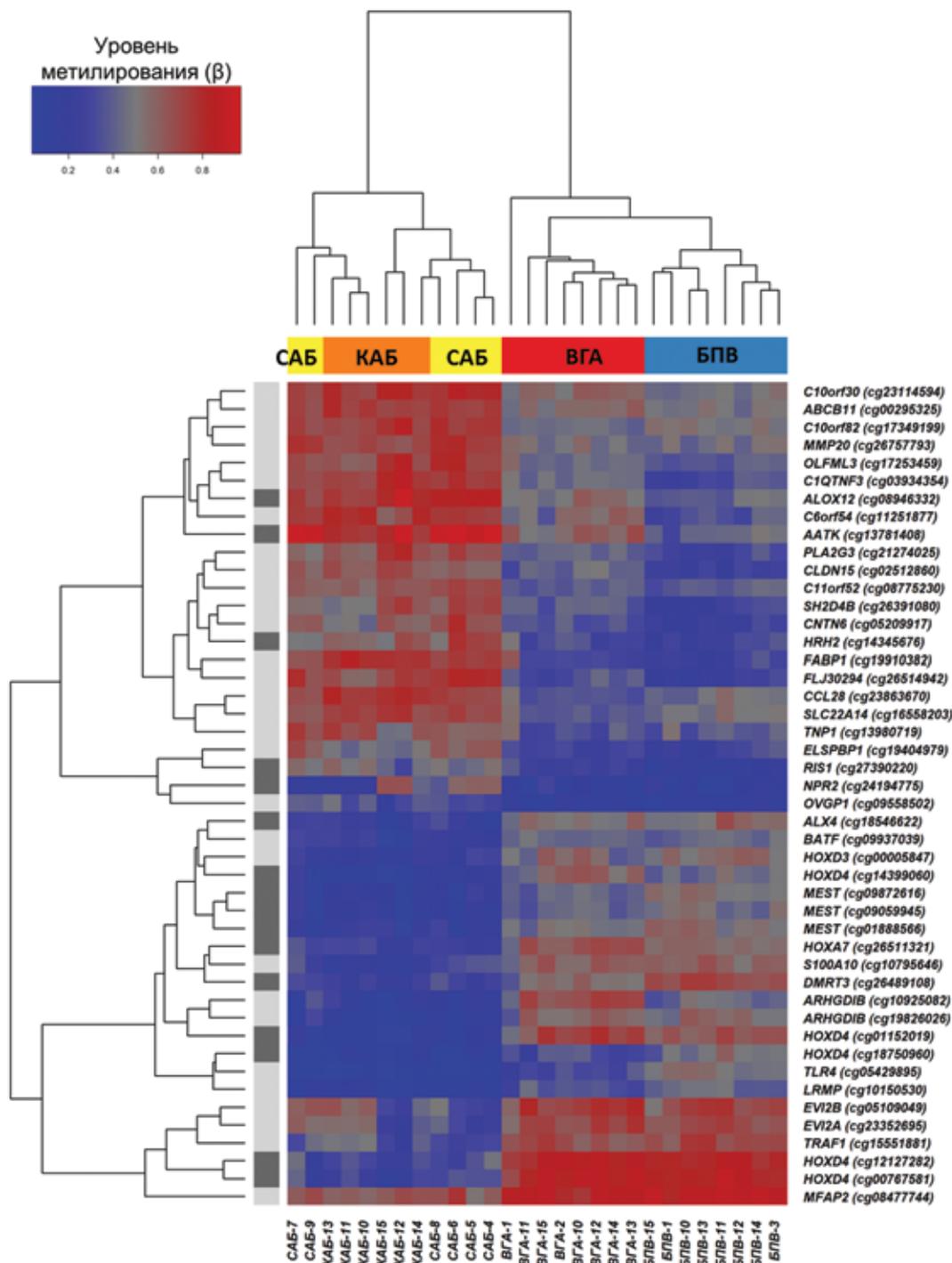


Рис. 1. Дифференциально метилированные CpG-сайты (гены) с различиями в уровне метилирования 20% и более и $p_{FDR} < 0,05$ между атеросклеротически измененными артериями и интактными сосудами.

Сокращения: БПВ — интактные большие подкожные вены нижних конечностей, ВГА — интактные внутренние грудные артерии, КАБ — атеросклеротические бляшки коронарных артерий, САБ — атеросклеротические бляшки сонных артерий.

В результате идентифицировано 46 ДМ CpG-сайтов, входящих в состав 42-х генов (рис. 1). Большая часть данных CpG-сайтов (генов) была гиперметилирована в пораженных атеросклерозом коронарных и сонных артериях по сравнению с интактными сосу-

дами. Это гены *C10orf30/BEND7*, *ABCB11*, *C10orf82*, *MMP20*, *OLFML3*, *C1QTNF3*, *ALOX12*, *C6orf54/KIF25-AS1*, *AATK*, *PLA2G3*, *CLDN15*, *C11orf52/HSPB2*, *SH2D4B*, *CNTN6*, *HRH2*, *FABP1*, *FLJ30294/TMEM182*, *CCL28*, *SLC22A14*, *TNP1*, *ELSPBP1*, *RIS1/TMEM158*,

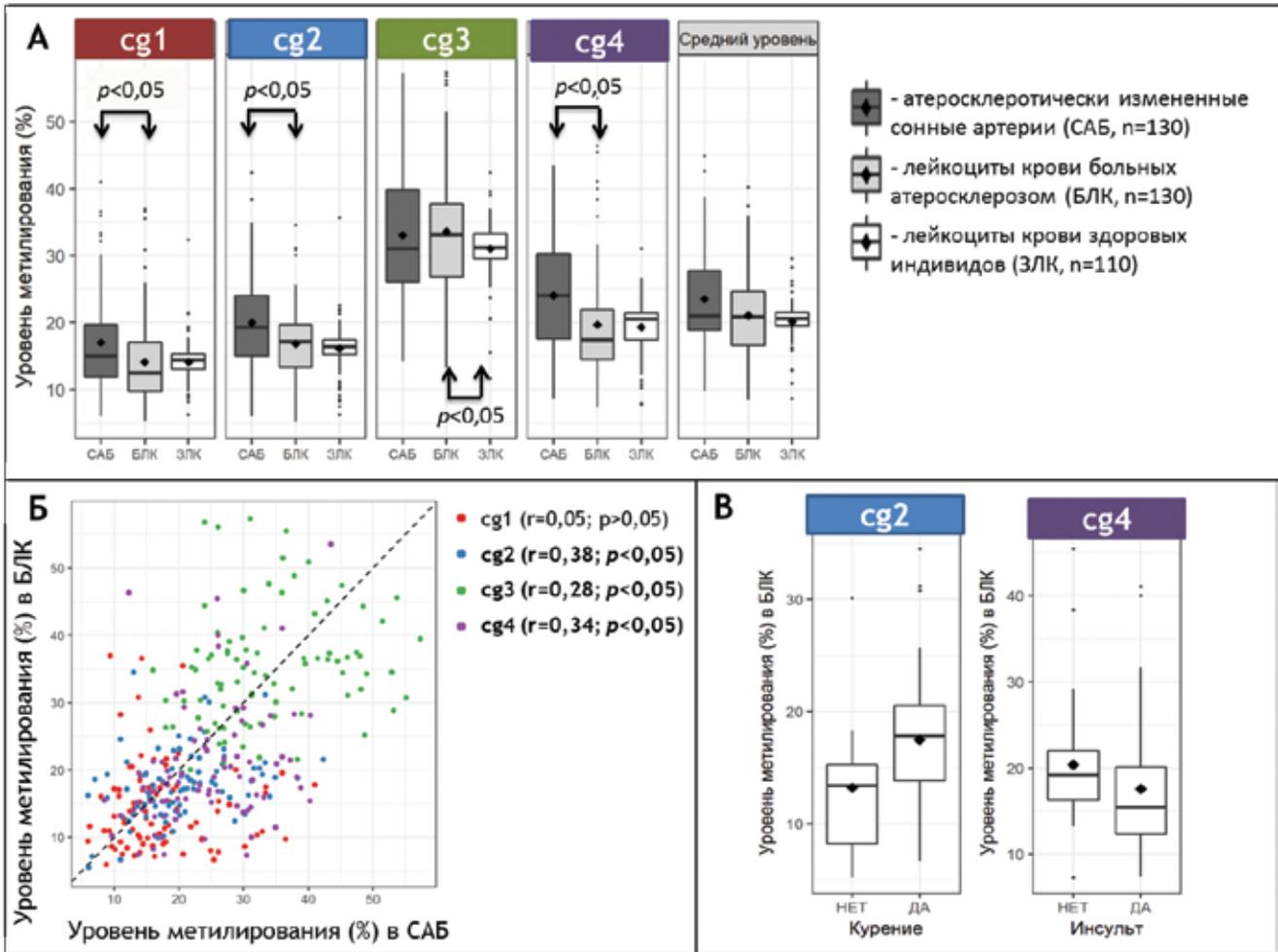


Рис. 2 (А, Б, В). А — уровень метилирования 4 CpG-сайтов (cg1, cg2, cg3 и cg4) в локусе 2q31.1 (гены *HOXD4/HOXD3/MIR10B*) в атеросклеротически измененных сонных артериях (САБ), а также в лейкоцитах крови пациентов с атеросклерозом (БЛК) и относительно здоровых индивидов (ЗЛК); Б — корреляция уровня метилирования анализируемых CpG-сайтов между лейкоцитами и клетками атеросклеротически измененных сонных артерий; В — уровень метилирования cg4 и cg2 в лейкоцитах пациентов с атеросклеротическим поражением коронарных и сонных артерий в зависимости от курения и перенесенного ишемического инсульта в анамнезе.

NPR2, OVGPI. Среди CpG-сайтов, гипометилированных в артериях, пораженных атеросклерозом, по сравнению с интактными сосудами, были гены *ALX4, BATF, HOXD3, HOXD4, MIR10B, MEST/PEG1, HOXA7, S100A10, DMRT3, ARHGDI3, TLR4, LRMP, EVI2B/NF1, EVI2A/NF1, TRAF1, MFAP2*.

В клетках атеросклеротически измененных артерий по сравнению с интактными сосудами выявлено существенное снижение уровня метилирования в генах *TLR4* и *TRAF1*, а увеличение — в генах *ABCB11, NPR2, ALOX12, TMEM182, ALX4* и *FABP1* (рис. 1). Полиморфизм по однонуклеотидным заменам перечисленных генов ранее показал связь с атеросклерозом и его факторами риска у человека при анализе генетических ассоциаций. С субклиническим атеросклерозом и осложнениями атеросклероза в виде острых сосудистых событий ассоциирован полиморфизм генов *TLR4* и *TRAF1* [9, 10], а для гена *ALOX12*

установлена связь с атеросклерозом, сахарным диабетом 2 типа и артериальной гипертензией [11]. Полиморфизм генов *FABP1* и *ABCB11* связан с метаболическими нарушениями (ожирение, метаболический синдром, дислипидемия, неалкогольная жировая болезнь печени) [12, 13], а гены *TMEM182* и *NPR2* — с сосудистыми нарушениями в виде артериальной гипертензии [14, 15], ген *ALX4* — с сосудисто-метаболическими нарушениями в виде сахарного диабета 2 типа [16].

Наибольшее количество CpG-сайтов, в которых выявлено существенное снижение уровня метилирования в клетках атеросклеротически измененных артерий по сравнению с интактными сосудами, располагалось в локусе 2q31.1, содержащем гены *HOXD4/HOXD3/MIR10B* (рис. 1). В связи с этим, данный локус выбран для детального анализа уровня метилирования CpG-сайтов с помощью метода пиросеквениро-

вания модифицированной бисульфитом ДНК. Анализируемый регион включает 4 CpG-сайта (cg1, cg2, cg3 и cg4), в том числе cg1 (cg01152019) и cg2 (cg14399060), которые были исследованы на микрочипе (рис. 2А). Уровень метилирования cg1, cg2 и cg4 на 3% выше в атеросклеротически измененных сонных артериях, чем в лейкоцитах ($p < 0,05$; рис. 2А). CpG-сайты cg2, cg3 и cg4 коррелируют по своему уровню метилирования между тканями ($r = -0,38$ – $-0,28$ – $-0,34$; $p < 0,05$; рис. 2Б). Это свидетельствует о том, что лейкоциты как легкодоступный для исследования источник ДНК могут быть использованы в качестве суррогатного материала для оценки уровня метилирования ДНК данного локуса в атеросклеротически измененных артериях. Уровень метилирования cg3 анализируемого региона генома был выше в лейкоцитах пациентов ($34 \pm 9\%$) по сравнению с относительно здоровыми индивидами ($31 \pm 4\%$; рис. 2А). Кроме того, в лейкоцитах пациентов уровень метилирования cg2 выше у курящих ($18 \pm 5\%$), чем у некурящих ($14 \pm 6\%$; $p < 0,05$; рис. 2В), а уровень метилирования cg4 ниже у тех, кто перенес ишемический инсульт ($18 \pm 8\%$) по сравнению с индивидами без инсульта в анамнезе ($20 \pm 7\%$; $p < 0,05$; рис. 2В). Несмотря на то, что изменение уровня метилирования ДНК между анализируемыми тканями составляло 3%, даже такие значения могут быть связаны с изменением экспрессии генов и нарушать функцию клеток и органов [17].

Локус 2q31.1 содержит гены *HOXD4/HOXD3/MIR10B*. Гомеобокс-содержащие гены *HOXD3* и *HOXD4* кодируют транскрипционные факторы, которые играют важную роль в установлении позиционной информации при васкулогенезе во время эмбрионального развития, а также определяют фенотип эндотелиальных и гладкомышечных клеток сосудов при ремоделировании в сосудистом русле у взрослого человека [18]. Принимая во внимание, что экспрессия *HOX* генов регулируется эпигенетическими механизмами [19, 20], не исключено, что выявленное в настоящем исследовании изменение уровня метилирования в данном регионе генома связано с изменением функциональной активности генов в сосудах.

Среди CpG-сайтов, гипометилированных в клетках атеросклеротически измененных артерий по сравнению с интактными сосудами, были другие гомеобокс-содержащие гены — *HOXA7* и *ALX4* (рис. 1). С одной стороны, эпигенетические изменения в гомеобокс-содержащих генах отражают естественные процессы развития, заключающиеся в пролиферации и дифференцировки клеток. С другой стороны, изменение уровня метилирования данных генов связано с патологией. В частности, выявленное гипометилирование гомеобокс-содержащих генов в клетках атеросклеротически измененных артерий по сравнению с интактными сосудами может быть признаком

патологического ремоделирования артерий, которое происходит на поздних стадиях атеросклеротического процесса. Изменение уровня метилирования в гомеобокс-содержащих генах в столовых клетках отражает способность ткани к самовосстановлению, что в настоящее время является фокусом пристального внимания регенеративной медицины [21].

Гиперметилирование в генах *HOX* и *ALX4* часто регистрируется в опухолевом очаге по сравнению с неизменной тканью и связано с неблагоприятным течением патологического процесса и исходом [22]. В то же время, в скелетных мышцах у пациентов ювенильным дерматомиозитом по сравнению с контролем выявлено снижение уровня метилирования в генах *HOXD3*, *HOXD4* и *ALX4* [23]. Такое сходство профиля метилирования гомеобокс-содержащих генов при атеросклерозе и такого хронического системного аутоиммунно-воспалительного заболевания скелетных мышц и васкулопатии — как ювенильный дерматомиозит, говорит об общности патогенеза данных патологических состояний, но отличается от злокачественных новообразований, которые характеризуются гиперметилированием данных генов.

Следует отметить, что 3 CpG-сайта в локусе 2q31.1 располагались также в области гена *MIR10B*. Связь изменения уровня метилирования ДНК в данном регионе генома с атеросклерозом может быть реализована через регуляцию экспрессии микроРНК — miR-10b. Данная микроРНК экспрессируется в эндотелиальных клетках, индуцируя их миграцию и ангиогенез через снижение экспрессии гена *HoxD10* [24]. В макрофагах miR-10b может ингибировать экспрессию генов *Abca1* и *Abcg1*, тем самым снижая интенсивность обратного транспорта холестерина из данных клеток [25]. Кроме того, мишенью miR-10b является KLF-4, который играет важную роль в регуляции поляризации макрофагов из провоспалительного в противовоспалительный фенотип *in vitro* [26].

Параллельно с нашим научным коллективом работали финские исследователи [27]. В своей работе они обнаружили гипометилирование более 140 областей генов микроРНК, включая *MIR10B*, с помощью технологии полногеномного бисульфитного секвенирования в атеросклеротических бляшках бедренных артерий по сравнению с интактными внутренними грудными артериями [27]. Это говорит о том, что данное событие неслучайно и может являться важной детерминантой атеросклеротического поражения артерий, причем вне зависимости от его локализации. Настоящее исследование одно из первых, в котором установлено, что у человека *in vivo* в клетках артерий при их атеросклеротическом поражении, метилирование ДНК может быть связано с функциональной активностью генов микроРНК. Согласно данным литературы, в пораженных атеросклерозом сонных артериях по сравнению с неизменными

внутренними грудными артериями показано увеличение экспрессии miR-10b [28]. Более того, увеличение экспрессии miR-10b является маркером самовосстановления столовых клеток злокачественных опухолей [29]. Поскольку данная микроРНК детектируется в сыворотке, не исключено, что она важна для ранней диагностики и прогнозирования течения атеросклеротического поражения артерий и злокачественных новообразований у человека. MiR-10b, в числе прочих, является перспективной терапевтической мишенью и кандидатом для разрабатываемых схем таргетной фармакотерапии, направленной на ее ингибирование и увеличение обратного транспорта холестерина из клеток при дислипидемиях [30], а также на ингибирование процесса метастазирования при раке [31].

Заключение

Таким образом, у пациентов с атеросклерозом в клетках атеросклеротически измененных коронар-

ных и сонных артерий на поздних стадиях патологического процесса по сравнению с интактными сосудами выявлено дифференциальное метилирование 46 CpG-сайтов, входящих в состав 42 генов. Из них только 8 генов (*TLR4*, *TRAF1*, *ABCB11*, *NPR2*, *ALOX12*, *TMEM182*, *ALX4* и *FABP1*) связаны с атеросклерозом или его факторами риска в результате анализа генетических ассоциаций. Однако, большая часть идентифицированных в работе генов с измененным уровнем метилирования ДНК ранее не была изучена в отношении данной патологии. Установлено, что изменение уровня метилирования в локусе 2q31.1 (*HOXD4/HOXD3/MIR10B*) ассоциировано с атеросклеротическим поражением артерий, а в лейкоцитах пациентов уровень метилирования в данном регионе генома связан с курением и ишемическим инсультом.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 16-15-10150).

Литература

- Shalnova SA, Konradi AO, Karpov YuA, et al. Mortality analysis from cardiovascular diseases in 12 regions of the Russian Federation participating in the study "Epidemiology of cardiovascular diseases in various regions of Russia". *Russ J Cardiol* 2012; 97: 6-11. (In Russ.) Шальнова С. А., Конради А. О., Карпов Ю. А., и др. Анализ смертности от сердечно-сосудистых заболеваний в 12 регионах Российской Федерации, участвующих в исследовании "Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний в различных регионах России". *Российский Кардиологический Журнал* 2012; 97: 6-11.
- Dzizinsky AA, Puzurev VP. Heredity and atherosclerosis. *Nauka*. Novosibirsk: 1977. p. 176. (In Russ.) Дзизинский А. А., Пузырев В. П. Наследственность и атеросклероз. Наука. Новосибирск: 1977 с. 176.
- Bjorkregren JLM, Kovacic JC, Dudley JT, et al. Genome-wide significant loci: How important are they?: Systems genetics to understand heritability of coronary artery disease and other common complex disorders. *J Am Coll Cardiol* 2015; 65: 830-45.
- Eichler EE, Flint J, Gibson G, et al. Missing heritability and strategies for finding the underlying causes of complex disease. *Nat Rev Genet* 2010; 11: 446-50.
- Hai Z, Zuo W. Aberrant DNA methylation in the pathogenesis of atherosclerosis. *Clin Chim Acta* 2016; 456: 69-74.
- Muka T, Koromani F, Portilla E, et al. The role of epigenetic modifications in cardiovascular disease: A systematic review. *Int J Cardiol* 2016; 212: 174-83.
- Fernandez-Sanles A, Sayols-Baixeras S, Subirana I, et al. Association between DNA methylation and coronary heart disease or other atherosclerotic events: A systematic review. *Atherosclerosis* 2017; S0021-9150: 30225-3.
- Bibikova M, Le J, Barnes B, et al. Genome-wide DNA methylation profiling using Infinium assay. *Epigenomics* 2009; 1: 177-200.
- Sharma S, Garg I, Ashraf MZ. TLR signalling and association of TLR polymorphism with cardiovascular diseases. *Vascul Pharmacol* 2016; 87: 30-7.
- Hessler N, Geisel MH, Coassin S, et al. Linkage and Association Analysis Identifies *TRAF1* Influencing Common Carotid Intima-Media Thickness. *Stroke* 2016; 47: 2904-9.
- Mashima R, Okuyama T. The role of lipoxygenases in pathophysiology; new insights and future perspectives. *Redox Biol* 2015; 6: 297-310.
- McCaffery JM, Papandonatos GD, Huggins GS, et al. Human cardiovascular disease IBC chip-wide association with weight loss and weight regain in the look AHEAD trial. *Hum Hered* 2013; 75: 160-74.
- Schroeder F, McIntosh AL, Martin GG, et al. Fatty Acid Binding Protein-1 (FABP1) and the Human FABP1 T94A Variant: Roles in the Endocannabinoid System and Dyslipidemias. *Lipids* 2016; 51: 655-76.
- Ellis KL, Newton-Cheh C, Wang TJ, et al. Association of genetic variation in the natriuretic peptide system with cardiovascular outcomes. *J Mol Cell Cardiol* 2011; 50: 695-701.
- Kim YK, Kim Y, Hwang MY, et al. Identification of a genetic variant at 2q12.1 associated with blood pressure in East-Asians by genome-wide scan including gene-environment interactions. *BMC Med Genet* 2014; 15: 65.
- Sladek R, Rocheleau G, Rung J, et al. A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature* 2007; 445: 881-5.
- Leenen FA, Muller CP, Turner JD. DNA methylation: conducting the orchestra from exposure to phenotype? *Clin. Epigenetics* 2016; 8: 92.
- Pruett ND, Visconti RP, Jacobs DF, et al. Evidence for Hox-specified positional identities in adult vasculature. *BMC Dev Biol* 2008; 8: 93.
- Burridge KA, Friedman MH. Environment and vascular bed origin influence differences in endothelial transcriptional profiles of coronary and iliac arteries. *AJP Hear Circ Physiol* 2010; 299: H837-H846.
- Jiang Y-Z, Manduchi E, Stoeckert CJ, et al. Arterial endothelial methylome: differential DNA methylation in athero-susceptible disturbed flow regions in vivo. *BMC Genomics* 2015; 16: 506.
- Seifert A, Werheid DF, Knapp SM, et al. Role of Hox genes in stem cell differentiation. *World J Stem Cells* 2015; 7: 583-95.
- Bhatlekar S, Fields JZ, Boman BM. HOX genes and their role in the development of human cancers. *J Mol Med* 2014; 92: 811-23.
- Wang M, Xie H, Shrestha S, et al. Methylation alterations of WT1 and homeobox genes in inflamed muscle biopsy samples from patients with untreated juvenile dermatomyositis suggest self-renewal capacity. *Arthritis Rheum* 2012; 64: 3478-85.
- Shen X, Fang J, Lv X, et al. Heparin impairs angiogenesis through inhibition of microRNA-10b. *J Biol Chem* 2011; 286: 26616-27.
- Wang D, Xia M, Yan X, et al. Gut microbiota metabolism of anthocyanin promotes reverse cholesterol transport in mice via repressing miRNA-10b. *Circ Res* 2012; 111: 967-81.
- Tian Y, Luo A, Cai Y, et al. MicroRNA-10b promotes migration and invasion through KLF4 in human esophageal cancer cell lines. *J Biol Chem* 2010; 285: 7986-94.
- Aavik E, Lumivuori H, Leppänen O, et al. Global DNA methylation analysis of human atherosclerotic plaques reveals extensive genomic hypomethylation and reactivation at imprinted locus 14q32 involving induction of a miRNA cluster. *Eur Heart J* 2015; 36: 993-1000.
- Bidzhekov K, Gan L, Denecke B, et al. microRNA expression signatures and parallels between monocyte subsets and atherosclerotic plaque in humans. *Thromb Haemost* 2012; 107: 619-25.
- Bahena Ocampo I, Espinosa M, Ceballos Cancino G, et al. miR-10b expression in breast cancer stem cells supports self-renewal through negative PTEN regulation and sustained AKT activation. *EMBO Rep* 2016; 17: 648-58.
- Davalos A, Fernandez-Hernando C. From evolution to revolution: MiRNAs as pharmacological targets for modulating cholesterol efflux and reverse cholesterol transport. *Pharmacol Res* 2013; 75: 60-72.
- Devulapally R, Sekar NM, Sekar TV, et al. Polymer nanoparticles mediated codelivery of AntimiR-10b and AntimiR-21 for achieving triple negative breast cancer therapy. *ACS Nano* 2015; 9: 2290-302.

ПОКАЗАТЕЛИ ЛИПИДНОГО СПЕКТРА И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С УРОВНЕМ ОКИСЛИТЕЛЬНО МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЛИПОПРОТЕИДОВ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ

Хлебус Э. Ю.^{1,2}, Мешков А. Н.¹, Ланкин В. З.³, Орловский А. А.⁴, Киселева А. В.¹, Щербакова Н. В.¹, Жарикова А. А.¹, Ершова А. И.¹, Тихазе А. К.³, Яровая Е. Б.⁴, Чазова И. Е.³, Бойцов С. А.

Цель. Изучение биохимических и генетических маркеров, ассоциированных с уровнем окислительно модифицированных липопротеидов низкой плотности (ок-ЛНП).

Материал и методы. В исследование включались пациенты с разной величиной сердечно-сосудистого риска, рассчитанного по шкале SCORE. Биохимические показатели определяли в сыворотке крови с помощью автоматического анализатора Architect C8000 (Abbott, США). Уровень ок-ЛНП в плазме крови измеряли с помощью метода твердофазного иммуноферментного анализа (тест-наборы Oxidized LDL ELISA фирмы Mercodia, Швеция). Генотипирование проводили с использованием микроматриц Cardio-MetaboChip (Illumina, США). В анализ вошло 17 однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) гена *APOB*: rs676210, rs1042034, rs6728178, rs6754295, rs673548, rs6711016, rs11902417, rs10184054, rs6544366, rs4564803, rs7557067, rs2678379, rs533617, rs679899, rs1801695, rs1367117, rs1042031. Поиск ассоциаций ОНП с уровнем ок-ЛНП проводился с применением ROC-анализа. На основе полученных результатов была выделена группа ОНП, по которой формировался суммарный балл (СБ) с учётом направленности каждого ОНП, свидетельствующий о степени генетической предрасположенности к повышенному уровню ок-ЛНП.

Результаты. В исследование было включено 717 пациентов в возрасте от 28 до 84 лет (медиана 57), мужчин было 204 (28,45%). Уровень ок-ЛНП варьировался от 21,03 до 163,72 ед./дл (медиана 68,5) и коррелировал с уровнями общего холестерина (ХС), триглицеридов (ТГ), холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС-ЛНП), С-реактивного белка (СРБ) и аполипопротеина В-100 (АпоВ-100), при этом наибольшие коэффициенты корреляции были с АпоВ-100 и ХС-ЛНП (0,61 и 0,55, соответственно, $p < 10^{-10}$). Четырнадцать ОНП гена *APOB* (rs6728178, rs11902417, rs6544366, rs4564803, rs6754295, rs7557067, rs1042034, rs2678379, rs676210, rs673548, rs679899, rs6711016, rs10184054, rs1042031) статистически значимо ассоциировались с уровнем ок-ЛНП. Наличие сцепленных ОНП позволило ограничиться десятью из четырнадцати ОНП для формирования суммарного балла (СБ). В силу протективной направленности большинства ОНП пациенты с СБ ≤ 3 были выделены, как пациенты с генетической предрасположенностью к повышенному уровню ок-ЛНП. В ходе регрессионного анализа было показано, что при одном и том же уровне АпоВ-100 пациенты с СБ ≤ 3 имели в среднем на 10 усл. ед. выше уровень ок-ЛНП чем пациенты с СБ > 3 ($p < 10^{-10}$), а с одинаковым уровнем ХС-ЛНП на 5 усл. ед., соответственно, ($p < 10^{-6}$).

Заключение. На уровень ок-ЛНП влияет как уровень ХС-ЛНП и АпоВ-100 в крови пациентов, так и наследственная предрасположенность — сочетание аллелей ОНП гена *APOB*.

Ключевые слова: окислительно модифицированные липопротеиды низкой плотности, ХС-ЛНП, АпоВ-100, однонуклеотидный полиморфизм, атеросклероз, малоновый диальдегид, ген *APOB*.

¹ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр профилактической медицины Минздрава России, Москва; ²ФГАОУ ВО Московский физико-технический институт (государственный университет), Москва; ³ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии Минздрава России, Москва; ⁴ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия.

Хлебус Э. Ю.* — м.н.с. лаборатории молекулярной генетики, аспирант, Мешков А. Н. — к.м.н., руководитель лаборатории молекулярной генетики, Ланкин В. З. — д.б.н., профессор, руководитель лаборатории биохимии свободно-радикальных процессов, Орловский А. А. — студент механико-математического факультета кафедры теории вероятностей, Киселева А. В. — к.б.н., с.н.с. лаборатории молекулярной генетики, Щербакова Н. В. — м.н.с. лаборатории молекулярной генетики, Жарикова А. А. — м.н.с. лаборатории молекулярной генетики, Ершова А. И. — к.м.н., с.н.с. лаборатории молекулярной генетики, Тихазе А. К. — д.м.н., профессор, в.н.с. лаборатории биохимии свободно-радикальных процессов, Яровая Е. Б. — д.ф.-м.н., профессор кафедры теории вероятностей, Чазова И. Е. — академик РАН, д.м.н., профессор, директор института клинической кардиологии, Бойцов С. А. — член-корр. РАН, д.м.н., профессор, генеральный директор.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
elkhlebus@gmail.com

АпоА1 — аполипопротеин А1, АпоВ-100 — аполипопротеин В-100, ЛНП — липопротеиды низкой плотности, Лп(а) — липопротеин (а), МДА — малоновый диальдегид, ок-ЛНП — окислительно модифицированные липопротеиды низкой плотности, ОНП — однонуклеотидный полиморфизм, СБ — суммарный балл, СРБ — С-реактивный белок, ТГ — триглицериды, ХС — общий холестерин, ХС-ЛВП — холестерин липопротеидов высокой плотности, ХС-ЛНП — холестерин липопротеидов низкой плотности.

Рукопись получена 21.09.2017

Рецензия получена 22.09.2017

Принята к публикации 25.09.2017

Российский кардиологический журнал 2017, 10 (150): 49–54

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-49-54>

LIPID PROFILE AND GENETIC MARKERS ASSOCIATED WITH THE LEVEL OF OXIDIZED LOW DENSITY LIPOPROTEIDES

Khlebus E. Yu.^{1,2}, Meshkov A. N.¹, Lankin V. Z.³, Orlovsky A. A.⁴, Kiseleva A. V.¹, Shcherbakova N. V.¹, Zharikova A. A.¹, Ershova A. I.¹, Tikhaze A. K.³, Yarovaya E. B.⁴, Chazova I. E.³, Boytsov S. A.

Aim. To assess biochemical and genetic markers associated with the level of oxidized low density lipoproteides (oxLDL).

Material and methods. Patients with various cardiovascular risk according to the SCORE scale were included in this study. Biochemical parameters were measured in blood serum with automatic analyzer Architect C8000 (Abbott, USA). OxLDL level was measured with the hard-phase immune-enzyme assay Oxidized LDL ELISA (Mercodia, Sweden). Genotyping was performed via the Cardio-MetaboChip microarrays (Illumina, USA). Seventeen single-nucleotide polymorphisms (SNP) of the *APOB* gene were included into analysis: rs676210, rs1042034, rs6728178,

rs6754295, rs673548, rs6711016, rs11902417, rs10184054, rs6544366, rs4564803, rs7557067, rs2678379, rs533617, rs679899, rs1801695, rs1367117, rs1042031. The association study between SNP and oxLDL level was performed by the ROC-analysis. Based on results, the group of SNP was selected. According to this group, the total score (TS) showing the level of genetic susceptibility to an increased oxLDL level was calculated.

Results. The present study included 717 patients ranging from 28 to 84 years old (with the median of 57), 204 men (28.45%). The oxLDL level varied from 21,03 to 163,72 U/dL (median 68,5) and correlated with the levels of total cholesterol (TC),

triglycerides (TG), low density cholesterol (LDL-C), C-reactive protein (C-RP) and apolipoprotein B-100 (ApoB-100). The highest coefficients of correlations ($p < 10^{-10}$) were derived for ApoB-100 and LDL-C (0,61 and 0,55, respectively). Fourteen SNPs of the *APOB* gene (rs6728178, rs11902417, rs6544366, rs4564803, rs6754295, rs7557067, rs1042034, rs2678379, rs676210, rs673548, rs679899, rs6711016, rs10184054, rs1042031) were significantly associated with the oxLDL. For the TS calculation we used only ten out of fourteen SNP because of the presence of linked SNP. Patients with $TS \leq 3$ were referred to as those who had genetic susceptibility to the increased oxLDL level due to the protective role of most SNP. The regression study has revealed that patients with the same ApoB-100 level and with $TS \leq 3$ had higher oxLDL level in average of 10 units than the patients with the $TS > 3$ ($p < 10^{-10}$), and the patients with the same LDL-C level by 5 units, respectively ($p < 10^{-6}$).

Conclusion. The oxLDL level depends on the level of LDL-C and ApoB-100 in blood, as well as on the genetic susceptibility — a combination of the SNP of *APOB* gene.

Заболевания сердечно-сосудистой системы атеросклеротического генеза продолжают занимать первое место среди неинфекционных болезней человека. В связи с этим, изучение новых факторов риска возникновения атеросклероза и его осложнений не теряет свою актуальность. Общеизвестно, что начальные (предатерогенные) повреждения связаны с возникновением так называемых “пенистых клеток” (зон липоидоза) в стенке сосудов [1, 2]. Перегруженные липид-содержащими вакуолями пенистые клетки образуются при неконтролируемом захвате макрофагами окислительно модифицированных липопротеидов низкой плотности (ок-ЛНП) [1, 2]. Макрофаги содержат рецепторы к ок-ЛНП, включая скавенджер рецепторы, которые обеспечивают эффективную элиминацию окислительно модифицированных частиц липопротеидов низкой плотности (ЛНП) из кровотока [3, 4]. Ведущую роль в атерогенной окислительной модификации ЛНП играет не накопление ацилгидропероксидов в фосфолипидах наружного слоя частиц ЛНП, а химическая модификация единственного белка ЛНП — апопротеина В-100 при образовании вторичных продуктов свободнорадикального окисления липидов ЛНП — 4-гидроксиноненаля, малонового диальдегида (МДА) и других природных дикарбониллов [3, 4]. Ок-ЛНП являются факторами риска возникновения ишемической болезни сердца [5, 6], также показано, что диагностическая ценность определения уровня ок-ЛНП значительно превышает таковую при определении общепринятых биохимических маркеров атеросклероза — уровня общего холестерина и холестерина ЛНП [7]. Гиперлипидемия может индуцировать повышение уровня ок-ЛНП [2]. Ранее показано, что повышенный уровень ок-ЛНП также может быть генетически детерминирован и связан с вариантами гена *APOB* [8]. Однако совместный вклад липидных и генетических факторов в повышенный уровень ок-ЛНП ранее не изучался.

Целью работы было изучение биохимических и генетических маркеров, ассоциированных с уровнем ок-ЛНП у пациентов с различной величиной сердечно-сосудистого риска, рассчитанного по шкале

Russ J Cardiol 2017, 10 (150): 49–54

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-49-54>

Key words: oxidized low density lipoprotein, LDL-C, ApoB-100, single-nucleotide polymorphism, atherosclerosis, malondialdehyde, *APOB*.

¹National Research Center for Preventive Medicine of the Ministry of Health, Moscow; ²Moscow Institute of Physics and Technology (State University), Moscow; ³National Center Research of Cardiology of the Ministry of Health, Moscow; ⁴M. V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia.

(SCORE) [9]. Отличительной особенностью работы является применение ROC-анализа [10] для исследования связи генетических маркеров с показателями липидного спектра, позволяющее находить отрезные точки уровней ок-ЛНП, аполипопротеина В-100 (АпоВ-100) и холестерина ЛНП, для разделения по генотипам — как по каждому из однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) в отдельности, так и по введенному интегральному показателю, суммирующему аллели нескольких ОНП — суммарному баллу (СБ).

Материал и методы

Исследование выполняли в рамках реализации научно-исследовательской работы “Апробация и внедрение в практику амбулаторно-поликлинических учреждений новых алгоритмов предупреждения, диагностики и лечения атеросклероза на примере ЗАО г. Москвы”. Основные аспекты дизайна и методов исследования опубликованы ранее [11, 12].

В данной работе использовали данные 717 пациентов с разной величиной сердечно-сосудистого риска, рассчитанного по шкале (SCORE) [9], у которых было проведено измерение уровня ок-ЛНП, и определены варианты гена *APOB*.

Анализ факторов риска включал: учет возраста, пола, показателя индекса массы тела, окружности талии, наличие/отсутствие артериальной гипертензии, курения, метаболического синдрома, сахарного диабета, перенесенного инфаркта миокарда, острых нарушений мозгового кровообращения.

Забор крови проводили натощак, после 12-часового периода голодания. Уровни общего холестерина (ХС), триглицеридов (ТГ), холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС-ЛВП), холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС-ЛНП), аполипопротеина В-100 (АпоВ-100), аполипопротеина А1, С-реактивного белка (СРБ) и липопротеина (а) определяли в сыворотке крови с помощью автоматического анализатора Architect С8000 (Abbott, США).

Уровень ок-ЛНП определяли в плазме крови, взятой с ЭДТА (1 мг/мл) в качестве антикоагулянта и антиоксиданта. Определение проводили с помощью

метода твердофазного иммуноферментного анализа (тест-наборы Oxidized LDL ELISA (Merckodia, Швеция)), используя планшетный спектрофотометр BioTek EL 808 (США). Специфичность связывания с моноклональными антителами mAb-4E6, используемыми в тест-наборах Merckodia Oxidized LDL ELISA (Швеция), проверялась для МДА-модифицированных ЛНП, а также глиоксаль-модифицированных ЛНП и метилглиоксаль-модифицированных ЛНП. ЛНП выделяли из плазмы крови здоровых доноров при помощи дифференциального ультрацентрифугирования в градиенте плотности NaBr в роторе Ti-50 на рефрижераторной ультрацентрифуге Beckman L-8 (США) по модифицированному методу [13], после чего полученные ЛНП инкубировали в течение 3 часов с МДА, глиоксалем или метилглиоксалем и диализовали в течение 12 часов при 4° С [14].

ДНК для генотипирования была выделена из 300 мкл замороженной крови с ЭДТА при помощи набора Qiagen DNA blood mini kit. Двести нанограммов геномной ДНК было использовано для проведения генотипирования на микроматрицах Cardio-MetaboChip (Illumina, США) по протоколу к данным микроматрицам Infinium HD Ultra. Сканирование микроматриц проводили на приборе BeadArrayReader (Illumina, США) при помощи программы BeadScan. Обработка данных генотипирования, включающая отбор исследуемых полиморфизмов и создание общей таблицы с данными для всех пациентов, проводилась с помощью языка программирования R v. 3.0.1 (<http://www.rproject.org>). В дальнейший анализ включались 17 ОНП гена *APOB*, для которых ранее в работе Mäkelä KM, et al. (2013) изучалась ассоциация с уровнем ок-ЛНП: rs676210, rs1042034, rs6728178, rs6754295, rs673548, rs6711016, rs11902417, rs10184054, rs6544366, rs4564803, rs7557067, rs2678379, rs533617, rs679899, rs1801695, rs1367117, rs1042031 [8].

Для статистической обработки полученных результатов использовали пакеты статистических программ Statistica v. 10.0 и SPSS v. 20. Проверка исследуемых признаков на нормальность проводилась с помощью критерия Шапиро-Уилка. При отсутствии нормальной распределенности признака для представления данных использовались медиана и интерквартильный размах (25-75 процентиля). Для оценки взаимосвязи признаков вычислялся коэффициент корреляции Спирмена.

Кодирование генотипов осуществлялось следующим образом: 0 — частая гомозигота, 1 — гетерозигота, 2 — минорная гомозигота. С использованием ROC-анализа вначале проводили поиск первой отрезной точки уровня каждого из таких показателей как ок-ЛНП, АпоВ-100, холестерина ЛНП, позволяющей отделять частые гомозиготы (0) от гетерозигот и минорных гомозигот (1 и 2), а затем — второй отрезной точки для отделения частых гомозигот

и гетерозигот (0 и 1) от минорных гомозигот (2). Вывод о существовании таких точек делали в том случае, если отвергалась гипотеза о равенстве величины AUC (Area under curve — площадь под соответствующей ROC-кривой) значению 0,5.

Если была выявлена статистически значимая связь между полиморфизмом и уровнем показателя, то такой полиморфизм включался в суммарный балл (СБ) с учетом его направленности. Направленность полиморфизмов определялась с помощью критерия Краскала-Уоллиса с зависимой переменной, в качестве которой был использован уровень ок-ЛНП. Полиморфизм считался положительно направленным, если с повышенным уровнем ок-ЛНП у него были ассоциированы частые гомозиготы (0), и отрицательно направленным — если минорные гомозиготы (2). Для каждой из цепочек сцепленных (совпадающих или совпадающих с точностью до взаимной замены “нулей” и “двоек”) полиморфизмов, в суммарный балл включался только один из полиморфизмов. По вычисленному СБ пациенты разделялись на две группы: со значением СБ меньшим или равным медиане и с СБ большим медианы. В данных группах с помощью регрессионного анализа исследовалась связь АпоВ-100 и ХС-ЛНП с уровнем окисленных липопротеидов низкой плотности. Уровень значимости для проверяемых статистических гипотез принимался равным 0,05.

Результаты и обсуждение

Учитывая, что при окислительном стрессе, сопровождающем развитие атеросклероза, и сахарном диабете в плазме крови может накапливаться не только МДА, но и другие низкомолекулярные дикарбонилы, включая гомолог МДА глиоксаль и изомер МДА метилглиоксаль, и что глиоксаль и метилглиоксаль, подобно МДА, могут вызывать атерогенную модификацию ЛНП [2, 3, 13, 14], мы исследовали специфичность связывания МДА-модифицированных ЛНП, а также глиоксаль-модифицированных ЛНП и метилглиоксаль-модифицированных ЛНП с моноклональными антителами mAb-4E6, используемыми в тест-наборах Merckodia Oxidized LDL ELISA (Швеция). Выявлено, что с моноклональными антителами mAb-4E6 преимущественно связываются МДА-модифицированные ЛНП, тогда как глиоксаль-модифицированные ЛНП и метилглиоксаль-модифицированные ЛНП с этими антителами практически не взаимодействуют (рис. 1). Следовательно, используемые нами тест-наборы Merckodia Oxidized LDL ELISA (Швеция) способны определять не любые окисленные ЛНП, а преимущественно МДА-модифицированные ЛНП, ввиду высокой специфичности взаимодействия моноклональных антител mAb-4E6 с МДА-модифицированными ЛНП.

Клиническая характеристика 717 пациентов, включенных в исследование, представлена в таб-

Таблица 1

Клиническая характеристика 717 пациентов, включенных в исследование (медиана (квартили), %)

Клинические параметры	Все пациенты, n=717
Возраст, лет	57 (51-63)
Количество мужчин, %	204 (28,45%)
Количество пациентов с АГ, %	582 (81,17%)
Количество пациентов с ИМ, %	69 (9,62%)
Статус курения, %	551 (76,85%) — не курит; 62 (8,65%) — бросили; 102 (14,23%) — курят
Количество пациентов с СД, %	112 (15,62%)
Количество пациентов с ОНМК, %	18 (2,51%)
Индекс массы тела, кг/м ²	33,14 (30,04-37,19)
ХС, ммоль/л	5,90 (5,18-6,84)
ТГ, ммоль/л	1,58 (1,13-2,16)
ХС-ЛНП, ммоль/л	3,60 (2,92-4,38)
ХС-ЛВП, ммоль/л	1,34 (1,14-1,58)
СРБ, мг/дл	0,23 (0,12-0,41)
Лп(а), мг/дл	11,9 (5,3-34,5)
АпоА1, мг/дл	162 (144-183)
АпоВ-100, мг/дл	102 (87-122)
ок-ЛНП, ед./дл	68,52 (55,67-85,52)

Сокращения: АГ — артериальная гипертония, АпоА1 — аполипопротеин А1, АпоВ-100 — аполипопротеин В-100, ИМ — инфаркт миокарда, Лп(а) — липопротеин (а), ок-ЛНП — окисленные липопротеиды низкой плотности, ОНМК — острые нарушения мозгового кровообращения, СД — сахарный диабет, СРБ — С-реактивный белок, ТГ — триглицериды, ХС — общий холестерин, ХС-ЛВП — холестерин липопротеидов высокой плотности, ХС-ЛНП — холестерин липопротеидов низкой плотности.

Таблица 2

Корреляция уровня ок-ЛНП с липидными показателями и СРБ

Липидный фактор	r	p
ХС	0,54	0,000
ТГ	0,33	0,000
ХС-ЛНП	0,55	0,000
ХС-ЛВП	-0,07	0,055
СРБ	0,14	0,000
Лп(а)	0,02	0,607
АпоА1	0,03	0,389
АпоВ-100	0,61	0,000

Сокращения: р — уровень значимости, r — коэффициент корреляции Спирмена, АпоА1 — аполипопротеин А1, АпоВ-100 — аполипопротеин В-100, Лп(а) — липопротеин (а), СРБ — С-реактивный белок, ТГ — триглицериды, ХС — общий холестерин, ХС-ЛВП — холестерин липопротеидов высокой плотности, ХС-ЛНП — холестерин липопротеидов низкой плотности.

лице 1. Уровень ок-ЛНП для этих пациентов варьировался от 21,03 до 163,7 ед./дл (медиана 68,5) и статистически значимо коррелировал с уровнем ХС, ТГ, ХС-ЛНП, СРБ и АпоВ-100 (табл. 2).

При анализе 17 полиморфизмов гена *APOB* выявлены два сцепленных набора полиморфизмов (rs2678379, rs676210, rs673548) и (rs6544366, rs4564803,

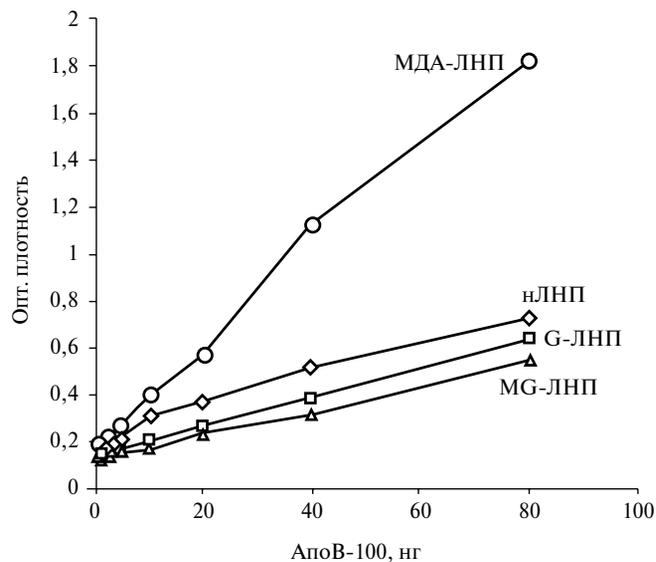


Рис. 1. Специфичность связывания нативных ЛНП (нЛНП), МДА-модифицированных ЛНП (МДА-ЛНП), гликоксаль-модифицированных ЛНП (G-ЛНП) и метилгликоксаль-модифицированных ЛНП (MG-ЛНП) с антителами mAb-4E6, используемыми в тест-наборах Mercodia Oxidized LDL ELISA (Швеция).

rs7557067). Из них в дальнейшее исследование включены rs676210 и rs6544366. Две отрезные точки уровня ок-ЛНП выявлены для следующих полиморфизмов: rs6728178, rs11902417, rs6544366, rs6754295, rs1042034, rs676210, rs679899. Только первая отрезная точка уровня ок-ЛНП, отличающая нормальные гомозиготы (0) от гетерозигот и мутантных гомозигот (1 и 2), обнаружилась для rs6711016 и rs10184054. Только вторая отрезная точка уровня ок-ЛНП, отличающая нормальные гомозиготы и гетерозиготы (0 и 1) от мутантных гомозигот (2) обнаружилась для rs1042031. При этом, все десять полиморфизмов оказались статистически значимо связаны между собой, что удалось установить с помощью применения критерия хи-квадрат Пирсона к таблицам сопряженности полиморфизмов. При проведении ROC-анализа не удалось выявить статистически значимых ассоциаций между изучаемыми полиморфизмами гена *APOB* и уровнями АпоВ-100 и ХС-ЛНП и, как следствие, выявить отрезные точки.

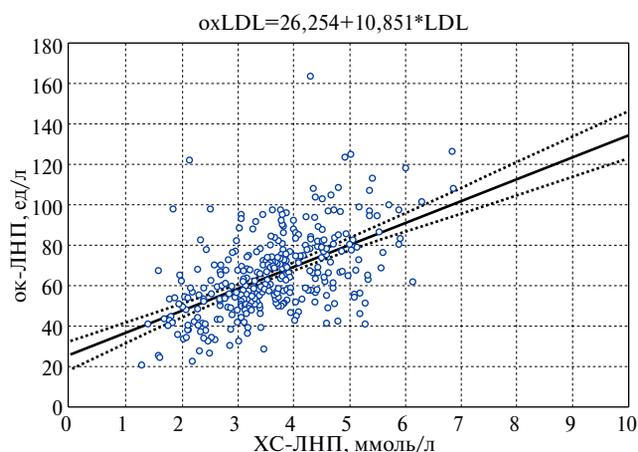
Суммарный балл вычислялся как сумма восьми кодировок положительно направленных полиморфизмов, имеющих протективный эффект, и двух кодировок отрицательно направленных полиморфизмов, имеющих негативный эффект, изменённых взаимной заменой 0 на 2, из таблицы 3, СБ=rs6728178+rs11902417+rs6544366+rs6754295+(2-rs1042034)+rs676210+rs679899+rs6711016+rs10184054+(2-rs1042031). Медиана суммарного балла равнялась 3. Таким образом, пациенты с СБ ≤3 были выделены как пациенты с генетической предрасположенностью к повышенному содержанию ок-ЛНП.

Таблица 3

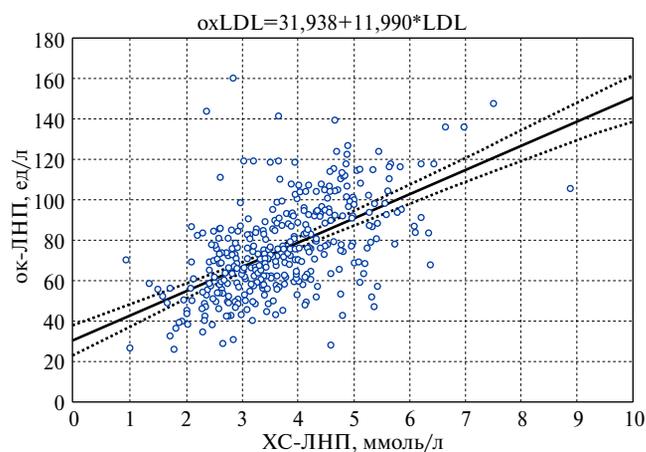
Площадь под ROC-кривой (AUC), где в качестве непрерывной переменной был выбран уровень ок-ЛНП

Сравниваемые статусы	Две отрезные точки							Одна отрезная точка		
	rs6728178	rs11902417	rs6544366	rs6754295	rs1042034*	rs676210	rs679899	rs6711016	rs10184054	rs1042031*
{0}_{1,2}	0,626	0,631	0,626	0,628	0,649	0,649	0,56	0,596	0,606	-
{0,1}_{2}	0,649	0,679	0,656	0,656	0,629	0,627	0,572	-	-	0,705

Примечание: * — ОНП с негативным эффектом, для которых в случае с первой отрезной точкой за положительный случай выбирался не {0}, а {1,2}, со второй — не {0,1}, а {2}. Приведены статистически значимые результаты ($p < 0,05$).



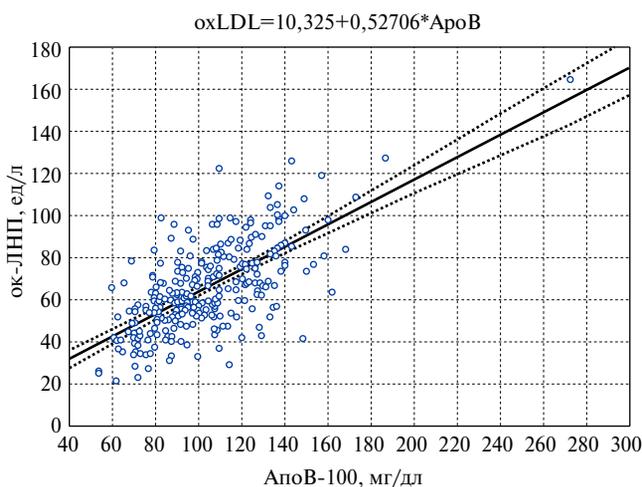
Панель А.



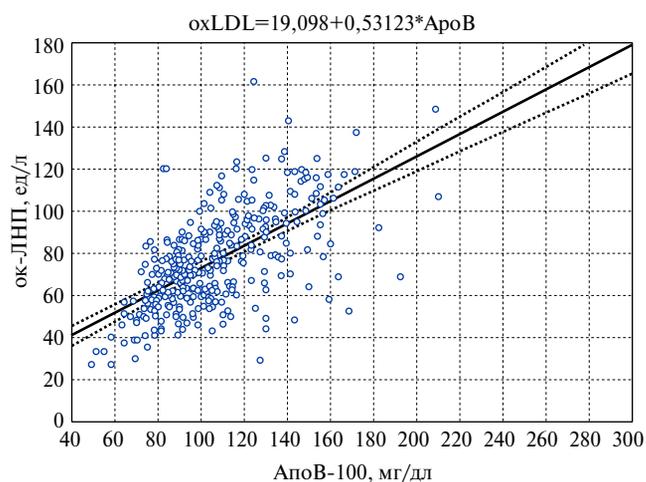
Панель В.

Рис. 2. Содержание ок-ЛНП в зависимости от уровня XС-ЛНП при отсутствии ($СБ > 3$) (панель А) и наличии ($СБ \leq 3$) (панель В) генетической предрасположенности.

Примечание: представлены линейные модели с 95%-доверительными интервалами для линии регрессии.



Панель А.



Панель В.

Рис. 3. Содержание ок-ЛНП в зависимости от уровня ApoB-100 при отсутствии ($СБ > 3$) (панель А) и наличии ($СБ \leq 3$) (панель В) генетической предрасположенности.

Примечание: представлены линейные модели с 95%-доверительными интервалами для линии регрессии.

Учитывая, что в общей группе пациентов из липидных показателей наибольшие коэффициенты корреляции с уровнем ок-ЛНП были для уровней ApoB-100 и XС-ЛНП, мы рассчитали коэффициенты корреляции между уровнем ок-ЛНП и уровнем ApoB-100,

и между уровнем ок-ЛНП и XС-ЛНП отдельно для пациентов с $СБ \leq 3$ и $СБ > 3$ (рис. 2 и 3). Для ApoB-100 коэффициенты корреляции составили 0,67 и 0,62, соответственно, и при сравнении достоверно не различались. В ходе регрессионного анализа не выяв-

лено статистически значимых различий в угловых коэффициентах линий регрессии, но при этом выявлено статистически значимое различие в свободных членах регрессионных прямых ($p < 10^{-10}$). Отсюда следует, что при одном и том же уровне белка АпоВ-100 у пациентов с генетической предрасположенностью уровень ок-ЛНП будет в среднем на 10 усл. ед. выше, чем без генетической предрасположенности. Отсутствие статистической значимости в угловых коэффициентах линий регрессии свидетельствует о том, что регрессионные уравнения можно считать параллельными и с повышением уровня АпоВ-100 повышается уровень ок-ЛНП как в группе с генетической наследственной предрасположенностью, так и без нее. Для уровня ХС-ЛНП коэффициенты корреляции составили 0,54 и 0,55, соответственно, и так же при сравнении достоверно не различались, для угловых коэффициентов линий регрессии различий не было. Были выявлены статистически значимые различия в свободных членах регрессионных уравнений. При одном и том же уровне ХС-ЛНП у пациентов с генетической предрасположенностью уровень ок-ЛНП будет в среднем на 5 усл. ед. выше, чем без генетической предрасположенности ($p < 10^{-6}$).

Заключение

Таким образом, уровень ок-ЛНП связан как с уровнем ХС-ЛНП и уровнем АпоВ-100 в крови пациентов, так и с наследственной предрасположенностью — сочетанием аллелей изученных нами десяти ОНП гена *APOB*. Известно, что частицы ок-ЛНП могут проникать в клетки стенки сосудов и вызывать развитие предатерогенных повреждений

Литература

- Linton MF, Yancey PG, Davies SS, et al. The role of lipids and lipoproteins in atherosclerosis. In: De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, et al., ed. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc, 2000-2015 Dec 24.
- Lankin VZ, Tikhaze AK. Role of oxidative stress in the genesis of atherosclerosis and diabetes mellitus: A personal look back on 50 years of research. *Curr Aging Sci*, 2017; 10 (1): 18-25.
- Lankin VZ, Tikhaze AK, Konovalova GG, et al. Aldehyde-dependent modification of low density lipoproteins. In: Handbook of Lipoprotein Research. NY: Nova Sci, 2010: 85-107.
- Lankin VZ, Tikhaze AK, Kumskova EM. Macrophages actively accumulate malonyldialdehyde-modified but not enzymatically oxidized low density lipoprotein. *Mol Cell Biochem*, 2012; 365 (1-2): 93-8.
- Huang Y, Hu Y, Mai W, et al. Plasma oxidized low-density lipoprotein is an independent risk factor in young patients with coronary artery disease. *Dis Markers*, 2011; 31 (5): 295-301.
- Tsimikas S. Oxidized low-density lipoprotein biomarkers in atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep*, 2006; 8 (1): 55-61.
- Johnston N, Jernberg T, Lagerqvist B, et al. Improved identification of patients with coronary artery disease by the use of new lipid and lipoprotein biomarkers. *Am J Cardiol*, 2006; 97 (5): 640-5.
- Mäkelä KM, Seppälä I, Hernesniemi JA, et al. Genome-wide association study pinpoints a new functional apolipoprotein B variant influencing oxidized low-density lipoprotein levels but not cardiovascular events: AtheroRemo Consortium. *Circ Cardiovasc Genet*, 2013; 6 (1): 73-81.
- Conroy RM, Pyörälä K, Fitzgerald AP, et al. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. *Eur Heart J*, 2003; 24 (11): 987-1003.
- Fawcett T. ROC graphs: notes and practical considerations for data mining researchers. Technical report HPL-2003-4, Intelligent Enterprise Technologies Laboratory, HP Laboratories Palo Alto, 2003.
- Urazalina SZh, Titov VN, Vlasik TN, et al. Relationship between concentration of lipoprotein-associated secretory phospholipase A2 and markers of subclinical atherosclerotic lesion of the arterial wall in patients with low and moderate risk by SCORE scale. *Ter Arkh*, 2011; 83 (9): 29-35. (In Russ.) Уразалина С.Ж., Титов В.Н., Власик Т.Н. и др. Взаимосвязь концентрации ассоциированной с липопротеинами секреторной фосфолипазы А2 с маркерами субклинического атеросклеротического поражения артериальной стенки у пациентов с низким и средним риском по шкале SCORE. *Терапевтический архив*, 2011, 9: 29-35.
- Urazalina SZh, Rogoza AN, Balahonova TV, et al. Biochemical parameters and markers of preclinical pathology of carotid artery wall in patients with different levels of cardiovascular risk by the ESH/ESC scale (2003, 2007). *Cardiovascular Therapy and Prevention*, 2011; 7: 74-80. (In Russ.) Уразалина С.Ж., Рогоза А.Н., Балахонова Т.В. и др. Биохимические показатели, маркеры доклинического поражения стенки сонных артерий у пациентов с различной степенью сердечно-сосудистого риска по шкале EОАГ/ЕОК (2003, 2007). *Кардиоваскулярная терапия и профилактика* 2011, 7: 74-80.
- Lankin V, Konovalova G, Tikhaze A, et al. The initiation of free radical peroxidation of low-density lipoproteins by glucose and its metabolite methylglyoxal: a common molecular mechanism of vascular wall injury in atherosclerosis and diabetes. *Mol Cell Biochem*, 2014; 395 (1-2): 241-52.
- Lankin VZ, Tikhaze AK, Kapel'ko VI, et al. Mechanisms of oxidative modification of low density lipoproteins under conditions of oxidative and carbonyl stress. *Biochemistry (Moscow)*, 2007; 72 (10): 1081-90.
- Raniolo S, Vindigni G, Biocca S. Cholesterol level regulates lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 function. *Biomedical Spectroscopy and Imaging*, 2016; 5: S87-S99.

ВКЛАД ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ И ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ФАКТОРОВ В РАЗВИТИЕ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У МУЖЧИН В ОРГАНИЗОВАННОЙ КОГОРТЕ РАБОТНИКОВ МАШИНОСТРОИТЕЛЬНОГО ЗАВОДА

Киселева А. В.¹, Климушина М. В.¹, Тюпаева С. А.², Елисеева Н. А.¹, Сметнев С. А.¹, Деев А. Д.¹, Бритов А. Н.¹, Мешков А. Н.¹, Драпкина О. М.¹

Цель. Изучение вклада 11 однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) и производственных факторов в развитие артериальной гипертензии (АГ) у мужчин в организованной когорте работников машиностроительного завода.

Материал и методы. В исследование были включены мужчины в возрасте 20-65 лет, имеющие контакт с производственными факторами (ПФ) не менее 50% рабочего времени. Генотипирование 11 ОНП осуществляли методом ПЦР в реальном времени TaqMan. Статистический анализ данных проводили с применением программ Statistica 8.0 и SAS, версия 6.12.

Результаты. В исследование были включены 583 человека, АГ имели 205, у 378 АГ отсутствовала. Группы достоверно различались по возрасту, наличию высшего образования, частоте сочетания двух и более компонентов метаболического синдрома и по выраженности его отдельных компонентов: вес, размер окружности талии, уровень ОХ, ТГ, ЛНП, глюкозы крови. В результате генотипирования было выявлено, что распределение частот генотипов между группами с и без АГ достоверно различается у двух ОНП — rs2932538 ($p=0,0414$) в гене *MOV10* и rs4373814 ($p=0,0344$) в гене *CACNB2*. При объединении информации о нескольких ОНП в шкалу генетического риска (ШГР) было показано, что в группе пациентов без АГ среднее значение суммарного балла ШГР составило $0,0195\pm 0,113$, а в группе с АГ $0,0382\pm 0,119$. Различия между группами были достоверными ($p=0,032$). По результатам многофакторного анализа было показано, что независимыми факторами, связанными с наличием у участников АГ, являются возраст (ОШ = 1,057 (1,037-1,076), $p=0,0001$), наличие двух и более компонентов МС (ОШ = 2,519 (1,621-3,914), $p=0,0001$) и суммарный балл ШГР, состоящей из 11 ОНП (ОШ = 1,479 (1,02-2,143), $p=0,04$). ПФ после поправки на возраст не были связаны с наличием АГ.

Заключение. У лиц мужского пола непосредственно контактирующих с ПФ в условиях машиностроительного завода ШГР, состоящая из 11 ОНП была независимым фактором, связанным с наличием у участников АГ. Полученные нами результаты свидетельствуют о необходимости использования данных генетического тестирования, совместно с оценкой традиционных факторов риска для повышения точности оценки риска развития АГ и проведения индивидуальной профилактики.

Российский кардиологический журнал 2017, 10 (150): 55–60
http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-55-60

Ключевые слова: артериальная гипертензия, однонуклеотидные полиморфизмы, производственные факторы, шкала генетического риска.

¹ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр профилактической медицины Минздрава России, Москва; ²Медико-санитарная часть № 170, ФМБА, Королев, Московская область, Россия.

Киселева А. В.* — к.б.н., с.н.с. лаборатории молекулярной генетики, Климушина М. В. — к.б.н., с.н.с. отдела изучения биохимических маркеров риска хронических неинфекционных заболеваний, Тюпаева С. А. — зав. терапевтическим отделением, Елисеева Н. А. — к.м.н., с.н.с. лаборатории профилактики артериальной гипертензии отдела первичной профилактики неинфекционных заболеваний в системе здравоохранения, Сметнев С. А. — аспирант лаборатории молекулярной генетики, Деев А. Д. — к.ф.-м.н., руководитель лаборатории биостатистики отдела эпидемиологии хронических неинфекционных заболеваний, Бритов А. Н. — д.м.н., профессор, руководитель лаборатории профилактики артериальной гипертензии отдела первичной профилактики неинфекционных заболеваний в системе здравоохранения, Мешков А. Н. — к.м.н., руководитель лаборатории молекулярной генетики, Драпкина О. М. — член-корр. РАН, д.м.н., профессор, директор.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): sanyutabe@gmail.com

АГ — артериальная гипертензия, ЛВП — холестерин липопротеидов высокой плотности, ЛНП — липопротеиды низкой плотности, МС — метаболический синдром, ОНП — однонуклеотидный полиморфизм, ОШ — отношение шансов, ОХ — общий холестерин, ПВЭМ — персональный компьютер, ПФ — производственные факторы, ПЦР — полимеразная цепная реакция, ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания, ТГ — триглицериды, ТИМ — толщина интимы-медии, ФР — факторы риска, ХНИЗ — хронические неинфекционные заболевания, ШГР — шкала генетического риска, HADS — госпитальная шкала тревоги и депрессии.

Рукопись получена 21.09.2017

Рецензия получена 22.09.2017

Принята к публикации 25.09.2017

CONTRIBUTION OF GENETIC MARKERS AND PRODUCTION FACTORS IN THE DEVELOPMENT OF ARTERIAL HYPERTENSION IN MEN IN AN ORGANIZED WORKERS COHORT OF MACHINE-BUILDING PLANT

Kiseleva A. V.¹, Klimushina M. V.¹, Tyupaeva S. A.², Eliseeva N. A.¹, Smetnev S. A.¹, Deev A. D.¹, Britov A. N.¹, Meshkov A. N.¹, Drapkina O. M.¹

Aim. The aim of the present study was to evaluate the contribution of 11 single-nucleotide polymorphisms (SNPs) and production factors to the development of arterial hypertension (AH) in men in an organized workers cohort of machine-building plant.

Material and methods. The study included men aged 20-65 years who had contact with production factors (PF) during at least 50% of the working time. Genotyping of 11 SNPs was performed using TaqMan real-time PCR. Data statistical analysis was carried out using Statistica 8.0 and SAS, v. 6.12 software.

Results. 583 men were included in the study, 205 of those had AH, 378 did not. The groups differed significantly in age, presence of higher education, the frequency of combination of two or more components of the metabolic syndrome and the severity of its individual components: weight, waist circumference, level of total cholesterol, triglycerides, low density lipoprotein cholesterol, glucose. As a result of genotyping, it was found that the frequency distribution of genotypes between groups with and without AH significantly differed for two SNPs — rs2932538 ($p=0,0414$) in the

MOV10 gene and rs4373814 ($p=0,0344$) in the *CACNB2* gene. Combining information on several SNPs in the genetic risk score (GRS) it was shown that the mean value of the total GRS in the groups with and without AH was $0,0382\pm 0,119$ and $0,0195\pm 0,111$, correspondingly. The differences between the groups were significant ($p=0,032$). Based on the results of multivariate analysis, it was shown that the independent factors associated with the presence of AH in participants were age (OR=1,057 (1,037-1,076), $p=0,0001$), the presence of two or more components of the metabolic syndrome (OR=2,519 (1,621-3,914), $p=0,0001$) and the total GRS, consisting of 11 SNP (OR=1,479 (1,02-2,143), $p=0,04$). PF adjusting for the age were not associated with the presence of AH.

Conclusion. In men, who had direct contact with PF at machine-building plant, GRS consisting of 11 SNPs was an independent factor influencing the presence of AH. The results show the necessity of practical usage of genetic tests together with traditional risk factors assessment with the aim for increase of AH risk estimation precision and for carrying out individual prevention.

Key words: arterial hypertension, single nucleotide polymorphisms, production factors, genetic risk score.

Артериальная гипертония (АГ) — это одно из самых распространенных хронических неинфекционных заболеваний среди трудоспособного населения большинства стран мира, в том числе и России, где 39% мужчин и 41% женщин старше 18 лет страдают АГ [1]. Показано, что наличие АГ существенно ухудшает прогноз жизни, в первую очередь, за счет увеличения риска развития инфаркта миокарда и острых нарушений мозгового кровообращения [2]. АГ — комплексное заболевание, основными факторами риска которого являются: пол, возраст, избыточная масса тела, низкая физическая активность, стресс, повышенный уровень холестерина и отягощенная наследственность [3–5]. Вклад наследственности по данным исследований составляет от 30 до 60% [6, 7]. Генетическая основа АГ включает в себя множество полиморфных локусов. Так, с помощью полногеномных исследований ассоциаций (genome-wide association studies — GWAS) было выявлено более 100 генов различных сигнальных путей и еще больше однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП), ассоциированных с повышенным артериальным давлением и гипертонией [8–10]. Однако, несмотря на выявление на сегодняшний день большого количества генов и ОНП, ассоциированных с АГ, каждый в отдельности генетический вариант имеет слабое влияние на развитие АГ, объясняет очень малую долю наследственности в развитии заболевания и, таким образом, имеет ограниченную предсказательную ценность [11]. Одним из решений повышения предсказательной ценности генетического тестирования является объединение информации о нескольких ОНП в единую систему оценки риска, часто называемую как “шкала генетического риска” (ШГР). В настоящее время показана предсказательная ценность ШГР, включающих от 6 до 66 ОНП [8, 9, 12, 13].

Кроме того, реализация генетической предрасположенности к возникновению АГ во многом определяется факторами внешней среды и особую роль среди трудоспособного населения играют производственные факторы (ПФ), которые также могут оказывать неблагоприятное влияние на состояние здоровья и определять прогноз в отношении заболеваемости АГ [14]. Однако, ранее исследований по изучению совместного вклада наследственности и производственных факторов в развитие АГ не проводилось.

Цель данной работы — изучение вклада 11 однонуклеотидных полиморфизмов и производственных факторов в развитие АГ у мужчин в организованной когорте работников машиностроительного завода.

Материал и методы

Исследование проводилось в рамках программы формирования здорового образа жизни и профилактики хронических неинфекционных заболеваний (ХНИЗ) среди контингента, прикрепленного для медицинского обеспечения на период 2012–2016 гг. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании и обработку персональных данных. Дизайн исследования был одобрен этическим комитетом ФГБУ “НМИЦ ПМ” Минздрава России.

В исследование были включены мужчины в возрасте 20–65 лет, работники машиностроительного завода, непосредственно занятые на работах, выполняемых на механическом оборудовании, в условиях производственного шума, общей вибрации, локальной вибрации, работы на высоте, с химическими агентами, а также в условиях электромагнитного поля широкополосного спектра частот от персональных компьютеров. Указанные работы занимали в сумме не менее 50% рабочего времени. Стаж работы на предприятии составлял у обследуемых не менее 5 лет. Критериями исключения из исследования было наличие в анамнезе, в течение предшествующего исследованию года (по данным амбулаторных карт) инфаркта миокарда, инсульта, сахарного диабета 2 типа, симптоматической гипертонии. Сведения о наличии тех или иных ПФ и работ представлялись начальниками цехов по официальному запросу МСЧ № 170, на основании “карт аттестации рабочих мест по условиям труда к вредным условиям” цехов, где непосредственно трудились обследуемые лица. Каждый участник прошел скрининг по специально созданному опроснику по темам: семейный анамнез наличия АГ, анкете “HADS” (Госпитальный опросник на выявление тревоги и депрессии). Также проводился врачебный осмотр с измерением роста, массы тела, окружности талии, офисного артериального давления. АД 140/90 мм рт.ст. и выше, а также указание в амбулаторной карте на прием любого антигипертензивного лекарственного препарата считали за АГ. Диагноз метаболического синдрома ставили на основании критериев ВОЗ. Проводился забор венозной крови для генетического и биохимического исследования.

Определение биохимических показателей крови: уровень глюкозы, общий холестерин (ОХ), холестерин липопротеидов низкой плотности (ЛНП), холестерин липопротеидов высокой плотности (ЛВП), триглицеридов (ТГ), производилось на автоматическом анализаторе KonelabPrime 60I с ISB.

Выделение ДНК проводили с помощью набора QIAamp® DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Германия).

Таблица 1

Клиническая характеристика участников

Показатели и ПФ	АГ (-), n=378 (64,8%)	АГ (+), n=205 (35,2%)	p
Возраст (лет)	39,5±0,5	46,0±0,7	0,0001
Высшее образование n (%)	223 (58,7)	62 (30,1)	0,007
Курение	158 (41,6)	98 (47,6)	0,2
Вес (кг)	84,0±0,8	91,7±1,1	0,0001
Окружность талии (см)	88,4±0,6	95,0±0,8	0,0001
ТИМ (мм)	1,3±0,03	1,4±0,05	0,2
Ангиопатия сетчатки (наличие)	1,2±0,02	1,2±0,02	0,9
ОХ (ммоль/л)	5,4±0,06	5,7±0,08	0,006
ЛНП (ммоль/л)	3,5±0,05	3,7±0,07	0,01
ЛВП (ммоль/л)	1,3±0,02	1,3±0,03	0,7
ТГ (ммоль/л)	1,5±0,08	2,0±0,11	0,0008
Глюкоза (ммоль/л)	5,3±0,05	6,0±0,1	0,0008
МС (3 и более компонентов без АГ)	10 (2,63)	19 (9,22)	0,001
МС (2 и более компонентов без АГ)	52 (13,7)	64 (31,0)	0,001
Шкала HADS — тревога (баллы)	3,6±0,2	3,4±0,2	0,5
Шкала HADS — депрессия (баллы)	3,7±0,2	3,4±0,2	0,7
Работа в шуме	148 (38,9)	81 (39,3)	0,9
Работа с вибрацией	79 (20,8)	46 (22,3)	0,6
Снижение слуха	27 (9,9)	20 (14,0)	0,2
Работа на ПВЭМ	132 (34,8)	63 (30,6)	0,3
Работа на станке	107 (28,3)	68 (33,0)	0,2
Работа на высоте	149 (39,3)	87 (42,2)	0,5
Работа с химическим фактором	114 (30,0)	67 (32,5)	0,5

Сокращения: АГ — артериальная гипертензия, ЛВП — холестерин липопротеидов высокой плотности, ЛНП — липопротеиды низкой плотности, МС — метаболический синдром, ОХ — общий холестерин, ПВЭМ — персональный компьютер, ПФ — производственные факторы, ТГ — триглицериды, ТИМ — толщина интимы-медии, HADS — Госпитальная Шкала Тревоги и Депрессии.

Концентрацию ДНК определяли на спектрофотометре NanoPhotometer (IMPLEN, Германия). Генотипирование ОНП осуществляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени на приборе Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific, США) с использованием методики TaqMan. Для анализа были выбраны 11 ОНП (rs2932538, rs3774372, rs13107325, rs17608766, rs1799945, rs1173771, rs13082711, rs4373814, rs932764, rs805303 и rs11191548) которые, как было показано ранее, влияют на уровень артериального давления и риск развития АГ у лиц европейской популяции [8]. Исследование полиморфизмов rs2932538, rs3774372 и rs13107325 проводили с использованием коммерческих наборов TaqMan (Life Technologies, США) согласно инструкции фирмы производителя. Генотипирование ОНП rs17608766, rs1799945, rs1173771, rs13082711, rs4373814, rs932764, rs805303 и rs11191548 осуществляли с помощью наборов фирмы СИНТОЛ (Россия) в соответствии с протоколом фирмы производителя.

Соответствие частот генотипов ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга оценивали по критерию χ^2 с помощью программы Rodriguez [15]. Статистический анализ данных проводили с применением пакета программ Statistica 8.0 (США) и в системе SAS,

версия 6.12 (США). Данные для количественных признаков представляли в виде средних арифметических (M) \pm стандартное отклонение (SD), для качественных — в виде процентных долей и их стандартных ошибок. Для сравнения количественных признаков использовали однофакторный дисперсионный анализ или непараметрические критерии Манна-Уитни и Краскела-Уоллиса. Сравнение групп с и без АГ по частотам генотипов и аллелей выполняли с помощью таблиц сопряженности с использованием критерия χ^2 по Пирсону. Также была применена модель множественного логистического анализа с поправкой на возраст с целью определения отношения шансов между исследуемыми параметрами и наличием АГ. Многофакторный анализ проводился в два этапа. На первом этапе проводился однофакторный анализ со всеми показателями. На втором этапе признаки, показавшие значимые различия на уровне $p \leq 0,2$, тестировались в многофакторной модели. Различия, при которых $p < 0,05$, рассматривали как статистически значимые.

Результаты и обсуждение

В исследование были включены 583 человека, АГ имели 205 человек, у 378 человек АГ отсутствовала.

Таблица 2

Частоты исследуемых ОНП в группе лиц с АГ и в группе лиц без АГ

ОНП	Ген	Генотипы	АГ (-) n (%)	АГ (+) n (%)	p ((0+1) vs 2)	p (0 vs (1+2))
rs2932538	MOV10	0 (G/G)	191 (50,5%)	120 (58,5%)	0,0414	0,0643
		1 (G/A)	158 (41,8%)	78 (38,0%)		
		2 (A/A)	29 (7,7%)	7 (3,4%)		
rs3774372	ULK4	0 (T/T)	279 (73,8%)	143 (69,8%)	0,1633	0,2959
		1 (T/C)	86 (22,8%)	59 (28,8%)		
		2 (C/C)	13 (3,4%)	3 (1,5%)		
rs13107325	SLC39A8	0 (C/C)	334 (88,4%)	181 (88,3%)	0,6598	0,9808
		1 (C/T)	43 (11,3%)	23 (11,2%)		
		2 (T/T)	1 (0,3%)	1 (0,5%)		
rs1799945	HFE	0 (C/C)	259 (68,5%)	145 (70,7%)	0,9373	0,5802
		1 (C/G)	100 (26,5%)	50 (24,4%)		
		2 (G/G)	19 (5,0%)	10 (4,9%)		
rs17608766	GOSR2	0 (T/T)	324 (85,7%)	168 (82,0%)	0,2205	0,232
		1 (T/C)	51 (13,5%)	33 (16,1%)		
		2 (C/C)	3 (0,8%)	4 (2,0%)		
rs1173771	NPR3-C5orf23	0 (C/C)	126 (33,3%)	53 (25,9%)	0,8473	0,0616
		1 (C/T)	188 (49,7%)	116 (56,6%)		
		2 (T/T)	64 (16,9%)	36 (17,6%)		
rs4373814	CACNB2(59)	0 (C/C)	76 (20,1%)	57 (27,8%)	0,9065	0,0344
		1 (C/G)	210 (55,6%)	99 (48,3%)		
		2 (G/G)	92 (24,3%)	49 (23,9%)		
rs13082711	SLC4A7	0 (T/T)	241 (63,8%)	124 (60,5%)	0,9689	0,4361
		1 (T/C)	122 (32,3%)	73 (35,6%)		
		2 (C/C)	15 (4,0%)	8 (3,9%)		
rs932764	PLCE1	0 (A/A)	89 (23,6%)	49 (23,9%)	0,4174	0,9228
		1 (A/G)	187 (49,5%)	107 (52,2%)		
		2 (G/G)	102 (27,0%)	49 (23,9%)		
rs805303	BAT2-BAT5	0 (G/G)	162 (42,9%)	94 (45,9%)	0,215	0,4864
		1 (G/A)	168 (44,4%)	92 (44,9%)		
		2 (A/A)	48 (12,7%)	19 (9,3%)		
rs11191548	CYP17A1-NT5C2	0 (T/T)	339 (89,7%)	188 (91,7%)	0,9469	0,4282
		1 (T/C)	37 (9,8%)	16 (7,8%)		
		2 (C/C)	2 (0,5%)	1 (0,5%)		

Сокращения: АГ — артериальная гипертензия, ОНП — однонуклеотидный полиморфизм.

Клиническая характеристика участников представлена в таблице 1. Группы достоверно различались по возрасту, наличию высшего образования, частоте сочетания двух и более компонентов метаболического синдрома (не включая компонент АГ) и по выраженности его отдельных компонентов: вес, размер окружности талии, уровень ОХ, ТГ, ЛНП, глюкозы крови. По остальным показателям, в том числе ПФ, достоверных различий между группами с и без АГ найдено не было.

Результаты генотипирования представлены в таблице 2. Для всех анализируемых ОНП наблюдалось соответствие распределения генотипов ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга ($p > 0,05$). Учитывая малое количество гомозигот в ряде ОНП, при анализе ассоциаций гомозиготы объединялись с гетерозиготами.

Было выявлено, что распределение частот генотипов между группами с и без АГ достоверно различается у двух ОНП — rs2932538 ($p = 0,0414$) и rs4373814 ($p = 0,0344$). Для ОНП rs1173771 гена *NPR3-C5orf23* наблюдалась тенденция к достоверности ($p = 0,0616$). Ассоциации других ОНП с развитием АГ в нашем исследовании не подтвердились.

Таким образом, результаты нашего исследования показали наличие взаимосвязи генетических полиморфизмов с повышенным риском гипертензии для двух ОНП: rs2932538 в гене *MOV10* и rs4373814 в гене *CACNB2*, что подтверждает ранее полученные результаты с данными ОНП у лиц европейской и азиатской популяции [8, 16]. *MOV10* представляет собой РНК-геликазу, ингибирующую экспрессию опухолевого супрессора *INK4a* [17], ранее сообщалось, что путь

Таблица 3

Параметры, связанные с наличием АГ по данным многофакторного анализа

Исследуемый параметр	ОШ (95% доверительный интервал)	p
Возраст	1,057 (1,037-1,076)	0,0001
Суммарный балл ШГР (11 ОНП)	1,479 (1,02-2,143)	0,04
Наличие МС (более 2х компонентов)	2,519 (1,621-3,914)	0,0001

Сокращения: АГ — артериальная гипертензия, МС — метаболический синдром, ОНП — однонуклеотидный полиморфизм, ОШ — отношение шансов, ШГР — шкала генетического риска.

INK4α (p16) ингибирует пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов [18]. Поэтому *MOV10* может играть ключевую роль в регуляции гладких мышц сосудов, влияя на величину общего периферического сопротивления — важнейшего компонента артериального давления. Ген *CACNB2* является членом семейства генов, кодирующих белки потенциал-зависимых кальциевых каналов, и может модулировать активность кальциевых каналов; что, возможно, является причиной того, что варибельность гена *CACNB2* также может влиять на уровень артериального давления [12].

Для повышения предсказательной ценности генетического тестирования перспективным является объединение информации о нескольких ОНП в ШГР. Ранее было показано, что суммарная оценка риска с помощью ШГР позволяет учитывать различный вклад каждого ОНП в развитие АГ и точнее прогнозировать риск ее развития [12]. Поэтому для каждого пациента проводилось вычисление суммарного балла ШГР, состоящей из всех 11 ОНП, с использованием Beta-коэффициентов из ШГР, разработанной Ehret с соавторами [8] с модификацией (учет направленности эффекта минорных аллелей ОНП rs2932538 и rs4373814, полученных в нашем исследовании) по следующей формуле:

$$\text{Суммарный балл ШГР} = \text{rs2932538} * 0,049 + \text{rs3774372} * (-0,017) + \text{rs13107325} * (-0,105) + \text{rs17608766} * 0,025 + \text{rs1799945} * 0,095 + \text{rs1173771} * 0,062 + \text{rs13082711} * (-0,035) + \text{rs4373814} * (-0,046) + \text{rs932764} * (0,055) + \text{rs805303} * (-0,054) + \text{rs11191548} * 0,097.$$

В группе пациентов без АГ среднее значение суммарного балла ШГР составило $0,0195 \pm 0,113$, а в группе с АГ $0,0382 \pm 0,119$. Различия между группами были достоверными ($p=0,032$).

Результаты многофакторного анализа представлены в таблице 3. Было показано, что независимыми факторами, связанными с наличием у участников АГ, являются возраст, наличие двух и более компонентов

МС и суммарный балл ШГР, состоящей из 11 ОНП, отношение шансов (ОШ) для которых составило 1,057 (1,037-1,076) ($p=0,0001$), 2,519 (1,621-3,914) ($p=0,0001$), 1,479 (1,02-2,143) ($p=0,04$), соответственно. ПФ не были связаны с наличием АГ.

Схожие данные были получены в нескольких работах [19, 20]. В работе Fava с соавторами, включавшей генотипирование 17190 человек, была выявлена связь ШГР с АГ в многофакторном анализе с поправкой на возраст, пол, индекс массы тела, частоту сердечных сокращений, показатели липидного профиля и глюкозы, скорость клубочковой фильтрации (ОШ 1,154 (1,120-1,190) ($p<0,0001$)) [19]. В другом исследовании, включавшем 8556 человек, была показана значимая связь ШГР с АГ в многофакторном анализе с поправкой на возраст, пол и другие факторы сердечно-сосудистого риска (ОШ 1,12 (1,08-1,16) ($p<0,0001$)) [20]. Применение ШГР позволило достоверно улучшить прогнозирование риска развития АГ.

Заключение

Таким образом, в нашем исследовании у лиц мужского пола, непосредственно контактирующих с ПФ в условиях машиностроительного завода, состоящая из 11 ОНП ШГР была независимым фактором наличия у участников АГ. Возраст и определение двух и более компонентов МС также были независимыми факторами наличия АГ. ПФ не были связаны с АГ. Полученные нами результаты свидетельствуют о необходимости использования данных генетического тестирования совместно с оценкой традиционных факторов для повышения точности оценки риска развития АГ и проведения индивидуальной профилактики.

Благодарности. Авторы выражают глубокую признательность Жанину Илье Владимировичу и Галимову Евгению Рафаэловичу за помощь в проведении генотипирования.

Литература

1. Kontcevaia AV, Shalnova SA, Balanova JuV, et al. The quality of life of Russian population as data of ESSE-RF study. *Cardiovascular Therapy and Prevention* 2016; 15 (5): 84-90 (In Russ.) Концевая АВ, Шальнова СА, Баланова ЮА, и др. Качество жизни российской популяции по данным исследования ЭССЕ-РФ. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика* 2016; 15 (5): 84-90. DOI:10.15829/1728-8800-2016-5-84-90
2. Rapsomaniki E, Timmis A, George Ju, et al. Blood pressure and incidence of twelve cardiovascular diseases: lifetime risks, healthy life-years lost, and age-specific associations in 1.25 million people. *The Lancet* 2014; 383 (9932): 1899-911.
3. Cornelissen VA, Fagard RH, Coeckelberghs E, et al. Impact of Resistance Training on Blood Pressure and Other Cardiovascular Risk Factors A Meta-Analysis of Randomized, Controlled Trials. *Hypertension* 2011; 58 (5): 950-8.
4. Briasoulis A, Agarwal V, Messerli FH. Alcohol Consumption and the Risk of Hypertension in Men and Women: A Systematic Review and Meta-Analysis. *The Journal of Clinical Hypertension* 2012; 14 (11): 792-8.
5. Hay M. Sex, the brain and hypertension: brain oestrogen receptors and high blood pressure risk factors. *Clinical Science* 2015; 130 (1): 9-18.
6. Ehret GB. Genome-Wide Association Studies: Contribution of Genomics to Understanding Blood Pressure and Essential Hypertension. *Current Hypertension Reports* 2010; 12 (1): 17-25.
7. Shih PB, O'Connor DT. Hereditary Determinants of Human Hypertension. Strategies in the Setting of Genetic Complexity. *Hypertension* 2008; 51 (6): 1456-64.
8. Ehret GB, Munroe PB, Rice KM, et al. Genetic variants in novel pathways influence blood pressure and cardiovascular disease risk. *Nature* 2011; 478: 103-9.
9. Ehret GB, Ferreira T, Chasman DI, et al. The genetics of blood pressure regulation and its target organs from association studies in 342,415 individuals. *Nature Genetics* 2016; 48 (10): 1171-84.
10. Warren HR, Evangelou E, Cabrera CP, et al. Genome-wide association analysis identifies novel blood pressure loci and offers biological insights into cardiovascular risk. *Nat Genet.* 2017; 49 (3): 403-15.
11. Zhang K, Weder AB, Eskin E, et al. Genome-wide case/control studies in hypertension: only the "tip of the iceberg". *J Hypertens* 2010; 28 (6): 1115-23.
12. Levy D, Ehret GB, Rice K, et al. Genome-wide association study of blood pressure and hypertension. *Nature Genetics* 2009; 41: 677-87.
13. Yamada Y, Sakuma J, Takeuchi I, et al. Identification of polymorphisms in 12q24.1, ACAD10, and BRAP as novel genetic determinants of blood pressure in Japanese by exome-wide association studies. *Oncotarget* 2017; 8 (26): 43068-79.
14. Rehkopf DH, Modrek S, Cantley LF, et al. Social, psychological, and physical aspects of the work environment could contribute to hypertension prevalence. *Health Aff* 2017; 36 (2): 258-65.
15. Rodriguez S, Gaunt TR, Day INM. Hardy-Weinberg Equilibrium Testing of Biological Ascertainment for Mendelian Randomization Studies. *Am J Epidemiol* 2009; 169 (4): 505-14.
16. Hong GL, Chen XZ, Liu Y, et al. Genetic variations in MOV10 and CACNB2 are associated with hypertension in a Chinese Han population. *Genet Mol Res* 2013; 12 (4): 6220-7.
17. El Messaoudi-Aubert S, Nicholls J, Maertens GN, et al. Role for the MOV10 RNA helicase in polycomb-mediated repression of the INK4a tumor suppressor. *Nat Struct Mol Biol* 2010; 17: 862-8.
18. Gizard F, Nomiya T, Zhao Y, et al. The PPARalpha/p16INK4a pathway inhibits vascular smooth muscle cell proliferation by repressing cell cycle-dependent telomerase activation. *Circ Res* 2008; 103: 1155-63.
19. Fava C, Sjögren M, Montagnana M, et al. Prediction of Blood Pressure Changes Over Time and Incidence of Hypertension by a Genetic Risk Score in Swedes. *Hypertension* 2013; 61: 319-26.
20. Lim N-K, Lee J-Y, Lee J-Y, et al. The Role of Genetic Risk Score in Predicting the Risk of Hypertension in the Korean population: Korean Genome and Epidemiology Study. *PLoS One* 2015; 10(6): e0131603.

РЕГИОНАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ СВЯЗЕЙ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *VEGFR2* С АТЕРОСКЛЕРОЗОМ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ ПРИ ОСТРОМ КОРОНАРНОМ СИНДРОМЕ

Николаев К. Ю.^{1,2}, Урванцева И. А.³, Батуева К. Ю.³, Апарцин К. А.^{4,5}, Горохова А. В.⁵, Ганюков В. И.⁶, Кочергин Н. А.⁶, Зеленская Е. М.⁷, Лифшиц Г. И.^{7,2}

Цель. Оценка ассоциаций аллельного варианта гена *VEGFR2* rs2305948 с атеросклеротическим поражением коронарных артерий у пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС) на Севере (Сургут) и в крупных городах Сибирского федерального округа России (СФО) (Новосибирск, Иркутск и Кемерово).

Материал и методы. Обследовано 258 последовательных пациентов с ОКС при поступлении в кардиологические стационары крупных городов Севера (Сургут, 78 пациентов) и СФО (Новосибирск, Иркутск и Кемерово, 180 пациентов). Всем пациентам выполнена коронарография и генетическое исследование (определение аллельного варианта гена *VEGFR2* rs2305948).

Результаты. У пациентов из Сургута аллельный вариант *VEGFR2**CC прямо связан с поражением проксимального или среднего участка трех основных артерий более 70% (ПТА) ($\chi^2=4,68$; $p=0,031$), ПТА или стенозом ствола левой коронарной артерии (ЛКА) более 50% ($\chi^2=7,02$; $p=0,008$), а у больных из городов СФО *VEGFR2**CT + *TT прямо ассоциировано с гиперхолестеринемией (ГХС) ($\chi^2=8,53$; $p=0,003$). Сочетание аллельного варианта *VEGFR2**CC с ГХС прямо влияет на ПТА или стеноз ствола ЛКА более 50% у пациентов с ОКС из Сургута (Exp (B) =4,441; 95% CI (1,351; 14,601); $p=0,014$). Комбинация аллельного варианта *VEGFR2**CC с ГХС прямо влияет на наличие стенозов не менее 70% в не менее, чем трех коронарных артерий как у пациентов из Сургута (Exp (B): 3,697; 95% CI (1,304; 10,486); $p=0,014$), так и у пациентов из городов СФО Exp (B): 4,460; 95% CI (1,306; 15,236); $p=0,017$).

Заключение. Аллельный вариант *VEGFR2**CC прямо влияет на наличие коронарного атеросклероза различной степени выраженности у пациентов с ОКС на Севере, а при сочетании *VEGFR2**CC с ГХС является фактором риска коронарного атеросклероза не только на Севере, но и в городах СФО.

Российский кардиологический журнал 2017, 10 (150): 61–65

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-61-65>

Ключевые слова: острый коронарный синдром, коронарный атеросклероз, аллельные варианты гена *VEGFR2*, гиперхолестеринемия, Север.

¹НИИ терапии и профилактической медицины — филиал ИЦиГ СО РАН, Новосибирск; ²Новосибирский государственный университет, Новосибирск; ³Сургутский государственный университет, Сургут; ⁴ФГБУН Иркутский научный центр СО РАН, Иркутск; ⁵ГБУЗ Иркутская ордена «Знак Почета» областная клиническая больница, Иркутск; ⁶ФГБУН Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, Кемерово; ⁷ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия.

Николаев К. Ю.* — профессор кафедры внутренних болезней, зав. лабораторией неотложной терапии, Урванцева И. А. — зав. кафедрой кардиологии, Батуева К. Ю. — аспирант кафедры, Апарцин К. А. — зав. отделом медико-биологических исследований и технологий, зав. лабораторией клинических исследований, Горохова А. В. — н.с. лаборатории клинических исследований, врач, Ганюков В. И. — зав. лабораторией интервенционных методов диагностики и лечения атеросклероза, Кочергин Н. А. — н.с. лаборатории интервенционных методов диагностики и лечения атеросклероза, Зеленская Е. М. — м.н.с. лаборатории персонализированной медицины, Лифшиц Г. И. — зав. лабораторией персонализированной медицины, профессор кафедры внутренних болезней.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

nikolaevky@yandex.ru

ГХС — гиперхолестеринемия, КА — коронарные артерии, ЛКА — левая коронарная артерия, ОКС — острый коронарный синдром, ПТА — поражение проксимального или среднего участка трех основных артерий, СФО — Сибирский федеральный округ, *VEGFR2* — рецептор II типа фактора роста эндотелия сосудов.

Рукопись получена 29.06.2017

Рецензия получена 09.08.2017

Принята к публикации 16.08.2017

REGIONAL ASPECTS OF THE GENE POLYMORPHISM *VEGFR2* WITH CORONARY ATHEROSCLEROSIS IN ACUTE CORONARY SYNDROME

Nikolaev K. Yu.^{1,2}, Urvantseva I. A.³, Batueva K. Yu.³, Aparsin K. A.^{4,5}, Gorokhova A. V.⁵, Ganyukov V. I.⁶, Kochergin N. A.⁶, Zelenskaya E. M.⁷, Lifshits G. I.^{7,2}

Aim. Evaluation of the associations of allele variant of gene *VEGFR2* rs2305948 with atherosclerotic lesion of coronary arteries in acute coronary syndrome (ACS) patients in the North (Surgut city) and big cities of the Siberian Federal District (SFD) (Novosibirsk, Irkutsk, Kemerovo).

Material and methods. Totally, 258 consecutive ACS patients investigated, at admission to cardiological in-patient clinics of big cities of the North (Surgut, 78 patients) and SFD (180 patients). All patients underwent coronary arteriography and genetic test (the allele variant assessment *VEGFR2* rs2305948).

Results. In Surgut patients the allele variant *VEGFR2**CC is directly linked with the lesion of proximal and intermediate part of three main arteries >70% (PTA) ($\chi^2=4,68$; $p=0,031$), PTA and left main stem stenosis >50% ($\chi^2=7,02$; $p=0,008$), and in patients from SFD *VEGFR2**CT + *TT is directly associated with hypercholesterolemia (HC) ($\chi^2=8,53$; $p=0,003$). Combination of allele variant *VEGFR2**CC with HC directly influences PTA of stem stenosis >50% in ACS patients in Surgut (Exp (B) =4,441; 95% CI (1,351; 14,601); $p=0,014$). Combination of allele variant *VEGFR2**CC with HC directly influences stenosis >70% existence in at least three coronary arteries, in Surgut patients (Exp (B): 3,697; 95% CI (1,304; 10,486); $p=0,014$), as in SFD patients Exp (B): 4,460; 95% CI (1,306; 15,236); $p=0,017$).

Conclusion. Allele variant *VEGFR2**CC does directly influence the existence of coronary atherosclerosis of various grade severity in patients with ACS in the North, and if combined with *VEGFR2**CC and HC is also a risk factor for coronary atherosclerosis not only in the North but in SFD cities as well.

Russ J Cardiol 2017, 10 (150): 61–65

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-61-65>

Key words: acute coronary syndrome, coronary atherosclerosis, allele variants of *VEGFR2*, hypercholesterolemia, the North.

¹SRI of Therapy and Prevention Medicine — branch of SD RAS, Novosibirsk;

²Novosibirsk State University, Novosibirsk; ³Surgut State University, Surgut; ⁴Irkutsk Scientific Center of SD RAS, Irkutsk; ⁵Irkutskaya Oblast Clinical Hospital of the "Sign of Honour" Award, Irkutsk; ⁶Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo; ⁷Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of SD RAS, Novosibirsk, Russia.

Таблица 1

Клиническая характеристика пациентов с ОКС из Сургута и городов СФО

Показатели	Пациенты с ОКС из Сургута (n=78)	Пациенты с ОКС из городов СФО (n=180)	p
Мужской пол, n (%)	61 (79,2)	134 (74,4)	0,412
Возраст, годы (M±SD)	58,1±10,4	59,7±11,4	0,278
ИМ до 45 лет, n (%)	5 (6,4)	15 (8,3)	0,596
Ранее перенесенный ИМ, n (%)	23 (20,2)	27 (14,9)	0,241
Наличие АГ, n (%)	61 (78,2)	126 (70,0)	0,175
Наличие ГХС, n (%)	25 (32,1)	25 (13,9)	0,001
ФВ <45%, n (%)	6 (7,7)	7 (3,9)	0,200
ХБП, n (%)	0 (0)	1 (0,6)	0,510
СД, n (%)	13 (16,7)	20 (11,1)	0,220
Наследственная отягощенность по ССЗ, n (%)	10 (12,8)	30 (16,7)	0,433
Курение, n (%)	36 (46,2)	97 (53,4)	0,254
Бифуркационный стеноз КА, n (%)	14 (17,9)	9 (5,0)	0,001
Наличие стенозов не менее 70% в не менее чем трех КА, n (%)	25 (32,1)	36 (20,0)	0,039
Стеноз ствола ЛКА не менее 50%, n (%)	5 (6,4)	2 (1,1)	0,028
ПТА, n (%)	13 (16,7)	17 (9,4)	0,097
ПТА или стеноз ствола ЛКА более 50%, n (%)	18 (23,1)	19 (10,6)	0,008
VEGFR2 *СС, n (%)	60 (76,9)	141 (78,3)	0,802
VEGFR2 *СТ + *ТТ, n (%)	18 (23,1)	39 (21,7)	0,802
VEGFR2 *ТТ, n (%)	0 (0)	3 (1,7)	0,566
VEGFR2 *СС + Наличие ГХС, n (%)	21 (26,9)	14 (7,8)	0,0004

Сокращения: ИМ — инфаркт миокарда, АГ — артериальная гипертония, ГХС — гиперхолестеринемия, ФВ — фракция выброса левого желудочка, ХБП — хроническая болезнь почек, СД — сахарный диабет, ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания, КА — коронарные артерии, ЛКА — левая коронарная артерия, ПТА — поражение проксимального или среднего участка трех основных артерий более 70%, VEGFR2 — рецептор II типа фактора роста эндотелия сосудов.

Известно, что эндотелиальная дисфункция при коронарном атеросклерозе ассоциирована с полиморфизмом ряда генов, определяющих функцию эндотелия [1, 2]. В последние годы активно изучается влияние аллельных вариантов гена рецептора II типа фактора роста эндотелия сосудов (*VEGFR2*), регулирующего функцию эндотелия, на течение коронарной болезни сердца [3]. Ввиду того, что в российских регионах и в частности в Сибири отмечаются существенные различия в этнической структуре населения [4] целью настоящего исследования явилась оценка ассоциаций аллельного варианта гена *VEGFR2* rs2305948 с атеросклеротическим поражением коронарных артерий (КА) у пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС) на Севере (Сургут) и в крупных городах Сибирского федерального округа России (Новосибирск, Иркутск и Кемерово).

Материал и методы

В исследование включено 258 последовательных пациентов с ОКС при поступлении в кардиологические стационары крупных городов Севера (г. Сургут, 78 пациентов) и Сибирского федерального округа (СФО) России (гг. Новосибирск, Иркутск и Кемерово, 180 пациентов). От всех пациентов получено письменное добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одо-

брено локальными этическими комитетами организаций, участвующих в исследовании. Всем пациентам проведена коронарография и эхокардиография. Поражение ствола левой коронарной артерии (ЛКА) не менее 50%, а также поражение проксимального или среднего участка трех основных артерий (ПТА) более 70%, или стеноз ствола ЛКА более 50% рассценивались как проявления тяжелого коронарного атеросклероза [5]. Кроме этого, определялось наличие бифуркационного стеноза КА и наличие стенозов не менее 70% в не менее чем в трех КА. Также всем пациентам было проведено генетическое исследование. Определение *VEGFR2* rs2305948 проводили методом полимеразной цепной реакции на приборе Real-Time CFX96 Touch (Bio-Rad Laboratories, Inc., США). Гиперхолестеринемия (ГХС) определялась по критериям Европейского общества кардиологов и Европейского общества атеросклероза по диагностике и лечению дислипидемий (2016г).

При статистической обработке ассоциации между признаками оценивались с помощью коэффициента корреляции Спирмена (r). Межгрупповое сравнение по распределению качественных признаков проводилось с помощью критериев χ^2 Пирсона и Фишера. Для многофакторного анализа применялись бинарная логистическая регрессия. Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимо-

Таблица 2

Ассоциации аллельных вариантов VEGFR2 с характеристиками коронарного атеросклероза у пациентов с ОКС из Сургута и городов СФО

Ассоциации	Пациенты с ОКС из Сургута (n=78)	Пациенты с ОКС из городов СФО (n=180)
VEGFR2 *CC — ПТА или стеноз ствола ЛКА более 50%	$\chi^2=7,02$; p=0,008	$\chi^2=0,432$; p=0,511
VEGFR2 *CC — ПТА	$\chi^2=4,68$; p=0,031	$\chi^2=1,09$; p=0,372
VEGFR2 *AA — Количество стенозов КА	r=0,263; p=0,020	r=-0,013; p=0,867
VEGFR2 *CT + *TT — ГХС	$\chi^2=1,04$; p=0,308	$\chi^2=8,53$; p=0,003
VEGFR2 *CC + Наличие ГХС — Стеноз ствола ЛКА	r=0,289; p=0,010	r=0,013; p=0,863
VEGFR2 *CC + Наличие ГХС — ПТА или стеноз ствола ЛКА более 50%	$\chi^2=9,75$; p=0,002	$\chi^2=1,90$; p=0,171
VEGFR2 *CC + Наличие ГХС — Стеноз ствола ЛКА более 50%	$\chi^2=7,65$; p=0,017	$\chi^2=0,71$; p=1
VEGFR2 *CC + Наличие ГХС — Наличие стенозов не менее 70% в не менее чем трех КА	$\chi^2=11,76$; p=0,001	$\chi^2=5,92$; p=0,015

Сокращения: VEGFR2 — рецептор II типа фактора роста эндотелия сосудов, ПТА — поражение проксимального или среднего участка трех основных артерий более 70%, ЛКА — левая коронарная артерия, КА — коронарные артерии, ГХС — гиперхолестеринемия.

сти для отклонения нулевой статистической гипотезы (p) принимался равным 0,05.

Результаты

Результаты сопоставления клинических характеристик сравниваемых групп пациентов с ОКС представлены в таблице 1.

Определено, что в группе пациентов из Сургута чаще, чем в группе больных из городов СФО отмечалась ГХС, бифуркационный стеноз КА, наличие стенозов не менее 70% в не менее чем трех КА, стеноз ствола ЛКА не менее 50%, а также ПТА или стеноз ствола ЛКА более 50%. По частоте аллельных вариантов VEGFR2 сравниваемые группы не различались, при этом, сочетание аллельного варианта VEGFR2 *CC с ГХС встречалось чаще у пациентов с ОКС из г. Сургут.

Оценены ассоциации с характеристиками тяжести поражения коронарного русла (табл. 2).

У пациентов с ОКС из Сургута аллельный вариант VEGFR2 *CC прямо связан с ПТА, ПТА или стенозом ствола ЛКА более 50%, а у больных из городов СФО VEGFR2 *CT+*TT прямо ассоциирован с ГХС. Сочетание аллельного варианта VEGFR2 *CC с ГХС у пациентов с ОКС из г. Сургут прямо связано со стенозом ствола ЛКА, стенозом ствола ЛКА более 50%, а также ПТА или стенозом ствола ЛКА более 50%. Кроме этого, вышеуказанное сочетание в обеих группах положительно коррелировало с наличием стенозов не менее 70% в не менее чем трех КА.

Проведен многофакторный анализ влияния основных факторов риска коронарного атеросклероза и аллельного варианта VEGFR2 *CC в сочетании с ГХС на ПТА или стеноз ствола ЛКА более 50% у пациентов с ОКС из Сургута (табл. 3).

Выявлено, что сочетание аллельного варианта VEGFR2 *CC с ГХС прямо влияет на ПТА или стеноз ствола ЛКА более 50% у больных с ОКС из г. Сургут независимо от мужского пола, возраста и курения.

Таблица 3

Многофакторный анализ влияния ряда факторов риска и аллельного варианта VEGFR2 *CC в сочетании с ГХС на ПТА или стеноз ствола ЛКА более 50% у пациентов с ОКС из Сургута

Независимые переменные	Exp (B)	95% CI (Lower; Upper)	p
VEGFR2 *CC + Наличие ГХС	4,441	1,351; 14,601	0,014
Мужской пол	1,517	0,295; 7,810	0,618
Возраст	1,047	0,981; 1,118	0,169
Курение	1,284	0,336; 4,905	0,714

Сокращения: VEGFR2 — рецептор II типа фактора роста эндотелия сосудов, ГХС — гиперхолестеринемия.

Кроме этого, с помощью регрессионных анализов определено, что сочетание VEGFR2 *CC и ГХС и прямо определяло наличие стенозов не менее 70% в не менее чем трех КА также независимо от вышеперечисленных факторов, как у пациентов с ОКС из Сургута (Exp (B): 3,697; 95% CI (1,304; 10,486); p=0,014), так и у больных из городов СФО (Exp (B): 4,460; 95% CI (1,306; 15,236); p=0,017).

Обсуждение

Ранее продемонстрировано, что дисфункция эндотелия прямо сопряжена с тяжестью течения ОКС и коронарного атеросклероза [6, 7]. Рецептор II типа фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR2) играет ключевую роль в регуляции функции эндотелия сосудов, участвует в специфических внутриклеточных сигнальных каскадах, приводящих к пролиферации эндотелиальных клеток, а также определяющих выживаемость и проницаемость эндотелия [8]. Атерогенное значение VEGFR2 в настоящее время активно обсуждается ввиду того, что на экспериментальных моделях продемонстрирован его атерогенный эффект, связанный с тем, что дефицит гена

VEGFR2 проявляется аномалиями сосудистого русла и дефектами в образовании эндотелиальных клеток. При этом, идентифицировано три однонуклеотидных полиморфизма гена *VEGFR2*, значимо ассоциированных с коронарным атеросклерозом: +1192C > T (rs2305948), -604T > C (rs2071559), и +1719A > T (rs1870377) [9, 10]. В нашем исследовании изучался однонуклеотидный полиморфизм +1192C > T (rs2305948) и обнаружено, что у пациентов с ОКС из Сургута аллельный вариант *VEGFR2* *CC прямо связан с тяжелым коронарным атеросклерозом (ПТА, а также ПТА или поражение ствола ЛКА более 50%). В ранее проведенном исследовании, в китайской популяции у пациентов с коронарной болезнью сердца определено преобладание другого аллельного варианта — *VEGFR2* *TT (56% случаев), а у лиц без этого заболевания данный вариант встречался существенно реже (36%) [11]. Следует отметить, что среди больных с ОКС в Сургуте аллельный вариант *VEGFR2* *TT не выявлен вообще, а в Новосибирске, Иркутске и Кемерово встречался крайне редко (1,7%). Таким образом, в российской популяции, у проживающих на Севере пациентов с ОКС, аллельный вариант *VEGFR2* *CC ассоциирован с тяжелым атеросклеротическим поражением коронарного русла. Кроме этого у больных с ОКС в Сургуте обнаружены прямые ассоциации тяжелого коронарного атеросклероза с сочетанием аллельного варианта *VEGFR2* *CC и ГХС и определено прямое влияние этого сочетания на поражение проксимального или среднего участка трех основных артерий более 70% или поражение ствола ЛКА более 50%. Также прямая связь такого сочетания и его определяющее влияние на наличие стенозов не менее 70% в не менее чем 3-х КА определена как у пациентов с ОКС в Сургуте, так и у больных из Новосибирска, Иркутска и Кемерово. В доступной нам литературе мы не обнаружили сведений о влиянии сочетания однонуклеотидных полиморфизмов гена *VEGFR2* с дислипидемиями на характеристики коронарного атеросклероза. Предполагаем, что у пациентов с ОКС, проживающих в городах Севера и Сибири такое сочетание является определяющим фактором в поражении коронарных артерий различной степени тяжести. Возможным механизмом этого является негативное влияние ГХС на количество *VEGFR2* в эндотелии вследствие их эндосо-

мальной деградации [12] и как следствие, усиление выявленного в настоящем исследовании атерогенного эффекта аллельного варианта *VEGFR2* *CC. Хотя в нашем исследовании не изучался этнический состав сравниваемых групп, мы полагаем, что различия в ассоциациях аллельного варианта *VEGFR2* *CC с показателями коронарного атеросклероза в сравниваемых выборках пациентов связаны с региональными этническими особенностями. Так, в Сургуте русские составляют 73,2%, украинцы 6,8%, татары 6,0%, башкиры 2,0%. В Иркутске доля русских — 93,5%, украинцев — 1,4%, бурятов — 1,0%, а в Кемерово русские составляют 94,4%, татары — 1,3% [13].

В проведенном нами исследовании выявлена прямая ассоциация ГХС с аллельным вариантом *VEGFR2* *СТ+*ТТ у пациентов с ОКС из городов СФО. ГХС, участвуя в активации перекисного окисления липидов, является одним из ключевых факторов дисфункции эндотелия при ОКС [14]. Предполагается, что *VEGFR2* участвует в процессе адаптации к оксидативному стрессу [15] и это, вероятно, обуславливает вышеуказанную связь.

Заключение

В выборке пациентов с ОКС из Сургута аллельный вариант *VEGFR2* *CC прямо связан с тяжелым коронарным атеросклерозом (поражение проксимального или среднего участка трех основных артерий более 70%, а также наличие такого поражения или стеноза ствола ЛКА более 50%). В этой выборке пациентов аллельный вариант *VEGFR2* *CC является независимым фактором риска поражения проксимального или среднего участка трех основных артерий более 70% или стеноза ствола ЛКА более 50%). Для пациентов с ОКС как Сургута, так и городов Сибирского федерального округа (Новосибирск, Иркутск и Кемерово) сочетание аллельного варианта *VEGFR2* *CC с ГХС прямо определяет наличие атеросклеротических стенозов не менее 70% в не менее чем трех КА. Таким образом, аллельный вариант *VEGFR2**CC прямо влияет на наличие коронарного атеросклероза различной степени выраженности у пациентов с ОКС на Севере, а при сочетании *VEGFR2**CC с ГХС является фактором риска коронарного атеросклероза в городах СФО.

Литература

1. Popova LV, Nikolaev Kyu, Nikolaeva AA, Voronina EN. The features of myocardial infarction clinical course at gene of endothelial NO-synthase polymorphisms. *Klin. Med. (Mosk)*. 2008; 86 (4): 32-5. (In Russ.) Попова Л.В., Николаев К.Ю., Николаева А.А., Воронина Е.Н. Особенности клинического течения инфаркта миокарда при полиморфизмах гена эндотелиальной NO-синтазы. *Клиническая медицина*. 2008; 86 (4): 32-5.
2. Kireeva VV, Koch NV, Lifshits GI, Apartsin KA. Endothelial dysfunction as cornerstone of cardiovascular events: molecular and pharmaceutical aspects. *Russ J Cardiol* 2014, 10 (114): 64-8 DOI:10.15829/1560-4071-2014-10-64-68 (In Russ.) Киреева В.В., Кох Н.В., Лифшиц Г.И., Апарцын К.А. Дисфункция эндотелия как краеугольный камень сердечно-сосудистых событий: молекулярно- и фармакогенетические аспекты. *Российский кардиологический журнал*. 2014; 10 (114): 64-8. DOI:10.15829/1560-4071-2014-10-64-68
3. Li L, Pan Y, Dai L, et al. Association of Genetic Polymorphisms on Vascular Endothelial Growth Factor and its Receptor Genes with Susceptibility to Coronary Heart Disease. *Med. Sci. Monit*. 2016; 22: 31-40.
4. Mirzaev KB, Zelenskaya EM, Barbarash OL, et al. CYP2C19 polymorphism frequency in Russian patients in Central Russia and Siberia with acute coronary syndrome. *Pharmgenomics Pers Med*. 2017; 10: 107-14.
5. Daoulah A, Elkhateeb OE, Nasser SA, et al. Socioeconomic Factors and Severity of Coronary Artery Disease in Patients Undergoing Coronary Angiography: A Multicenter Study of Arabian Gulf States. *Open Cardiovasc Med J*. 2017; 11: 47-57.

6. Nikolaeva AA, Lifshits GI, Shterental IS, et al. The characteristics of neuroendocrine regulatory disorders in acute myocardial infarct in relation to the severity of the course of the disease. *Kardiologiya*. 1993; 33 (11): 60-3. (In Russ.) Николаева А.А., Лифшиц Г.И., Штеренталь И.Ш., и др. Особенности нейроэндокринных нарушений регуляции при остром инфаркте миокарда в зависимости от тяжести течения заболевания. *Кардиология*. 1993; 33 (11): 60-3.
7. Popova LV, Nikolaev KYu, Nikolaeva AA. Susceptibility to endothelium-dependent vasoactive agents in patients with coronary artery calcinosis. *Angiol. Sosud. Khir.* 2007; 13 (4): 21-4. (In Russ.) Попова Л.В., Николаев К.Ю., Николаева А.А. Сосудистая реактивность к эндотелий-зависимым вазоактивным веществам при кальцинозе коронарных артерий. *Ангиология и сосудистая хирургия*. 2007; 13 (4): 21-4.
8. Holmes K, Roberts OL, Thomas AM, et al. Vascular endothelial growth factor receptor-2: structure, function, intracellular signalling and therapeutic inhibition. *Cell Signal* 2007; 19: 2003-12.
9. Camaré C, Pucelle M, Nègre-Salvayre A, Salvayre R. Angiogenesis in the atherosclerotic plaque. *Redox Biol.* 2017; 12: 18-34.
10. Qiu S, Wu T, Wang P, et al. The association between VEGFR gene polymorphisms and stroke: a meta-analysis. *PLoS One.* 2016; 11 (3): e0151371.
11. Liu D, Song J, Ji X. et al. Association of genetic polymorphisms on VEGFA and VEGFR2 with risk of coronary heart disease. *Medicine (Baltimore)* 2016; 95 (19): e3413.
12. Jin F, Hagemann N, Brockmeier U, et al. LDL attenuates VEGF-induced angiogenesis via mechanisms involving VEGFR2 internalization and degradation following endosome-trans-Golgi network trafficking. *Angiogenesis.* 2013; 16 (3): 625-37.
13. Volume of official publication of the results of the 2010 All-Russian Population Census. Volume 4. National composition and language skills, citizenship: 742-845. (In Russ.) Тома официальной публикации итогов Всероссийской переписи населения 2010 года. Том 4. Национальный состав и владение языками, гражданство: 742-845.
14. Nikolaeva AA, Nikolaev KYu, Nikolaeva EI, et al. Relationship of vascular reactivity to blood lipid spectrum and lipid peroxidation in unstable angina. *Ter. Arkh.* 1998; 70 (12): 13-5. (In Russ.) Николаева А.А., Николаев К.Ю., Николаева Е.И. и др. Соотношение сосудистой реактивности с липидным спектром крови и состоянием перекисного окисления липидов при нестабильной стенокардии. *Терапевтический архив*. 1998; 70 (12): 13-5.
15. Zhang M, Jiang L. Oxidized low-density lipoprotein decreases VEGFR2 expression in HUVECs and impairs angiogenesis. *Exp. Ther. Med.* 2016; 12 (6): 3742-8.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА И КОРОНАРНОГО АТЕРОСКЛЕРОЗА У ЖИТЕЛЕЙ ЯКУТИИ

Романова А. Н.¹, Воевода М. И.², Максимов В. Н.²

Цель. Изучение ассоциации rs17465637 гена *MIA3* (1q41), rs4804611 гена *ZNF627* (19p13.2), rs2549513 (16q23.1), rs619203 гена *ROS1* (6q22), rs1333049 (9p21.3), rs1376251 гена *TAS2R50* (12p13.2) с артериальной гипертензией (АГ), инфарктом миокарда (ИМ), метаболическим синдромом (МС) и коронарным атеросклерозом (КАС) у жителей Якутии в зависимости от этнической и гендерной принадлежности.

Материал и методы. Проанализированы результаты обследования больных с верифицированным КАС (396 мужчин и 60 женщин) и лиц без клинических проявлений ИБС (212 мужчин и 271 женщины) в возрасте 45-64 лет, представителей коренной и некоренной национальностей Якутии. Период исследования: 2007-2010 гг. Геномную ДНК выделяли из венозной крови методом фенол-хлороформной экстракции. Полиморфизм генов тестировали с помощью ПЦР в реальном времени в соответствии с протоколом фирмы производителя (зонды TaqMan, Applied Biosystems, USA) на приборе ABI 7900HT. В исследование были включены следующие однонуклеотидные полиморфизмы (ОНП): rs17465637 гена *MIA3*, rs4804611 гена *ZNF627*, rs2549513 (хр. 16), rs619203 гена *ROS1*, rs1333049 (хр. 9), rs1376251 гена *TAS2R50*. Для диагностики МС использованы критерии IDF, 2005.

Результаты. Ассоциация с АГ получена среди коренных жителей у мужчин носителей генотипа CC rs1376251 гена *TAS2R50* ($p=0,004$), у женщин носителей генотипов AA rs2549513 (хр. 16) ($p=0,028$) и rs4804611 гена *ZNF627* ($p=0,033$); у некоренных жителей (без разделения по полу и у женщин) — rs619203 гена *ROS1* ($p=0,000$). Взаимосвязь с ИМ получена у коренных мужчин носителей генотипа TT rs1376251 гена *TAS2R50* ($p=0,005$); у некоренных мужчин гетерозигот rs17465637 гена *MIA3* ($p=0,047$) и rs619203 гена *ROS1* ($p=0,009$), также гомозигот AA rs2549513 (хр. 16) ($p=0,041$). Получены ассоциации с МС среди коренных жителей у мужчин носителей генотипов AA rs17465637 гена *MIA3* ($p=0,029$) и гетерозигот rs4804611 гена *ZNF627* ($p=0,034$), а также гетерозигот без разделения по полу rs2549513 (хр. 16) ($p=0,016$), у некоренного населения — у мужчин ($p=0,016$) и женщин ($p=0,005$) носителей генотипа GG rs619203 гена *ROS1* и женщин гетерозигот rs1333049 (хр. 9) ($p=0,031$). С КАС получена ассоциация у коренных мужчин гетерозигот rs17465637 гена *MIA3* ($p=0,040$) и носителей генотипа TT rs1376251 гена *TAS2R50* ($p=0,006$); у некоренных мужчин с генотипом CG rs619203 гена *ROS1* ($p=0,020$), у некоренных женщин с генотипом AA rs4804611 гена *ZNF627* ($p=0,008$), гетерозигот rs1333049 (хр. 9) ($p=0,030$) и rs2549513 (хр. 16) ($p=0,024$).

Заключение. Впервые у жителей Якутии реплицированы результаты полногеномного ассоциативного исследования с АГ, ИМ, МС и КАС. Данные генетические маркеры могут быть использованы для оценки риска развития сердечно-сосудистых заболеваний на российской (якутской) популяции.

Российский кардиологический журнал 2017, 10 (150): 66–75
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-66-75>

Ключевые слова: артериальная гипертензия, инфаркт миокарда, метаболический синдром, коронарный атеросклероз, однонуклеотидные полиморфизмы, гендерные и этнические особенности, Якутия.

¹ФГБНУ Якутский научный центр комплексных медицинских проблем, Якутск;
²ФГБНУ Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины, Новосибирск, Россия.

Романова А. Н.* — д.м.н., г.н.с. — руководитель отдела эпидемиологии хронических неинфекционных заболеваний, Воевода М. И. — академик РАН, д.м.н., профессор, директор, Максимов В. Н. — д.м.н., доцент, зав. лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
 ranik@mail.ru

АГ — артериальная гипертензия, АО — абдоминальное ожирение, ГТГ — гипертриглицеридемия, ГХС — гиперхолестеринемия, ИБС — ишемическая болезнь сердца, ИА — индекс атерогенности, ИМ — инфаркт миокарда, ИМТ — индекс массы тела, КАС — коронарный атеросклероз, ЛВП-ХС — холестерин липопротеидов высокой плотности, ЛНП-ХС — холестерин липопротеидов низкой плотности, МС — метаболический синдром, ОНП — однонуклеотидный полиморфизм, ОХС — общий холестерин, ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания, ТГ — триглицериды

Рукопись получена 19.06.2017
 Рецензия получена 09.08.2017
 Принята к публикации 16.08.2017

GENETIC MARKERS OF METABOLIC SYNDROME AND CORONARY ATHEROSCLEROSIS IN YAKUTIA INHABITANTS

Romanova A. N.¹, Voevoda M. I.², Maksimov V. N.²

Aim. Evaluation of the association of rs17465637 gene *MIA3* (1q41), rs4804611 gene *ZNF627* (19p13.2), rs2549513 (16q23.1), rs619203 gene *ROS1* (6q22), rs1333049 (9p21.3), rs1376251 gene *TAS2R50* (12p13.2) with arterial hypertension (AH), myocardial infarction (MI), metabolic syndrome (MS) and coronary atherosclerosis (CAS) in Yakutia inhabitants depending on ethnicity and gender.

Material and methods. The results analyzed, of the assessment of the patients with verified CAS (396 males, 60 females) and persons with no clinical signs of CHD (212 males, 271 females) age 45-64 y.o., from native and non-native Yakutia ethnicities. The period of the study: 2007-2010 years. Genomic DNA was extracted from venous blood by phenol-chloroform method. Genes polymorphism was tested with PCR real time according to the manual of the equipment (probes TaqMan, Applied Biosystems, USA) on the device ABI 7900HT. In the study, the following mononucleotide polymorphisms were included (MNP): rs17465637 gene *MIA3*, rs4804611 gene *ZNF627*, rs2549513 (chr. 16), rs619203 gene *ROS1*, rs1333049 (chr. 9), rs1376251 gene *TAS2R50*. For diagnosis of MS, IDF 2005 criteria were applied.

Results. Association of AH was found in native inhabitants — males with genotype CC rs1376251 gene *TAS2R50* ($p=0,004$), in females with AA rs2549513 (chr. 16)

($p=0,028$) and rs4804611 gene *ZNF627* ($p=0,033$); in non-native inhabitants (regardless the gender and in females) — rs619203 gene *ROS1* ($p=0,000$). Relation was found for MI in native inhabitants with genotype TT rs1376251 gene *TAS2R50* ($p=0,005$); in non-native heterozygous males rs17465637 gene *MIA3* ($p=0,047$) and rs619203 gene *ROS1* ($p=0,009$), as homozygous AA rs2549513 (chr. 16) ($p=0,041$). The associations were found for MS among native inhabitants in male carriers of genotypes AA rs17465637 gene *MIA3* ($p=0,029$) and heterozygous rs4804611 gene *ZNF627* ($p=0,034$), as heterozygous regardless the gender rs2549513 (chr. 16) ($p=0,016$) in non-native inhabitants in male ($p=0,016$) and female ($p=0,005$) carriers of GG rs619203 gene *ROS1* and heterozygous females rs1333049 (chr. 9) ($p=0,031$). With the CAS, the association found in native heterozygous males rs17465637 gene *MIA3* ($p=0,040$) and carriers of TT rs1376251 gene *TAS2R50* ($p=0,006$); in non-native males with CG rs619203 gene *ROS1* ($p=0,020$), in non-native females with AA rs4804611 gene *ZNF627* ($p=0,008$), heterozygous rs1333049 (chr. 9) ($p=0,030$) and rs2549513 (chr. 16) ($p=0,024$).

Conclusion. First time in inhabitants of Yakutia Republic, the genome wide results replicated, of the association study with AH, MI, MS, CAS. These genetic markers

can be utilized for the risk assessment of cardiovascular diseases in Russian (Yakutia) population.

Russ J Cardiol 2017, 10 (150): 66–75

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-66-75>

Key words: arterial hypertension, myocardial infarction, metabolic syndrome, coronary atherosclerosis, mono nucleotide polymorphisms, gender and ethnical specifics, Yakutia.

¹Yakutsky Scientific Center of Complex Medical Problems, Yakutsk; ²SRI of Therapy and Prevention Medicine, Novosibirsk, Russia.

Формирование метаболического синдрома (МС) и ишемической болезни сердца (ИБС) генетически детерминировано, клиническая патология формируется комплексным действием ряда генетических детерминант и характерно вовлечение в патогенез нескольких генов (генетически гетерогенное, многофакторное заболевание). Ранняя манифестация ИБС может свидетельствовать о значительном влиянии наследственных факторов у таких больных. Эпидемиологические исследования демонстрируют значительные различия в профилях факторов риска у молодых пациентов с острым инфарктом миокарда (ИМ) по сравнению с пожилыми, и до настоящего времени остается открытым вопрос о сравнительном вкладе генетических и средовых факторов риска в преждевременное развитие ИБС и ИМ [1]. Результаты ряда исследований указывают на необходимость анализа генетической предрасположенности к развитию ИМ в каждой отдельной популяции, поскольку до настоящего времени не выявлены универсальные генетические факторы риска развития ИМ [2].

В последние годы, благодаря быстрому совершенствованию технологий массового генотипирования, выполнен ряд исследований на уровне полногеномного анализа, посвященных идентификации новых генетических маркеров, ответственных за наследственную предрасположенность к сердечно-сосудистым заболеваниям (ССЗ) и их факторам риска [3–9]. В ряде зарубежных исследований в ходе полногеномного анализа были получены ассоциации генетических маркеров с ИМ, артериальной гипертензией (АГ), нарушениями липидного и углеводного обмена, функциональными показателями сердечно-сосудистой системы, антропометрическими данными и другими параметрами [4–9, 11–15]. Большинство выявленных ассоциаций являются принципиально новыми и необходимо их воспроизведение на отдельных российских популяциях с целью выявления этноспецифических генетических факторов предрасположенности к ССЗ, что имеет важное значение для осуществления целенаправленной и индивидуальной профилактики, диагностики и лечения сердечно-сосудистой патологии.

Целью исследования явилось изучение ассоциации rs17465637 гена *MIA3* (1q41), rs4804611 гена *ZNF627* (19p13.2), rs2549513 (16q23.1), rs619203 гена *ROS1* (6q22), rs1333049 (9p21.3), rs1376251 гена *TAS2R50* (12p13.2) с АГ, ИМ, МС и коронарным атеросклерозом (КАС) у жителей Якутии в зависимости от этнической и гендерной принадлежности.

Материал и методы

В исследование включены результаты обследования 396 мужчин и 60 женщин в возрасте 45–64 лет с верифицированным КАС по данным селективной коронароангиографии, находившихся на стационарном обследовании в кардиологическом отделении Республиканской больницы № 1 — Национального центра медицины г. Якутска (основные группы больных ИБС). В ходе экспедиционных выездов в районы Республики Саха (Якутия) по результатам комплексного медицинского осмотра были сформированы группы сравнения из 212 мужчин и 271 женщины без клинических проявлений ИБС, в возрасте 45–64 лет. Период исследования: 2007–2010гг. Для сравнительного анализа все обследованные лица были подразделены по клиническим и этническим признакам на 4 группы: 1 — больные с верифицированным КАС, представители коренного населения Якутии (n=217), из них мужчин — 189, средний возраст 54,34±0,44 лет, женщин — 28, средний возраст 53,39±1,28 лет; 2 — больные с верифицированным КАС, представители некоренного населения Якутии (n=239), из них мужчин — 207, средний возраст 54,76±0,43 лет, женщин — 32, средний возраст 55,81±1,01 лет; 3 — лица без клинических признаков ИБС, представители коренного населения (n=253), из них мужчин — 108, средний возраст 51,28±0,57 лет, женщин — 145, средний возраст 51,19±0,43 лет; 4 — лица без клинических признаков ИБС, представители некоренного населения (n=230), из них мужчин — 104, средний возраст 51,09±0,52 лет, женщин — 126, средний возраст 51,37±0,47 лет. К представителям коренной национальности отнесены якуты, некоренной — русские, украинцы и белорусы, проживающие в Якутии постоянно.

Критерии исключения. Аномалии развития коронарных артерий, интактные коронарные артерии, наличие нестабильной стенокардии, острого ИМ в анамнезе до 6 мес. для групп больных; диагностированная ИБС для групп сравнения; приобретенные и врожденные пороки сердца, кардиомиопатии, обострение любых хронических заболеваний, возраст младше 45 лет и от 65 лет и старше для всех групп. Обследование проводилось по стандартным методикам и включало следующие обязательные разделы: стандартный опрос по анкете Rose (для групп сравнения) и анкете, разработанной для оценки объективного состояния; трехкратное измерение артериального давления ртутным сфигмома-

Таблица 1

Краткая информация по ОНП, отобранном для анализа

Rs, ген	Хр. лок.	Диагноз	Больные	Контроль	OR	Краткое описание
rs4804611, <i>ZNF627</i>	19p13	MI	413	792	-	США
		MI	560	891	1.58	11053 ОНП, США
rs2549513	16	MI, CHD death	1345			Framingham Heart Study
rs1376251, <i>TAS2R50</i>	12p13	MI	413	792	-	США
		MI	445	606	1.75	11053 ОНП, США
rs1333049	9p21	MI	589	2,475	1.47	Genome-wide association study (GWAS), Япония
		CAD	12004	28949	1.24	Meta-Analysis
rs619203, <i>ROS1</i>	6q22	MI	413	792	-	США
		MI	340	346	1.40	11053 ОНП, США
rs17465637 <i>MIA3</i>	1q41	CAD	1926	2938	1.2	European, WTCCC
		MI	589	2,475	1.45	Genome-wide association study (GWAS), Япония

Таблица 2

Частоты генотипов ОНП у больных АГ и в контрольной группе в зависимости от этнической принадлежности

ОНП	Генотипы	Коренные				p	Некоренные				p
		АГ(+)		АГ(-)			АГ(+)		АГ(-)		
		n	%	n	%		n	%	n	%	
rs17465637 <i>MIA3</i>	AA	43	18,5	18	10,8	0,023	29	11,4	16	10,9	0,033
	CA	113	48,5	78	47		112	44,1	61	41,5	
	CC	77	33	70	42,2		113	44,5	70	47,6	
rs619203 <i>ROS1</i>	CC	7	3,1	5	3,1	0,023	45	16	52	25,6	0,033
	CG	56	24,5	44	27		120	42,7	75	36,9	
	GG	166	72,5	114	69,9		116	41,3	76	37,4	
rs4804611 <i>ZNF627</i>	AA	170	72,6	116	70,3	0,023	158	56	119	58,3	0,033
	AG	57	24,4	41	24,8		99	35,1	62	30,4	
	GG	7	3	8	4,8		25	8,9	23	11,3	
rs2549513 xp. 16	AA	205	88	154	93,9	0,023	210	75,3	161	78,2	0,033
	AC	28	12	10	6,1		65	23,3	42	20,4	
	CC	0	0	0	0		4	1,4	3	1,5	
rs1376251 <i>TAS2R50</i>	CC	42	18,1	18	10,9	0,023	119	46,9	65	45,1	0,033
	CT	94	40,5	88	53,3		101	39,8	56	38,9	
	TT	96	41,4	59	35,8		34	13,4	23	16	
rs1333049 xp. 9	CC	54	23,1	28	16,8	0,023	67	23,6	37	17,9	0,033
	GC	121	51,7	102	61,1		145	51,1	115	55,6	
	GG	59	25,2	37	22,2		72	25,4	55	26,6	
rs10757278 xp. 9	AA	59	25,3	38	22,5	0,023	70	24,7	59	28,5	0,033
	AG	118	50,6	103	60,9		146	51,6	113	54,6	
	GG	56	24	28	16,6		67	23,7	35	16,9	
rs499818 xp. 6	AA	16	6,8	13	7,8	0,023	14	4,9	15	7,3	0,033
	AG	91	38,9	51	30,5		111	38,9	76	36,9	
	GG	127	54,3	103	61,7		160	56,1	115	55,8	

нометром для установления наличия и степени АГ; антропометрическое обследование (измерение роста и веса с вычислением индекса массы тела (ИМТ), окружностей талии (ОТ) и бедер (ОБ) с оценкой отношения ОТ/ОБ); регистрация электрокардиограммы в покое; проведение СКАГ (для групп больных); забор крови из локтевой вены в утренние часы натощак с 12-часовым перерывом после приема

пищи для оценки липидного (определение уровней общего холестерина (ОХС), триглицеридов (ТГ), холестерина липопротеидов высокой (ЛВП-ХС) и низкой (ЛНП-ХС) плотности, углеводного (определение уровней глюкозы крови и инсулина с вычислением индекса инсулинорезистентности НОМА-IR) обменов; молекулярно-генетический анализ. Для диагностики МС использованы критерии IDF,

Таблица 3

**Частоты генотипов ОНП у больных АГ и в контрольной группе
в зависимости от этнической и гендерной принадлежности**

ОНП	Генотипы	Коренные										Некоренные												
		Мужчины					p	Женщины					p	Мужчины					p	Женщины				
		АГ(+)		АГ(-)				АГ(+)		АГ(-)				АГ(+)		АГ(-)				АГ(+)		АГ(-)		
		n	%	n	%			n	%	n	%			n	%	n	%			n	%	n	%	
rs17465637 <i>MIA3</i>	AA	35	20	12	10,4			8	13,8	6	11,8			18	9,3	11	9,1			11	18	5	19,2	
	CA	83	47,4	54	47			30	51,7	24	47,1			84	43,5	48	39,7			28	45,9	13	50	
	CC	57	32,6	49	42,6			20	34,5	21	41,2			91	47,2	62	51,2			22	36,1	8	30,8	
rs619203 <i>ROS1</i>	CC	7	4,1	4	3,6			0	0	1	2			24	11,8	20	14,2			21	26,9	32	51,6	
	CG	38	22,1	32	28,6			18	31,6	12	23,5			92	45,3	54	38,3			28	35,9	21	33,9	
	GG	127	73,8	76	67,9			39	68,4	38	74,5			87	42,9	67	47,5			29	37,2	9	14,5	
rs4804611 <i>ZNF627</i>	AA	125	71	88	77,2			45	77,6	28	54,9		0,033	122	60,4	89	64			36	45	30	46,2	
	AG	46	26,1	24	21,1			11	19	17	33,3			67	33,2	40	28,8			32	40	22	33,8	
	GG	5	2,8	2	1,8			2	3,4	6	11,8			13	6,4	10	7,2			12	15	13	20	
rs2549513 xp. 16	AA	154	87,5	103	91,2			51	89,5	51	100		0,028	146	73,4	110	78			64	80	51	78,5	
	AC	22	12,5	10	8,8			6	10,5	0	0			51	25,6	28	19,9			14	17,5	14	21,5	
	CC	0	0	0	0			0	0	0	0			2	1	3	2,1			2	2,5	0	0	
rs1376251 <i>TAS2R50</i>	CC	33	18,8	11	9,6		0,004	9	16,1	7	13,7			93	48,4	53	44,9			26	41,9	12	46,2	
	CT	67	38,1	65	57			27	48,2	23	45,1			78	40,6	47	39,8			23	37,1	9	34,6	
	TT	76	43,2	38	33,3			20	35,7	21	41,2			21	10,9	18	15,3			13	21	5	19,2	
rs1333049 xp. 9	CC	43	24,3	20	17,2			11	19,3	8	15,7			59	28,8	26	18,3			8	10,1	11	16,9	
	GC	91	51,4	66	56,9			30	52,6	36	70,6			97	47,3	79	55,6			48	60,8	36	55,4	
	GG	43	24,3	30	25,9			16	28,1	7	13,7			49	23,9	37	26,1			23	29,1	18	27,7	
rs10757278 xp. 9	AA	44	24,9	31	26,3			15	26,8	7	13,7			47	23	39	27,5			23	29,1	20	30,8	
	AG	88	49,7	67	56,8			30	53,6	36	70,6			98	48	77	54,2			48	60,8	36	55,4	
	GG	45	25,4	20	16,9			11	19,6	8	15,7			59	28,9	26	18,3			8	10,1	9	13,8	
rs499818 xp. 6	AA	12	6,8	10	8,6			4	7	3	5,9			7	3,4	11	7,8			7	8,9	4	6,2	
	AG	71	40,1	32	27,6			20	35,1	19	37,3			83	40,3	53	37,6			28	35,4	23	35,4	
	GG	94	53,1	74	63,8			33	57,9	29	56,9			116	56,3	77	54,6			44	55,7	38	58,5	

2005. МС диагностировался при наличии центрального ожирения и 2-х дополнительных критериев.

Коронарография (для групп больных) выполнялась на ангиографической установке "Axiom. Artis BA" (Siemens, Германия) по общепринятой методике Judkins. В качестве контрастного вещества применяли омнипак. Контрастное вещество подавалось со скоростью 1-3 мл/с автоматически или вручную в количестве 3-5 мл на серию. Оценивались основные коронарные артерии (ствол левой коронарной артерии, передняя межжелудочковая артерия, огибающая артерия, диагональная артерия, ветвь тупого края и правая коронарная артерия), тип коронарного кровоснабжения (преимущественно левый, правый и сбалансированный) и количество пораженных коронарных артерий (одно-, двух-, трех- и многососудистое поражение). Степень стеноза коронарных артерий определялась автоматически по классификации Американского колледжа кардиологии (ACC) и Американской кардиологической ассоциации (АНА) [10].

Геномную ДНК выделяли из 10 мл венозной крови методом фенол-хлороформной экстракции. Полимор-

физм генов тестировали с помощью ПЦР в реальном времени в соответствии с протоколом фирмы производителя (зонды TaqMan, Applied Biosystems, USA) на приборе ABI 7900HT. В исследование были включены следующие ОНП: rs17465637 гена *MIA3*, rs4804611 гена *ZNF627*, rs2549513 (xp. 16), rs619203 гена *ROS1*, rs1333049 (xp. 9), rs1376251 гена *TAS2R50*. ОНП были отобраны по результатам полногеномных ассоциативных исследований, краткая информация о которых содержится в таблице 1. Исследования проведены сотрудниками ФГБУ "НИИ терапии" СО РАМН и Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск).

Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации (2000). Исследование одобрено локальным комитетом по биомедицинской этике при ЯНЦ КМП (протокол № 32 от 07 ноября 2012г, решение № 3). Оценку полученных результатов проводили по общепринятым классификациям.

В качестве программного обеспечения статистического анализа материалов исследования использовался пакет программ SPSS (версия 13). Проверку

Таблица 4

Частоты генотипов ОНП у больных с перенесенным ИМ в анамнезе и контрольной группе в зависимости от этнической принадлежности

ОНП	Генотипы	Коренные				p	Некоренные				p
		ИМ(+)		ИМ(-)			ИМ(+)		ИМ(-)		
		n	%	n	%		n	%	n	%	
rs17465637 <i>MIA3</i>	AA	20	17,1	41	14,5	0,000	8	6,7	37	13,2	0,000
	CA	54	46,2	137	48,6		58	48,3	115	40,9	
	CC	43	36,8	104	36,9		54	45	129	45,9	
rs619203 <i>ROS1</i>	CC	5	4,3	7	2,5	0,001	9	7,4	87	24	0,001
	CG	31	26,7	69	25		63	52,1	132	36,5	
	GG	80	69	200	72,5		49	40,5	143	39,5	
rs4804611 <i>ZNF627</i>	AA	86	72,3	200	71,4	0,002	74	61,7	203	55,6	0,001
	AG	31	26,1	67	24		38	31,7	122	33,4	
	GG	2	1,7	13	4,6		8	6,7	40	11	
rs2549513 xp. 16	AA	102	86,4	257	92,1	0,001	85	73,3	285	77,4	0,001
	AC	16	13,6	22	7,9		25	21,6	82	22,3	
	CC	0	0	0	0		6	5,2	1	0,3	
rs1376251 <i>TAS2R50</i>	CC	18	15,4	42	15	0,002	55	45,5	129	46,6	0,002
	CT	39	33,3	143	51,1		46	38	111	40	
	TT	60	51,3	95	33,9		20	16,5	37	13,4	
rs1333049 xp. 9	CC	23	19,3	59	20,9	0,002	28	23,3	75	20,3	0,002
	GC	68	57,1	155	55		64	53,3	196	53	
	GG	28	23,5	68	24,1		28	23,3	99	26,7	
rs10757278 xp. 9	AA	29	24,4	68	24	0,002	27	22,5	102	27,6	0,002
	AG	67	56,3	154	54,4		65	54,2	194	52,6	
	GG	23	19,3	61	21,6		28	23,3	73	19,8	
rs499818 xp. 6	AA	9	7,6	20	7,1	0,002	5	4,1	24	6,5	0,002
	AG	47	39,8	95	33,6		49	40,5	138	37,4	
	GG	62	52,5	168	59,3		67	55,4	207	56,1	

на нормальность распределения изучаемых количественных показателей проводили по тесту Колмагорова-Смирнова. Использовали стандартные критерии оценки статистических гипотез: t-Стьюдента, Манна-Уитни, χ^2 -Пирсона, за пороговый уровень значимости принимали величину $p < 0,05$. Проводили многофакторный анализ. Определяли частоты генотипов, изучаемых ОНП в группе больных и группе сравнения, затем оценивали соответствие частот генотипов по равновесию Харди-Вайнберга в контрольной группе (по критерию χ^2). Ассоциация ОНП с факторами риска проверялась с помощью таблиц сопряженности с использованием критерия χ^2 -Пирсона. В случае четырехпольных таблиц для сравнения выборок по частотам генотипов применяли точный двусторонний критерий Фишера. Относительный риск (OR — odds ratio) заболевания по конкретному генотипу вычисляли как отношение шансов.

Результаты и обсуждение

Частоты генотипов, изученных шести ОНП у коренных и некоренных жителей Якутии, представлены в таблицах 2-9.

Rs17465637 гена *MIA3* (1-я хромосома (1q41)). Среди мужчин коренной национальности носителей генотипа AA значимо чаще диагностировался МС по сравнению с носителями генотипов AC и CC ($p=0,029$). У носителей же генотипа AC чаще встречался КАС ($p=0,040$). У женщин коренной национальности ассоциации данного ОНП с МС и КАС не выявлено. У некоренных жителей получена ассоциация rs17465637 с КАС: в общей группе у носителей генотипа AA реже выявлялся КАС по сравнению с носителями генотипов AC и CC ($p=0,046$) и ИМ у мужчин носителей генотипа CA ($p=0,047$). В российском исследовании (г. Новосибирск) была получена ассоциация данного ОНП с ИМТ. Так, в контрольной группе мужчин ИМТ повышался в ряду генотипов CC, AC, AA ($p=0,046$). Ассоциации с ИМ не выявлено [3]. Ассоциация rs17465637 с ИБС и ИМ была показана в некоторых зарубежных исследованиях [6, 8]. В то же время, в более позднем проспективном исследовании не было получено ассоциации данного ОНП с ИМ [11].

Rs619203 гена *ROS1* (МIM 165020) (6-я хромосома (6q22)). Получена ассоциация rs619203 с МС

Таблица 5

Частоты генотипов ОНП у больных с перенесенным ИМ в анамнезе и контрольной группе (мужчины)

ОНП	Генотипы	Коренные				p	Некоренные				p
		ИМ(+)		ИМ(-)			ИМ(+)		ИМ(-)		
		n	%	n	%		n	%	n	%	
rs17465637 <i>MIA3</i>	AA	19	18,3	28	15,1	0,047	5	4,7	24	11,6	
	CA	49	47,1	88	47,3		53	49,5	79	38,2	
	CC	36	34,6	70	37,6		49	45,8	104	50,2	
rs619203 <i>ROS1</i>	CC	5	4,8	6	3,3	0,009	7	6,5	37	15,7	
	CG	28	27,2	42	23,2		57	52,8	89	37,7	
	GG	70	68	133	73,5		44	40,7	110	46,6	
rs4804611 <i>ZNF627</i>	AA	76	71,7	137	74,4	0,041	66	61,7	145	62	
	AG	29	27,4	41	22,3		33	30,8	74	31,6	
	GG	1	0,9	6	3,3		8	7,5	15	6,4	
rs2549513 xp. 16	AA	90	85,7	167	90,8	0,005	78	75,7	178	75,1	
	AC	15	14,3	17	9,2		21	20,4	58	24,5	
	CC	0	0	0	0		4	3,9	1	0,4	
rs1376251 <i>TAS2R50</i>	CC	15	14,3	29	15,7	0,005	53	49,1	93	46	
	CT	36	34,3	96	51,9		40	37	85	42,1	
	TT	54	51,4	60	32,4		15	13,9	24	11,9	
rs1333049 xp. 9	CC	21	19,8	42	22,4	0,005	28	25,9	57	23,8	
	GC	60	55,6	97	51,9		55	50,9	121	50,6	
	GG	25	23,6	48	25,7		25	23,2	61	25,5	
rs10757278 xp. 9	AA	26	24,5	49	25,9	0,005	25	23,2	61	25,6	
	AG	59	55,7	96	50,8		55	50,9	120	50,4	
	GG	21	19,8	44	23,3		28	25,9	57	24	
rs499818 xp. 6	AA	7	6,6	15	8	0,005	4	3,7	14	5,8	
	AG	42	39,6	61	32,6		45	41,7	91	38,1	
	GG	57	53,8	111	59,4		59	54,6	134	56,1	

Таблица 6

Частоты генотипов ОНП у больных с МС (по критериям IDF, 2005) и в контрольной группе в зависимости от этнической принадлежности

ОНП	Генотипы	Коренные				p	Некоренные				p
		МС(+)		МС(-)			МС(+)		МС(-)		
		n	%	n	%		n	%	n	%	
rs17465637 <i>MIA3</i>	AA	27	23,9	22	10,8	0,008	18	11,8	15	10,1	
	CA	53	46,9	107	52,5		70	46,1	64	43	
	CC	33	29,2	75	36,8		64	42,1	70	47	
rs619203 <i>ROS1</i>	CC	4	3,6	6	3	0,000	23	13,6	68	31,6	
	CG	29	26,4	54	26,7		74	43,8	86	40	
	GG	77	70	142	70,3		72	42,6	61	28,4	
rs4804611 <i>ZNF627</i>	AA	73	64,6	149	72,3	0,009	98	56,3	117	53,9	
	AG	39	34,5	45	21,8		61	35,1	68	31,3	
	GG	1	0,9	12	5,8		15	8,6	32	14,7	
rs2549513 xp. 16	AA	95	84,8	192	93,2	0,016	126	74,6	165	76	
	AC	17	15,2	14	6,8		40	23,7	48	22,1	
	CC	0	0	0	0		3	1,8	4	1,8	
rs1376251 <i>TAS2R50</i>	CC	20	18	29	14,1	0,005	70	45,8	68	45,9	
	CT	45	40,5	93	45,4		61	39,9	57	38,5	
	TT	46	41,4	83	40,5		22	14,4	23	15,5	
rs1333049 xp. 9	CC	24	21,2	42	20,4	0,005	37	21,4	46	21,1	
	GC	62	54,9	114	55,3		88	50,9	122	56	
	GG	27	23,9	50	24,3		48	27,7	50	22,9	
rs10757278 xp. 9	AA	27	24,1	50	24,3	0,005	46	26,6	55	25,2	
	AG	60	53,6	114	55,3		90	52	119	54,6	
	GG	25	22,3	42	20,4		37	21,4	44	20,2	
rs499818 xp. 6	AA	6	5,3	17	8,3	0,005	12	6,9	11	5	
	AG	41	36,3	75	36,4		68	39,1	84	38,5	
	GG	66	58,4	114	55,3		94	54	123	56,4	

Таблица 7

Частоты генотипов ОНП у больных с МС (по критериям IDF, 2005) и в контрольной группе в зависимости от этнической и гендерной принадлежности

ОНП	Генотипы	Коренные								Некоренные										
		Мужчины				p	Женщины				p	Мужчины				p	Женщины			
		МС(+)		МС(-)			МС(+)		МС(-)			МС(+)		МС(-)			МС(+)		МС(-)	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
rs17465637 MIA3	AA	21	25,3	14	11,2	0,029	6	20	8	10,1		12	11	5	4,8		6	14	10	22,7
	CA	38	45,8	68	54,4		15	50	39	49,4		49	45	44	41,9		21	48,8	20	45,5
	CC	24	28,9	43	34,4		9	30	32	40,5		48	44	56	53,3		16	37,2	14	31,8
rs619203 ROS1	CC	4	4,9	5	4		0	0	1	1,3	0,016	10	8,6	28	21,9		13	24,5	40	46
	CG	23	28,8	30	24,2		6	20	24	30,8		56	48,3	55	43		18	34	31	35,6
	GG	53	66,3	89	71,8		24	80	53	67,9		50	43,1	45	35,2		22	41,5	16	18,4
rs4804611 ZNF627	AA	52	62,7	97	76,4	0,034	21	70	52	65,8		72	60,5	77	60,6		26	47,3	40	44,4
	AG	30	36,1	26	20,5		9	30	19	24,1		39	32,8	36	28,3		22	40	32	35,6
	GG	1	1,2	4	3,1		0	0	8	10,1		8	6,7	14	11		7	12,7	18	20
rs2549513 xp. 16	AA	68	82,9	117	91,4		27	90	75	96,2		85	74,6	91	71,7		41	74,5	74	82,2
	AC	14	17,1	11	8,6		3	10	3	3,8		28	24,6	32	25,2		12	21,8	16	17,8
	CC	0	0	0	0		0	0	0	0		1	0,9	4	3,1		2	3,6	0	0
rs1376251 TAS2R50	CC	16	19,5	17	13,4		4	13,8	12	15,4		52	47,7	48	46,2		18	40,9	20	45,5
	CT	31	37,8	57	44,9		14	48,3	36	46,2		43	39,4	43	41,3		18	40,9	14	31,8
	TT	35	42,7	53	41,7		11	37,9	30	38,5		14	12,8	13	12,5		8	18,2	10	22,7
rs1333049 xp. 9	CC	21	25,3	26	20,3		3	10	16	20,5		35	29,4	29	22,7		2	3,7	17	18,9
	GC	44	53	66	51,6		18	60	48	61,5		54	45,4	72	56,3		34	63	50	55,6
	GG	18	21,7	36	28,1		9	30	14	17,9		30	25,2	27	21,1		18	33,3	23	25,6
rs10757278 xp. 9	AA	18	21,7	37	28,9		9	31	13	16,7		29	24,4	29	22,7		17	31,5	26	28,9
	AG	43	51,8	65	50,8		17	58,6	49	62,8		55	46,2	70	54,7		35	64,8	49	54,4
	GG	22	26,5	26	20,3		3	10,3	16	20,5		35	29,4	29	22,7		2	3,7	15	16,7
rs499818 xp. 6	AA	5	6,1	11	8,6		1	3,3	6	7,7		5	4,2	7	5,4		7	12,7	4	4,5
	AG	28	33,7	49	38,3		13	43,3	26	33,3		50	42	51	39,5		18	32,7	33	37,1
	GG	50	60,2	68	53,1		16	53,3	46	59		64	53,8	71	55		30	54,5	52	58,4

(p=0,000), АГ (p=0,033), КАС (p=0,000), ИМ (p=0,009), гипертриглицеридемия (ГТГ) (p=0,000), сниженным уровнем ЛВП-ХС (p=0,000) и ИА (p=0,000) у некоренных жителей. Как у мужчин (p=0,016), так и женщин (p=0,005) носители генотипа CC реже страдали МС, чем носители генотипа GG. АГ чаще диагностировалась у женщин с генотипом GG, чем у носительниц генотипа CC (p=0,002). КАС реже выявлялся у носителей генотипа CC, по сравнению с носителями генотипа CG у мужчин (p=0,020) и генотипа GG у женщин (p=0,012). ИМ чаще болели мужчины с генотипом CG в отличие от носителей генотипа CC (p=0,009). Абдоминальное ожирение (АО), ГТГ, низкий уровень ЛПВП и повышенный индекс атерогенности (ИА) чаще встречался у носителей генотипов CG и GG, по сравнению с носителями генотипа CC (АО — 43,2 vs 38,3 vs 18,5%; ГТГ — 43,5 vs 46,6 vs 9,9%; низкий уровень ЛПВП — 44 vs 44 vs 12,1%; ИА — 40,6 vs 46,6 vs 12,8%, соответственно, p=0,000). В 2005г были опубликованы результаты 3-этапного исследования, выполненного в США, где была показана ассоциация данного ОНП

с ИМ [12]. Но в более поздних работах ассоциации rs619203 с ИБС и ИМ не было найдено [4, 13, 14]. В российском исследовании, выполненном в Новосибирске, была показана ассоциация у носителей генотипа CC с ростом, окружностью бедер, ИМТ, ОХС, ЛВП-ХС и ТГ [3].

Rs4804611 гена ZNF627 (хромосома (19p13.2)). Получена ассоциация rs4804611 с МС (p=0,009), АГ (p=0,033) и АО по критериям IDF (p=0,023) у коренных жителей, также с КАС (p=0,002) у некоренных жителей. У коренных мужчин носителей генотипа AG чаще встречался МС по сравнению с контролем (36,1 vs 20,5%, соответственно, p=0,034). У коренных женщин носительниц генотипа AA значимо чаще выявлялась АГ по сравнению с контролем (77,6 vs 54,9%, соответственно, p=0,033). У коренных жителей АО чаще встречалось у носителей генотипа AA по сравнению с носителями генотипов AG и GG (IDF — 70,2 vs 28,2 vs 1,6%, p=0,023; Азия — 69,4 vs 28,2 vs 2,3% p=0,049, соответственно). Среди некоренных женщин КАС чаще диагностировался у носительниц генотипа AA по сравнению с контролем (62,5 vs 40,7%, соответ-

Таблица 8

Частоты генотипов ОНП у больных с КАС и в контрольной группе в зависимости от этнической принадлежности

ОНП	Генотипы	Коренные				p	Некоренные				p
		КАС(+)		КАС(-)			КАС(+)		КАС(-)		
		n	%	n	%		n	%	n	%	
rs17465637 <i>MIA3</i>	AA	32	15,8	29	14,7		18	7,9	27	15,7	0,046
	CA	105	52	86	43,7		101	44,1	72	41,9	
	CC	65	32,2	82	41,6		110	48	73	42,4	
rs619203 <i>ROS1</i>	CC	8	4	4	2,1		24	10,5	73	28,6	0,000
	CG	48	24,2	52	26,8		101	44,1	94	36,9	
	GG	142	71,7	138	71,1		104	45,4	88	34,5	
rs4804611 <i>ZNF627</i>	AA	142	69,6	144	73,8		145	63,3	132	51,4	0,002
	AG	56	27,5	42	21,5		72	31,4	89	34,6	
	GG	6	2,9	9	4,6		12	5,2	36	14	
rs2549513 xp. 16	AA	178	87,3	181	93,8	0,027	162	72,3	209	80,1	0,006
	AC	26	12,7	12	6,2		55	24,6	52	19,9	
	CC	0	0	0	0		7	3,1	0	0	
rs1376251 <i>TAS2R50</i>	CC	34	16,8	26	13,3	0,007	107	46,7	77	45,6	
	CT	77	38,1	105	53,8		90	39,3	67	39,6	
	TT	91	45	64	32,8		32	14	25	14,8	
rs1333049 xp. 9	CC	47	22,9	35	17,9		56	24,5	48	18,3	
	GC	113	55,1	110	56,1		122	53,3	138	52,7	
	GG	45	22	51	26		51	22,3	76	29	
rs10757278 xp. 9	AA	46	22,4	51	25,9		51	22,3	78	29,9	0,047
	AG	111	54,1	110	55,8		121	52,8	138	52,9	
	GG	48	23,4	36	18,3		57	24,9	45	17,2	
rs499818 xp. 6	AA	14	6,9	15	7,6		12	5,2	17	6,5	
	AG	75	36,8	67	34		89	38,5	98	37,7	
	GG	115	56,4	115	58,4		130	56,3	145	55,8	

ственно, $p=0,008$). Ассоциации rs4804611 с ИМ, уровнями липидов крови и индексом НОМА-IR не найдено. Не найдена ассоциация данного ОНП с ИМ также в исследованиях, проведенных в Германии [13] и США [4]. В то же время, в более раннем 3-х этапном исследовании, выполненном в США, была показана ассоциация rs4804611 с ИМ [12]. Эта ассоциация также была подтверждена в Японии [7]. В российском исследовании ассоциации rs4804611 с ИМ и уровнями эндогенных показателей также не было обнаружено [3].

Rs2549513 (16-я хромосома). Найдена ассоциация rs2549513 с МС ($p=0,016$), АГ ($p=0,028$), коронарным атеросклерозом ($p=0,027$), гиперхолестеринемией (ГХС) ($p=0,037$), ГТГ ($p=0,008$), сниженным уровнем ЛВП-ХС ($p=0,044$) и ИА ($p=0,025$) у коренных, также с КАС ($p=0,006$) и ИМ ($p=0,001$) у некоренных жителей. При разделении по полу у коренных жителей ассоциации с МС не получено. Коренные женщины, носительницы генотипа AA, чаще страдали АГ, чем женщины с генотипом AC (89,5 vs 10,5% соответственно, $p=0,028$). В общей группе мужчин и женщин обеих этнических групп получена ассоциация с КАС. Так, у носителей генотипа AC чаще выявлялся КАС, по сравнению с контролем (коренные: 12,7 vs 6,2%,

$p=0,027$; некоренные: 24,6 vs 19,9%, $p=0,006$, соответственно). При разделении по полу аналогичная ассоциация с КАС была получена в группе некоренных женщин (21,9 vs 18,6%, соответственно, $p=0,024$). Ассоциация с ИМ найдена среди некоренных жителей, как в общей группе, так и при разделении по полу у мужчин: носители генотипа AA чаще страдали ИМ в отличие от носителей генотипов AC и CC (все: 73,3 vs 21,6 vs 5,2%, $p=0,001$; мужчины: 75,7 vs 20,4 vs 3,9%, $p=0,041$, соответственно). У коренных жителей данный ОНП ассоциировался с ГХС, ГТГ, низким уровнем ЛВП-ХС и ИА: у носителей генотипа AC почти в 2,5 раза чаще выявлялись ГХС и ГТГ (ГХС — ОШ = 2,423, 95% ДИ 1,032-5,686, $p=0,043$; ГТГ — ОШ = 2,505, 95% ДИ 1,253-5,008, $p=0,012$), также почти в 2 раза чаще встречались низкий уровень ЛВП-ХС и повышенный ИА (низкий уровень ЛВП-ХС — ОШ = 2,022, 95% ДИ 1,008-4,055, $p=0,044$; ИА — ОШ = 2,228, 95% ДИ 1,103-4,499, $p=0,033$). В российском исследовании (Новосибирск) ассоциации rs2549513 с ИМ не выявлено. Выявлена ассоциация генотипов с уровнями ОХС, ЛНП-ХС, ИА и глюкозы [3]. По данным Фрамингемского исследования rs2549513 ассоциирован с ИБС (ИМ, фатальная ИБС) [5].

Таблица 9

Частоты генотипов ОНП у больных с КАС и в контрольной группе в зависимости от этнической и гендерной принадлежности

ОНП	Генотипы	Коренные								Некоренные										
		Мужчины				p	Женщины				p	Мужчины				p	Женщины			
		КАС(+)		КАС(-)			КАС(+)		КАС(-)			КАС(+)		КАС(-)			КАС(+)		КАС(-)	
		n	%	n	%		n	%	n	%		n	%	n	%		n	%	n	%
rs17465637 <i>MIA3</i>	AA	29	16,4	18	15,9	0,040	3	12	11	13,1		13	6,6	16	13,8		5	16,1	11	19,6
	CA	93	52,5	44	38,9		12	48	42	50		86	43,4	46	39,7		15	48,4	26	46,4
	CC	55	31,1	51	45,1		10	0	50	31		99	50	54	46,6		11	35,5	19	33,9
rs619203 <i>ROS1</i>	CC	8	4,6	3	2,7		0	0	1	1,2	0,020	17	8,6	27	18,4		7	21,9	46	42,6
	CG	42	24,3	28	25,2		6	24	24	28,9		91	46,2	55	37,4		10	31,3	39	36,1
	GG	123	71,1	80	72,1		19	76	58	69,9		89	45,2	65	44,2		15	46,9	23	21,3
rs4804611 <i>ZNF627</i>	AA	126	70,4	87	78,4		16	64	57	67,9		125	63,5	86	59,7		20	62,5	46	40,7
	AG	48	26,8	22	19,8		8	32	20	23,8		60	30,5	47	32,6		12	37,5	42	37,2
	GG	5	2,8	2	1,8		1	4	7	8,3		12	6,1	11	7,6		0	0	25	22,1
rs2549513 xp. 16	AA	155	86,6	102	92,7		23	92	79	95,2		139	72,4	117	79,1		23	71,9	92	81,4
	AC	24	13,4	8	7,3		2	8	4	4,8		48	25	31	79		7	21,9	21	18,6
	CC	0	0	0	0		0	0	0	0		5	2,6	0	0		2	6,3	0	0
rs1376251 <i>TAS2R50</i>	CC	29	16,3	15	13,4	0,006	5	20,8	11	13,1		95	48,2	51	45,1		12	37,5	26	46,4
	CT	68	38,2	64	57,1		9	37,5	41	49,4		77	39,1	48	42,5		13	40,6	19	33,9
	TT	81	45,5	33	29,5		10	41,7	31	37,3		25	12,7	14	12,4		7	21,9	11	19,6
rs1333049 xp. 9	CC	43	23,9	20	17,7		4	16	15	18,1		56	28,3	29	19,5		0	0	19	16,8
	GC	98	54,4	59	52,2		15	60	51	61,4		99	50	77	51,7		23	74,2	61	54
	GG	39	21,7	34	30,1		6	24	17	20,5		43	21,7	43	28,9		8	25,8	33	29,2
rs10757278 xp. 9	AA	40	22,2	35	30,4		6	24	16	19,5		44	22,2	42	28,4		7	22,6	36	31,9
	AG	96	53,3	59	51,3		15	60	51	62,2		98	49,5	77	52		23	74,2	61	54
	GG	44	24,4	21	18,3		4	16	15	18,3		56	28,3	29	19,6		1	3,2	16	14,2
rs499818 xp. 6	AA	12	6,7	10	8,8		2	8,3	5	6		10	5	8	18		2	6,3	9	8
	AG	65	36,1	38	33,6		10	41,7	29	34,5		78	39,2	58	39,2		11	34,4	40	35,7
	GG	103	57,2	65	57,5		12	50	50	59,5		111	55,8	82	55,4		19	59,4	63	56,3

Rs1376251 гена *TAS2R50* (MIM 609627) (12-я хромосома (12p13.2)). Получена ассоциация rs1376251 с АГ (p=0,023), КАС (p=0,007), ИМ (p=0,002), ГТГ (p=0,039) у коренных жителей. С индексом НОМА-IR получена ассоциация на уровне тенденции: у носителей генотипа ТТ чаще выявлялся повышенный индекс ИР по сравнению с носителями генотипа СТ (46,4 vs 35,7%, соответственно, p=0,050). В общей группе без разделения по полу и среди мужчин у носителей генотипа СС чаще диагностировалась АГ по сравнению с контролем (все — 18,1 vs 10,9%, p=0,023; мужчины — 18,8 vs 9,6%, p=0,004, соответственно). В то же время, КАС и ИМ чаще диагностировались у носителей генотипа ТТ по сравнению с контролем (КАС — все 45 vs 32,8%, p=0,007; мужчины — 45,5 vs 29,5%, p=0,006; ИМ — все 51,3 vs 33,9%, p=0,002; мужчины — 51,4 vs 32,4%, p=0,005, соответственно). У носителей генотипа СС чаще встречалась ГТГ по сравнению с контролем (20 vs 13,3%, соответственно, p=0,039). У некоренных жителей ассоциации данного ОНП с изучаемыми факторами не найдено. Ассоциации rs1376251 с ИМ не обнаружено также в Германии [13] и США

[4]. Хотя в более раннем 3-этапном исследовании, выполненном в США, была показана ассоциация этого ОНП с ИМ [12]. В российском исследовании выявлена ассоциация генотипов rs1376251 с уровнем глюкозы. У мужчин с ИМ этот ОНП ассоциирован с ЛВП-ХС. У женщин в контрольной группе была выявлена ассоциация с частотой сердечных сокращений, а у женщин с ИМ — с отношением ОТ/ОБ и ТГ [3].

Rs1333049 (9-я хромосома). Генотип СG ассоциирован с КАС у некоренных женщин (p=0,030) и ГХС-ЛНП у коренных женщин (p=0,019). Ассоциации с МС, АГ, ИМ и другими изучаемыми факторами не обнаружено. В российском исследовании было показано, что отношение шансов иметь ИМ для носителей генотипа СС повышено почти в 2 раза, носительство генотипа СG являлось протективным фактором в отношении риска развития ИМ [3]. По данным зарубежных авторов, rs1333049 ассоциирован с ранним началом ИБС, повторным ИМ и сердечной смертью после острого коронарного синдрома [12, 15].

Заключение

По данным нашего исследования, существуют ассоциации изучаемых патологий с различными генетическими маркерами у жителей Якутии в зависимости от этнической и гендерной принадлежности. Получены следующие ассоциации: с МС — ОНП rs2549513 (хр. 16), rs4804611 гена *ZNF627*, rs17465637 гена *MIAF3* у коренного и rs619203 гена *ROS1*, rs1333049 (хр. 9) у некоренного населения; с АГ — ОНП rs1376251 гена *TAS2R50*, rs2549513 (хр. 16), rs4804611 гена *ZNF627* у коренного и rs619203 гена *ROS1* у некоренного населения; с КАС — ОНП rs1376251 гена *TAS2R50*, rs2549513 (хр. 16), rs17465637 гена *MIAF3* у коренного и rs619203 гена *ROS1*, rs2549513 (хр. 16), rs4804611 гена *ZNF627*, rs10757278 и rs1333049 (хр. 9), rs17465637 гена *MIAF3* у некоренного населения;

с ИМ — ОНП rs1376251 гена *TAS2R50* у коренного и rs619203 гена *ROS1*, rs2549513 (хр. 16), rs17465637 гена *MIAF3* у некоренного населения Якутии. Данные генетические маркеры могут быть использованы для оценки риска развития ССЗ на российской (якутской) популяции.

Благодарности. Работа выполнена в рамках программы Федерального государственного бюджетного научного учреждения “Якутский научный центр комплексных медицинских проблем” (ЯНЦ КМП) “Вклад метаболического синдрома в развитие атеросклероза коронарных артерий у жителей Якутии” при научно-методической помощи Федерального государственного бюджетного научного учреждения “Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины” (г. Новосибирск).

Литература

- Dankovtseva EN, Zateyshchikov DA, Chudakova DA, et al. Associations of Hemostasis Factors Genes With Early Development of Ischemic Heart Disease and Manifestation of Myocardial Infarction in Young Age. *Kardiologiya* 2005; 12: 17-24. (In Russ.) Данковцева Е. Н., Затеишиков Д. А., Чудакова Д. А. и др. Ассоциация генов факторов гемостаза с ранним развитием ишемической болезни сердца и манифестацией ИМ в молодом возрасте. *Кардиология* 2005; 12: 17-24.
- Pchelina SN, Sirotkina OV, Sheidina AM, et al. Genetic Factors of Risk of Development of Myocardial Infarction in Young Men Living in North-West Region of Russia. *Kardiologiya* 2007; 7: 29-34. (In Russ.) Пчелина С. Н., Сироткина О. В., Шейдина А. М. и др. Генетические факторы риска развития инфаркта миокарда у мужчин молодого возраста, проживающих в северо-западном регионе России. *Кардиология* 2007; 7: 29-34.
- Maksimov VN, Kulikov IV, Orlov PS, et al. Evaluation of association between 9 genetic polymorphism and myocardial infarction in the Siberian population. *Annals of the Russian academy of medical sciences* 2012; 5: 24-9. (In Russ.) Максимов В. Н., Куликов И. В., Орлов П. С. и др. Проверка взаимосвязи между девятью однонуклеотидными полиморфизмами и инфарктом миокарда на сибирской популяции. *Вестн. Рос. акад. мед. наук* 2012; 5: 24-9.
- Horne BD, Carlquist JF, Muhlestein JB, et al. Associations with myocardial infarction of six polymorphisms selected from a three-stage genome-wide association study. *Am Heart J* 2007; 154 (5): 969-75.
- Larson MG, Atwood LD, Benjamin EJ, et al. Framingham Heart Study 100K project: genome-wide associations for cardiovascular disease outcomes. *BMC Med Genet* 2007; 19 (8): S5.
- Samani NJ, Erdmann J, Hall AS, et al. Genome-wide association analysis of coronary artery disease. *N Engl J Med* 2007; 2357: 443-53.
- Yamada Y, Kato K, Oguri M, et al. Genetic risk for myocardial infarction determined by polymorphisms of candidate genes in a Japanese population. *J Med Genet* 2008; 45(4): 216-21.
- Hiura Y, Fukushima Y, Yuno M, et al. Validation of the association of genetic variants on chromosome 9p21 and 1q41 with myocardial infarction in a Japanese population. *Circ J* 2008; 72 (8): 1213-7.
- Schunkert H, Götz A, Braund P, et al. Repeated replication and a prospective meta-analysis of the association between chromosome 9p21.3 and coronary artery disease. *Circulation* 2008; 117 (13): 1675-84.
- Smith Jr SC, Feldman TE, Hirshfeld Jr JW, et al. ACC/AHA/SCAI 2005 Guideline Update for Percutaneous Coronary Intervention-summary article: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (ACC/AHA/SCAI Writing Committee to Update the 2001 Guidelines for Percutaneous Coronary Intervention). *Circulation* 2006; 113 (1): 156-75.
- Bressler J, Folsom AR, Couper DJ, et al. Genetic variants identified in a European genome-wide association study that were found to predict incident coronary heart disease in the atherosclerosis risk in communities study. *Am J Epidemiol* 2010; 171 (1): 14-23.
- Shiffman D, Ellis SG, Rowland CM, et al. Identification of four gene variants associated with myocardial infarction. *Am J Hum Genet* 2005; 77: 596-605.
- Koch W, Hoppmann P, Schömig A, Kastrati A. Variations of specific non-candidate genes and risk of myocardial infarction: A replication study. *Int J Cardiol* 2009; 147 (1): 38-41.
- Theodoraki EV, Nikopousios T, Suhorutsenko J, et al. *ROS1* Asp2213Asn polymorphism is not associated with coronary artery disease in a Greek case-control study. *Clin Chem Lab Med* 2009; 47 (12): 1471-73.
- Buysschaert I, Carruthers KF, Dunbar DR, et al. A variant at chromosome 9p21 is associated with recurrent myocardial infarction and cardiac death after acute coronary syndrome: The GRACE Genetics Study. *Eur Heart J* 2010; 31 (9): 1132-41.

АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИН-АЛЬДОСТЕРОНОВОЙ СИСТЕМЫ И СВЯЗЬ С ВАЗОПРЕССОРАМИ ПРИ ЭСSENЦИАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ С ГИПЕРТРОФИЕЙ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА В ДАГЕСТАНСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Саидов М. З., Маммаев С. Н., Абдуллаев А. А., Арапханова Т. Б., Израйлова Г. Р.

Цель. Изучение частот генотипов и аллелей полиморфизмов генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и β 2-адренорецепторов и оценка связи полученных результатов с уровнями вазопрессоров в сыворотке крови при эссенциальной артериальной гипертензии (ЭАГ) с гипертрофией левого желудочка (ГЛЖ) и без ГЛЖ в дагестанской популяции.

Материал и методы. В работу включены 98 пациентов с диагнозом "эссенциальная артериальная гипертензия с ГЛЖ и без ГЛЖ". Изучались генотипы полиморфизма A1166C гена *AGTR1* и полиморфизма Arg16Gly гена *ADRB2*. Тестирование обозначенных полиморфизмов проводили с помощью аллель-специфической полимеразной цепной реакции. Уровень ангиотензина (АТ) II, эндотелина (ЭТ) 1-21 и альдостерона (АС) в сыворотке крови определяли методом твердофазного ИФА. Уровень АПФ определяли энзиматическим методом. Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Statistica (версия 6.0), а также "Biostat 4.03".

Результаты. У больных ЭАГ с ГЛЖ частота генотипа Arg/Arg полиморфизма Arg16Gly гена *ADRB2* встречалась с меньшей частотой по сравнению с контролем. При ЭАГ без ГЛЖ определяется достоверное снижение частот генотипа АС полиморфизма A1166C гена *AGTR1* и генотипа Arg/Arg полиморфизма Arg16Gly гена *ADRB2*. Уровень ЭТ1-21 и АТ II в группе больных ЭАГ без ГЛЖ достоверно превышал аналогичный показатель в контрольной группе. Уровень АТ II у больных ЭАГ с ГЛЖ достоверно превышал аналогичный показатель в группе больных без ГЛЖ. Повышение показателей указанных медиаторов АГ сочеталось со снижением уровня АС в исследованных группах больных по сравнению с контролем. В группе больных ЭАГ с ГЛЖ достоверное увеличение уровня ЭТ1-21 ассоциировано с носительством генотипа АС полиморфизма A1166C гена *AGTR1*, а генотипы AA и CC этого же полиморфизма ассоциированы со снижением уровня ЭТ1-21. При ЭАГ без ГЛЖ достоверное снижение уровня АТ II отмечалось у носителей генотипов AA и АС полиморфизма A1166C гена *AGTR1*. Кроме этого, определялась ассоциация всех генотипов полиморфизма Arg16Gly гена *ADRB2* со снижением уровня АТ II.

Заключение. При ЭАГ с ГЛЖ и без ГЛЖ в дагестанской популяции наиболее значимыми являются генотипы AA, АС и CC полиморфизма A1166C гена *AGTR1*, также генотипы Arg/Arg, Arg/Gly, Gly/Gly и аллели Arg и Gly полиморфизма Arg16Gly гена *ADRB2*. Патогенетическая значимость указанных поли-

морфизмов дополняется наличием достоверных прямых корреляционных взаимосвязей с уровнями ЭТ1-12, АТ II, АС в сыворотке крови.

Российский кардиологический журнал 2017, 10 (150): 76–84
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-76-84>

Ключевые слова: эссенциальная артериальная гипертензия, гипертрофия левого желудочка, полиморфизмы генов, генотипы, вазопрессоры, дагестанская популяция.

ФГБОУ ВПО Дагестанский государственный медицинский университет, НИИ экологической медицины, Махачкала, Россия.

Саидов М. З.* — д.м.н. профессор, зав. кафедрой патологической физиологии, зав. лабораторией медицинской генетики, Маммаев С. Н. — д.м.н. профессор, зав. кафедрой госпитальной терапии, Абдуллаев А. А. — д.м.н. профессор, зав. кафедрой поликлинической терапии, кардиологии и общей врачебной практики ПК и ППС, Арапханова Т. Б. аспирант кафедры поликлинической терапии, кардиологии и общей врачебной практики ПК и ППС, Израйлова Г. Р. — н.с. лаборатории медицинской генетики НИИ экологической медицины

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): marat2002@pochta.ru

АГ — артериальная гипертензия, АПФ — ангиотензин-превращающий фермент, АС — альдостерон, АТ II — ангиотензин II, ГЛЖ — гипертрофия левого желудочка, ЛЖ — левый желудочек, РААС — ренин-ангиотензин-альдостероновая система, ЭАГ — эссенциальная артериальная гипертензия, ЭТ 1-21 — эндотелин1-21, *ADRB2* — ген β 2-адренорецептора, АГТ — ген ангиотензиногена, *AGTR1* — ген рецептора 1 типа ангиотензина II.

Рукопись получена 13.01.2017
 Рецензия получена 04.02.2017
 Принята к публикации 07.02.2017

ANALYSIS OF POLYMORPHISMS OF RENIN-ANGIOTENSIN-ALDOSTERONE SYSTEM AND RELATION TO VASOPRESSORS IN ESSENTIAL SYSTEMIC HYPERTENSION WITH THE LEFT VENTRICLE HYPERTROPHY IN DAGESTAN REPUBLIC

Saidov M. Z., Mammaev S. N., Abdullaev A. A., Arapkhanova T. B., Israilova G. R.

Aim. To assess the prevalences of genotypes and alleles polymorphisms of renin-angiotensin-aldosterone system, and β 2-adrenoreceptors, and to evaluate the results in regard to vasopressor levels in blood serum in essential systemic hypertension (ESH) with the left ventricle hypertrophy (LVH) and with none, in Dagestan Republic population.

Material and methods. To the assessment, 98 patients included with the diagnosis "essential systemic hypertension with or none LVH". Genotypes were assessed, of polymorphism A1166C gene *AGTR1* and polymorphism Arg16Gly gene *ADRB2*. The testing of the polymorphisms was performed with allele-specific polymerase chain reaction. Level of angiotensin (AT) II, endothelin (ET) 1-21 and aldosterone (AS) in blood serum was measured by the hard-phase IEA. Level of ACE was measured by enzymatic method. Statistics was done with the software Statistica (version 6.0) and "Biostat 4.03".

Results. In EAH patients with LVH the prevalence of Arg/Arg polymorphism Arg16Gly gene *ADRB2* was lower than in control. In EAH with no LVH there is significant decline of АС genotype prevalences of polymorphism A1166C gene

AGTR1 and genotype Arg/Arg polymorphism Arg16Gly gene *ADRB2*. Level of ET1-21 and АТ II in the group of EAH with no LVH patients was significantly higher than in controls. Level of АТ II in EAH with LVH was significantly higher than none LVH group. Increase of the levels of these mediators of АН was followed by a decline of АS level in the groups of patients comparing to controls. In EAH group with LVH significant increase of ET 1-21 was associated with the carriage of АS polymorphism A1166C gene *AGTR1*, and genotypes AA and CC of the same polymorphism were associated with the decrease of levels of ET1-21. In EAH with no LVH a significant decrease of АТ II level was found in the carriers of AA and АС genotypes of polymorphism A1166C gene *AGTR1*. Also, the association was found of all genotypes of polymorphism Arg16Gly gene *ADRB2* with the decrease of АТ II.

Conclusion. In Dagestan population, in EAH with and with no LVH, most significant are genotypes AA, АС and CC of polymorphism A1166C gene *AGTR1*, and genotypes Arg/Arg, Arg/Gly, Gly/Gly and alleles Arg and Gly polymorphism Arg16Gly gene *ADRB2*. Pathogenic significance of the mentioned polymorphisms is emphasized by the presence of polymorphism ET1-12, АТ II, АS in blood serum.

Key words: essential arterial hypertension, left ventricle hypertrophy, genes polymorphisms, genotypes, vasopressors, Dagestan population.

Стойкое повышение артериального давления (АД) вызывает усиление систолического напряжения миокарда, которое ведёт к концентрической гипертрофии левого желудочка (ГЛЖ) вследствие гипертрофии кардиомиоцитов и формированию миокардиального фиброза. С функциональной точки зрения ГЛЖ рассматривается как адаптация к систолической перегрузке у больных с артериальной гипертензией (АГ) с последующим ремоделированием левого желудочка (ЛЖ). При эссенциальной артериальной гипертензии (ЭАГ) процесс ремоделирования затрагивает также и сосуды резистивного типа. Структурно-функциональный базис ремоделирования сосудов при ЭАГ — это гипертрофия гладких мышц сосудов резистивного типа, сопряжённая с нарушениями функциональных механизмов регуляции (нервных и гуморальных) сосудистого тонуса. Кроме этого, определённая патогенетическая общность ГЛЖ с гипертрофической кардиомиопатией (ГКМП) даёт основание для изучения общих патофизиологических закономерностей гипертрофии кардиомиоцитов и оценки влияния факторов риска на течение и исход патологического процесса. Значимость факта ГЛЖ обусловлена тем, что этот процесс связан с развитием дисфункции ЛЖ, нарушениями ритма, а также ролью ГЛЖ как независимого предиктора неблагоприятного прогноза в сочетании с другими независимыми факторами (возраст, мужской пол, результаты теста 6-минутной ходьбы, плазменный уровень Na-уретических пептидов) [1].

Из всех факторов риска генетическая составляющая гипертрофии кардиомиоцитов и миоцитов сосудов резистивного типа является доминирующей. Известно, что этот процесс связан с экспрессией и патофизиологическими эффектами продуктов “молчащих” генов кардиомиоцитов, которые отнесены к категории генов-кандидатов. Характерные гистологические изменения, обнаруживаемые при ГЛЖ, а также при ГКМП — это увеличение и полиплоидизация кардиомиоцитов, нарастание в кардиомиоцитах активности их ядрышковых организаторов, сопутствующий интерстициальный фиброз и накопление коллагена I и III типа, могут быть обусловлены в т.ч. и генетическими причинами [2-4]. Идентификация мутаций в генах тяжелых цепей β -миозина, а также тропонинов T и I, миозинсвязывающего белка C, регуляторных легких цепей миозина, эссенциальных легких цепей миозина, сердечного актина, тяжелых цепей сердечного α -миозина и тропонина C позволила определить конкретный генетический

базис и наметить направление дальнейших исследований [5, 6]. Кроме этого, остаётся невыясненным вопрос о том, почему в одних случаях течение ЭАГ сопровождается формированием ГЛЖ, а в других признаки ГЛЖ минимальны или не определяются вообще. Длительность течения и степень ЭАГ, несомненно, являются важными факторами ремоделирования ЛЖ, но дать убедительное объяснение причин отсутствия ГЛЖ, либо трансформации систолической перегрузки ЛЖ в тот или иной тип ГЛЖ при ЭАГ, они не могут.

Предрасположенность к ГЛЖ реализуется через различные группы генов, в частности, генов, регулирующих гемодинамику (гены ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, симпатoadреналовой системы, натрийуретических факторов), генов эндотелиальной дисфункции, генов мембранного ионного транспорта и передачи рецепторного сигнала в клетку (гены G-белков и ферментов каскадного фосфорилирования в клетке), генов факторов роста (ген трансформирующего фактора роста- β), генов синтазы оксида азота и др. [7-10].

Тесная связь функционального состояния кардиомиоцитов с балансом прессорного (тканевая и почечная ренин-ангиотензин-альдостероновая система (РААС), вазоконстрикторы — эндотелины (ЭТ) 1,2,3, вазопрессин, альдостерон (АС), ПГ- F_2 , лейкотриены C и D и др.) и депрессорного (NO, Na-уретические пептиды, калликреин-кининовая система, ПГ- E_2 , простаглицлин, аденозин и др.) контуров длительного действия позволила оценить вклад полиморфизмов генов РААС при ГЛЖ. Ряд исследований подтверждает связь полиморфизмов генов ангиотензиногена (AGT), ангиотензин-превращающего фермента (ACE), ангиотензиновых рецепторов 1-го типа (AGTR1), ангиотензиновых рецепторов 2-го типа (AGTR2) и альдостеронсинтазы (CYP11B2) с наследственной отягощенностью по АГ [7-9]. Кроме того, выявлена ассоциация полиморфизмов этих генов с развитием АГ. Отмечена разница частот встречаемости и вариантов полиморфизмов указанных генов в зависимости от этнического происхождения.

В частности, среди больных АГ китайской популяции показано, что гомозиготы по T-аллелю полиморфизма M235T гена AGT имеют значительно больший индекс массы миокарда ЛЖ, чем гетерозиготы и гомозиготы по M-аллелю этого же полиморфизма [11]. У мужчин корейской национальности генотип M/M и аллель M полиморфизма M235T гена AGT является фактором риска развития АГ и ГЛЖ,

но полиморфизмы *AGTR1* не имели статистически доказанной связи с ГЛЖ [12]. Исследование T174M полиморфизма гена *AGT* показало более высокую распространенность М-аллеля в гомозиготном состоянии у больных АГ с ГЛЖ [13]. Выраженность ГЛЖ у женщин с АГ ассоциирована с присутствием аллеля D гена ангиотензин-превращающего фермента. Кроме того, обнаружено, что присутствие данного аллеля связано с концентрическим типом ГЛЖ и его диастолической дисфункцией [14].

Однако, данные литературы достаточно противоречивы. Так, у поляков изучение взаимосвязи генотипа DD гена *ACE* с уровнем АД, ГЛЖ, а также толщины стенки интима-медиа не принесло статистически достоверных данных [15]. Также в исследовании, включавшем около семисот родителей и детей поляков, русских и итальянцев не было показано ассоциаций между генотипами A1166C гена *AGTR1* и ГЛЖ [9]. В то же время, показано, что пациенты с АГ, носители генотипа DD гена *ACE* имеют большую массу миокарда левого желудочка по сравнению с группой сравнения [16]. Таким образом, значение полигенных изменений, в частности, в системе РААС при ЭАГ с ГЛЖ несомненно. Однако их точная роль в патогенезе ЭАГ до сих пор не ясна. Однозначной интерпретации имеющихся на сегодняшний день многочисленных данных нет и дальнейшие исследования в этом направлении совершенно обоснованны и перспективны. В предыдущей работе [17] были отражены результаты наших исследований частот встречаемости генотипов полиморфизмов генов РААС и β 2-адренорецепторов при ЭАГ I, II и III степени в дагестанской популяции и дана оценка связи экспрессии генотипов изученных полиморфизмов с уровнями вазопрессоров в сыворотке крови. Однако, результаты изучения указанных показателей в связи с наличием или отсутствием ГЛЖ при ЭАГ не были представлены.

Целью настоящей работы явилось изучение частот генотипов и аллелей полиморфизмов генов РААС и β 2-адренорецепторов и оценка связи полученных результатов с уровнями вазопрессоров в сыворотке крови при ЭАГ с ГЛЖ и без ГЛЖ в дагестанской популяции.

Материал и методы

В работу включены 98 больных ЭАГ (52 женщины и 46 мужчин), находившихся на обследовании и лечении в отделении артериальных гипертензий Республиканской клинической больницы г. Махачкалы, кардиологическом отделении Республиканской больницы № 2 г. Махачкалы, а также больные, находившиеся на амбулаторном учёте в Муниципальной поликлинике № 4 г. Махачкалы. Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией “Этические принципы проведения научных меди-

цинских исследований с участием человека” с поправками 2000г. У каждого участника было получено письменное информированное согласие на проведение обследования. Протоколы обследования больных были одобрены Этическим комитетом Дагестанского государственного медицинского университета.

Критерии включения в исследование: добровольное информированное согласие больного, больные с клиническим диагнозом эссенциальная артериальная гипертензия с ГЛЖ или без ГЛЖ.

Критерии исключения из исследования: больные с вторичными (симптоматическими) формами артериальной гипертензии, наличие инфаркта миокарда или инсульта, больные с сопутствующими заболеваниями других органов и систем, патогенетически не связанных с ЭАГ, но могущих повлиять на результаты исследования, а также участие пациентов в любом другом исследовании.

Диагноз ЭАГ и наличие ГЛЖ устанавливали на основании рекомендаций Всероссийского научного общества кардиологов (ВНОК) по диагностике и лечению артериальной гипертонии.

Контрольную группу составили 48 здоровых доноров с нормальным уровнем АД в возрасте 19-35 лет (27 мужчин и 21 женщина). Все добровольцы, давшие информированное согласие на проведение исследования, в течение последнего месяца перед началом исследования не переносили острых заболеваний, прежде всего, инфекционного характера, и не имели хронической патологии воспалительного генеза.

Настоящая работа относится к категории контролируемых (исследования типа “случай-контроль”), прогностических и проспективных исследований.

Для анализа использовали геномную ДНК, выделенную из цельной крови пациентов и здоровых добровольцев с помощью набора “ДНК-экспресс кровь” (“Литех”, Россия) согласно инструкции производителя. Определение аллелей изучаемых полиморфизмов проводили методом ПЦР в реальном времени. Амплификацию и плавление продуктов ПЦР проводили на амплификаторе с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени ABI 7900 HT (“Applied Biosystems”, США). Аллель-специфическую полимеразную цепную реакцию проводили согласно методике разработанной производителем (“Литех”) для генетических полиморфизмов *AGT* (Thr174Met, C>T, rs4762), *AGT* (Met235Thr, T>C, rs 699), *AGTR1* (A1166C, rs5186), *ADRB2* (Arg16Gly, rs1042713), *ADRB2* (Gln27Glu, rs1042714). Генотипирование полиморфизмов Thr174Met и Met235Thr гена *AGT*, полиморфизм A1166C гена *AGTR1* проводили с использованием наборов для генотипирования “SNP-ЭКСПРЕСС-РВ-Кардиогенетика”. Согласно инструкции к этому набору, с образцом выделенной ДНК проводили одновременно две реакции амплификации —

с двумя парами аллель-специфичных праймеров на параллельное выявление аллелей дикого и мутантного типа (норма и патология, соответственно). Результаты анализа кривых накопления флуоресцентного сигнала по каждому из заданных для образцов каналов позволяют дать качественную оценку отсутствия или наличия мутантного аллеля в гетероили гомозиготной форме. Генотипирование полиморфизмов гена *ADRB2* (Arg16Gly и Gln27Glu) проводили на наборах “SNP-ЭКСПРЕСС-SHOT-PB-Кардиогенетика”, Литех, согласно инструкции производителя.

Уровень сывороточного ангиотензина II (АП II) определяли методом конкурентного твёрдофазного ИФА, с применением поликлональных АТ к АТ II. Работу проводили на наборах ИФА компании “RayBiotech“, ISO 13485 Certified, США. Результат выражался в пг/мл.

Уровень ЭТ1-21 в сыворотке крови определяли методом твёрдофазного ИФА на наборах компании “Biomedica“, CAT. NO BI-20052. Результат выражался в фмоль/мл.

Уровень сывороточного альдостерона (АС) определяли методом конкурентного твёрдофазного ИФА на наборах компании “Diagnostics Biochem Canada Inc.“, CAT. NO 749-8600. Результат выражался в пг/мл.

Результаты ИФА-анализов определяли на многоканальном спектрофотометре компании “Human“, Германия, Humanreader Single в двухволновом режиме, основной фильтр — 450 нм, референс-фильтр — 630 нм.

Активность ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) определяли энзиматическим методом на наборах “ACE kinetic Angiotensin Converting Enzyme” BUNLMANN, кат. № КК-АСК. Результаты анализа измеряли на биохимическом анализаторе ChemWell Awareness Technology Inc., USA, при длине волны 340 нм. Результат выражался в ед. АСЕ.

Статистическая обработка полученных результатов. Обработку данных проводили с помощью статистического пакета Statistica (версия 6,0), а также “Biostat 4.03”. База данных создавалась с использованием редактора электронных таблиц Microsoft Excel 2007. Непрерывные переменные в исследуемых выборках представлены в виде медианы (Me) с 25;75-процентилями. Для определения достоверности различий между двумя сравниваемыми выборками использовался критерий Манна-Уитни. При множественных сравнениях использовался критерий Крускала-Уолеса и Данна. Достоверность различий частот генотипов и аллелей полиморфизмов исследованных генов в основной и контрольной группах проводили с помощью критерия χ^2 . В случаях, когда ожидаемые значения были ниже 10, критерий χ^2 рассчитывался с поправкой Йейтса. В случаях достоверности различий частот полиморфизмов в основной и контрольной

группах рассчитывалась величина относительного риска (ОР) развития ЭАГ у пациентов основной группы с доверительными интервалами (ДИ). Показатель ОР считался достоверным, если ДИ не включал единицу. Корреляционную взаимосвязь между изученными параметрами определяли с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r). Сила связи определялась величиной r: слабая $r < 0,3$, средней силы r от 0,3 до 0,7 и сильная $r > 0,7$. Различия считали статистически достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Всего обследовано 98 больных ЭАГ, из них 52 женщины и 46 мужчин, средний возраст обследованных $46,8 \pm 7,6$ лет. Для оценки состояния сердечной деятельности всем больным выполнялись ЭКГ-исследования. Верификация ГЛЖ проводилась с использованием индекса Соколова-Лайона. Учитывались сумма амплитуды зубца R в левых грудных отведениях V_5-V_6 и амплитуды зубца S в правых грудных отведениях V_1-V_2 . В случаях, когда их сумма превышала 35 мм, констатировалось наличие ГЛЖ. Группа больных ЭАГ с ГЛЖ включала 31 пациента, группа больных ЭАГ без ГЛЖ включала 64 пациента. У пациентов с ГЛЖ определялась 2 или 3 степень АГ, у пациентов без ГЛЖ определялась, преимущественно, 1 или 2 степень АГ.

В семейном анамнезе ЭАГ встречалась у родственников I степени родства (родители, родные братья, сёстры) в 27% случаев (26 пациентов) и у родственников II степени родства (бабушки и дедушки) в 44% случаев (42 пациента).

В обследованной когорте больных ЭАГ методом ПЦР в реальном времени были изучены следующие генотипы и аллели полиморфизмов генов-кандидатов ЭАГ:

- полиморфизм Thr174Met (мутация в 174 кодоне, приводящая к замене аминокислоты треонина на метионин) гена ангиотензиногена (*AGT*);
- полиморфизм Met235Thr (мутация в 235 кодоне, приводящая к замене аминокислоты метионина на треонин) гена ангиотензиногена (*AGT*);
- полиморфизм A1166C (замена нуклеотида аденина на цитозин в 1166 позиции) гена рецептора I типа ангиотензина II (*AGTRI*);
- полиморфизм Gln27Glu (замена аминокислоты глутамина на глутаминовую кислоту в 27 позиции) гена β_2 -адренорецептора (*ADRB2*);
- полиморфизм Arg16Gly (замена аминокислоты аргинина на глицин в 16 позиции) гена β_2 -адренорецептора (*ADRB2*).

Все исследованные полиморфизмы относились к категории единичных нуклеотидных замен (SNP) и определялись в ПЦР в реальном времени либо в гомозиготном, либо в гетерозиготном состоянии.

Таблица 1

Частоты и относительные риски генотипов и аллелей полиморфизма A1166C гена AGTR1 у больных ЭАГ без ГЛЖ

Генотипы, аллели	Больные ЭАГ без ГЛЖ		Контроль		χ^2	ОР (95% ДИ)
	абс	%	абс	%		
AA	37	58	19	42,2	1,985; P=0,159	1,9 (0,7-5,1)
AC	20	31	24	51	3,47; P=0,05	0,4 (0,16-1,2)
CC	7	11	3	6,7	0,179; P=0,672	1,6 (0,9-2,8)
A	94	73	62	67,7	0,678; P=0,41	1,3 (0,5-3,2)
C	34	27	30	32,2	0,678; P=0,41	0,75 (0,3-1,8)

Примечание: χ^2 и ОР рассчитывались по отношению к контрольной группе.

Сокращения: ОР — относительный риск, P — достоверность различий.

Таблица 2

Частоты и относительные риски генотипов и аллелей полиморфизма Arg16Gly гена ADRB2 у больных ЭАГ с ГЛЖ

Генотипы, аллели	Больные ЭАГ с ГЛЖ		Контроль		χ^2	ОР (95% ДИ)
	абс	%	абс	%		
Arg/Arg	4	15	17	37	3,36; P=0,06	0,3 (0,1-0,7)
Arg/Gly	19	70	22	48,9	2,36; P=0,124	2,4 (0,9-6,3)
Gly/Gly	4	15	6	13,3	0,31; P=0,86	1,2 (0,6-2,3)
Arg	27	50	56	62,2	1,595; P=0,207	0,6 (0,2-1,6)
Gly	27	50	34	37,8	1,595; P=0,207	1,6 (0,6-4,3)

Примечание: χ^2 и ОР рассчитывались по отношению к контрольной группе.

Сокращения: ОР — относительный риск, P — достоверность различий.

Таблица 3

Частоты и относительные риски генотипов и аллелей полиморфизма Arg16Gly гена ADRB2 у больных ЭАГ без ГЛЖ

Генотипы, аллели	Больные ЭАГ без ГЛЖ		Контроль		χ^2	ОР (95% ДИ)
	абс	%	абс	%		
Arg/Arg	6	15	17	37	8,349; P=0,004	0,2 (0,09-0,5)
Arg/Gly	40	70	22	48,9	5,619; P=0,018	2,9 (1,12-7,6)
Gly/Gly	8	15	6	13,3	0,006; P=0,937	1,1 (0,5-2,2)
Arg	52	48	56	62,2	3,375; P=0,05	0,6 (0,2-1,5)
Gly	56	52	34	37,8	3,375; P=0,05	1,7 (0,6-4,6)

Примечание: χ^2 и ОР рассчитывались по отношению к контрольной группе.

Сокращения: ОР — относительный риск, P — достоверность различий.

В работе представлен анализ частот генотипов и аллелей исследованных полиморфизмов.

Из перечисленных выше полиморфизмов генотипов ЭАГ в обследованной когорте больных достоверные изменения частот встречались только в отношении полиморфизма A1166C гена AGTR1 и полиморфизма Arg16Gly гена ADRB2. У больных ЭАГ с ГЛЖ расчёт частот генотипов и аллелей указанных полиморфизмов и показателей ОР ни в одном случае не показал статистически достоверного уровня. В то же время, в группе больных ЭАГ без ГЛЖ (табл. 1), определялось достоверное снижение частоты генотипа AC по сравнению с контрольной группой ($\chi^2=3,47$; P=0,05), поскольку в контрольной группе носителей этого генотипа было 51%, в группе больных ЭАГ — 31%.

Сопоставление распределения частот генотипов и аллелей полиморфизма Arg16Gly гена ADRB2 показало, что в группе больных с ЭАГ с ГЛЖ определяется, аналогично предыдущему случаю, выраженная тенденция к снижению частоты генотипа Arg/Arg по сравнению с контрольной группой ($\chi^2=3,36$; P=0,06), таблица 2. Уровень значимости в этом случае (P=0,06) близок к уровню значимости P<0,05, при котором различия считались статистически достоверными. Иные показатели получены в группе больных ЭАГ без ГЛЖ, таблица 3. Прежде всего, обращает на себя внимание то обстоятельство, что частота генотипа Arg/Arg полиморфизма Arg16Gly гена ADRB2 также достоверно снижается ($\chi^2=8,349$; P=0,004). Но снижение частоты этого генотипа связано уже с высокой вероятностью отсутствия ГЛЖ

Таблица 4

Уровни ЭТ 1-21, АТ II, АС и АПФ в сыворотке крови у больных ЭАГ с ГЛЖ и без ГЛЖ

	ЭТ 1-21, фмоль/мл Ме (25;75)	АТ II, пг/мл Ме (25;75)	АС, пг/мл Ме (25;75)	АПФ, ед. АСЕ Ме (25;75)
Больные ЭАГ с ГЛЖ, n=23	0,22 (0,13;0,9)	13,4* (9,2;30)	222 (155;274)	11,7 (3,3;13)
Больные ЭАГ без ГЛЖ, n=35	0,32* (0,15;0,57)	5,8 (3,8;8,4)	166* (113;207)	9,5 (5;17)
Контрольная группа, n=30	0,19 (0,1;0,46)	9,2 (5,8;15,2)	322,8 (274,9;356,9)	8,6 (5,7;15)

Примечание: * — $p < 0,05$, (критерии Крускала-Уоллиса и Данна), * — $p < 0,05$ по сравнению с группой больных ЭАГ без ГЛЖ.

Таблица 5

Уровни ЭТ 1-21, АТ II, АС и АПФ в сыворотке крови у больных ЭАГ с ГЛЖ с полиморфизмами генов *AGTR1* и *ADRB2*

	ЭТ 1-21, фмоль/мл Ме (25;75)	АТ II, пг/мл Ме (25;75)	АС, пг/мл Ме (25;75)	АПФ, ед. АСЕ Ме (25;75)
Генотипы полиморфизма A1166C гена <i>AGTR1</i> у больных ЭАГ с ГЛЖ				
AA, n=7	0,8** (0,3;2,4)	13,2 (8,6;14)	202* (162;250)	9 (5,7;11)
AC, n=6	0,48* (0,17;0,9)	13,4 (9,2;30)	222 (155;274)	10 (9,3;10)
CC, n=8	0,13* (0,05;0,3)	8,4 (6,2;11)	66** (48;74)	12 (9,4;14)
Генотипы полиморфизма A1166C гена <i>AGTR1</i> в контрольной группе				
AA, n=10	0,14 (0,08;0,2)	10,4 (5,7;11,8)	339 (296;366)	7,5 (4;10)
AC, n=17	0,24 (0,12;0,5)	17,2 (6,6;28,8)	321 (273;344)	10,5 (5;14)
CC, n=7	0,23 (0,2;0,33)	8,2 (7,3;12,6)	323 (258;340)	8,5 (3;11)
Генотипы полиморфизма Arg16Gly гена <i>ADRB2</i> у больных с ГЛЖ				
Arg/Arg, n=7	0,48* (0,17;0,9)	13,4 (9,2;30)	222 (155;274)	12 (8,3;14)
Arg/Gly, n=9	0,4* (0,1;1,2)	13,4 (9,2;30)	222 (155;274)	10 (9,3;12)
Gly/Gly, n=6	0,06** (0,05;0,9)	6,8 (5,2;8)	242 (195;270)	11,3 (7;15,5)
Генотипы полиморфизма Arg16Gly гена <i>ADRB2</i> в контрольной группе				
Arg/Arg, n=10	0,13 (0,05;0,2)	10,5 (7;16)	291 (257;351)	10,5 (5;14)
Arg/Gly, n=14	0,19 (0,14;0,4)	11 (5,9;26)	341 (318;354)	9 (4,4;10)
Gly/Gly, n=6	0,47 (0,24;0,57)	9,2 (3,5;18,6)	273 (265;328)	11 (6,4;16)

Примечание: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой (критерий Манна-Уитни).

при ЭАГ в дагестанской популяции, ОР = 0,2 (0,09-0,5). Противоположная картина открывается в отношении генотипа Arg/Gly. Как видно из таблицы, в группе больных ЭАГ без ГЛЖ определяется достоверное увеличение частоты этого генотипа по сравнению с контролем ($\chi^2=5,619$; $P=0,018$) и это увеличение также ассоциировано с высокой вероятностью отсутствия ГЛЖ при ЭАГ у носителей данного генотипа в дагестанской популяции, поскольку ОР=2,9 (1,12-7,6). В этой группе больных определяется достоверное увеличение частот аллелей Arg и Gly полиморфизма Arg16Gly гена *ADRB2* ($\chi^2=3,375$; $P=0,05$). Однако ОР появления ЭАГ у носителей этих аллелей не достигало уровня статистической достоверности.

Следующий этап работы был связан с определением уровня сывороточных вазопрессоров в исследованных группах больных, носителей указанных выше генотипов. В таблице 4 представлены значения ЭТ 1-21, АТ II, АС и АПФ в сыворотке крови в группах больных ЭАГ с ГЛЖ и без ГЛЖ. Видно, что у больных ЭАГ без ГЛЖ определяется достоверное ($P < 0,05$) увеличение уровня ЭТ1-21 по сравнению с контролем.

Уровень АТ II у больных ЭАГ с ГЛЖ был достоверно выше по сравнению с группой больных ЭАГ без ГЛЖ (13,4 (9,2;30) пг/мл против 5,8 (3,8;8,4) пг/мл, $P < 0,05$). Уровень АС у больных ЭАГ без ГЛЖ был достоверно ниже по сравнению с контролем, $P < 0,05$. Изменения уровней АПФ не претерпевали статистически достоверных изменений.

На этом фоне у носителей генотипа АС полиморфизма A1166C гена *AGTR1* и у носителей генотипа Arg/Arg полиморфизма Arg16Gly гена *ADRB2* при ЭАГ с ГЛЖ определялось достоверное увеличение сывороточного уровня ЭТ1-21 ($P < 0,05$), в то время как у носителей всех остальных генотипов указанных полиморфизмов определялось снижение сывороточного уровня ЭТ1-21 по сравнению с контролем (табл. 5). Изменения уровней АТ II в этой группе больных не претерпевали статистически значимых различий. Уровень АС достоверно снижался только у носителей генотипов AA и CC полиморфизма A1166C гена *AGTR1*. Что же касается показателей АПФ, то их изменения не были статистически значимыми.

Таблица 6

Уровни ЭТ 1-21, АТ II, АС и АПФ в сыворотке крови у больных ЭАГ без ГЛЖ с полиморфизмами генов *AGTR1* и *ADRB2*

	ЭТ 1-21, фмоль/мл Ме (25;75)	АТ II, пг/мл Ме (25;75)	АС, пг/мл Ме (25;75)	АПФ, ед. ACE Ме (25;75)
Генотипы полиморфизма A1166C гена <i>AGTR1</i>				
AA, n=17	0,29* (0,14;0,74)	5,9* (4,3;9,6)	172,4* (120;213)	8 (4,5;15,8)
AC, n=8	0,28 (0,14;0,6)	6** (4,3;10,8)	183* (145;216)	9 (5;16,3)
CC, n=7	0,28 (0,14;0,54)	5,6 (4,3;7,7)	171** (113;204)	12 (7,2;14,2)
Генотипы полиморфизма A1166C гена <i>AGTR1</i> в контрольной группе				
AA, n=10	0,14 (0,08;0,2)	10,4 (5,7;11,8)	339 (296;366)	7,5 (4;10)
AC, n=17	0,24 (0,12;0,5)	17,2 (6,6;28,8)	321 (273;344)	9 (5;12)
CC, n=8	0,23 (0,2;0,33)	8,2 (7,3;12,6)	323 (258;340)	11 (8,4;14)
Генотипы полиморфизма Arg16Gly гена <i>ADRB2</i>				
Arg/Arg, n=5	0,24 (0,13;0,57)	5** (3,8;8,7)	181* (137;208)	10 (6;17,2)
Arg/Gly, n=19	0,29 (0,14;0,59)	5,9** (4,3;10,4)	180,7** (122;213)	14 (5,45;16,2)
Gly/Gly, n=7	0,29 (0,14;0,74)	5,9* (4,3;9,6)	172,4 (120;213,4)	13 (6,4;16)
Генотипы полиморфизма Arg16Gly гена <i>ADRB2</i> в контрольной группе				
Arg/Arg, n=10	0,13 (0,05;0,2)	10,5 (7;16)	291 (257;351)	12 (6,4;15)
Arg/Gly, n=14	0,19 (0,14;0,4)	11 (5,9;26)	341 (318;354)	10 (5,4;13)
Gly/Gly, n=6	0,47 (0,24;0,57)	9,2 (3,5;18,6)	273 (265;328)	9 (5;14)

Примечание: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой (критерий Манна-Уитни).

Таблица 7

Достоверные корреляционные связи между уровнями в сыворотке крови ЭТ 1-21, АТ II, АС и АПФ с полиморфизмами генов *AGT*, *AGTR1* и *ADRB2* при ЭАГ с ГЛЖ

	ЭТ 1-21	АТ II	АС	АПФ
<i>AGT</i> (Thr174Met)	-	-	-	-
<i>AGT</i> (Met235Thr)	-	-	-	-
<i>AGTR1</i> (A1166C)	-	-	-	-
<i>ADRB2</i> (Gln27Glu)	$r=0,544$ $p=0,007$	$r=0,378$ $p=0,05$	-	-
<i>ADRB2</i> (Arg16Gly)	-	-	$r=0,502$ $p=0,01$	-

Примечание: r — коэффициент ранговой корреляции Спирмена; в таблице представлены только статистически достоверные значения r ($p < 0,05$).

Таблица 8

Достоверные корреляционные связи между уровнями в сыворотке крови ЭТ 1-21, АТ II, АС и АПФ с полиморфизмами генов *AGT*, *AGTR1* и *ADRB2* при ЭАГ без ГЛЖ

	ЭТ 1-21	АТ II	АС	АПФ
<i>AGT</i> (Thr174Met)	$r=0,39$ $p=0,019$	-	-	$r=0,351$ $p=0,01$
<i>AGT</i> (Met235Thr)	$r=0,379$ $p=0,05$	-	-	-
<i>AGTR1</i> (A1166C)	-	-	-	-
<i>ADRB2</i> (Gln27Glu)	$r=0,483$ $p=0,003$	$r=0,331$ $p=0,049$	-	-
<i>ADRB2</i> (Arg16Gly)	$r=0,329$ $p=0,05$	$r=0,327$ $p=0,05$	$r=0,32$ $p=0,05$	-

Примечание: r — коэффициент ранговой корреляции Спирмена; в таблице представлены только статистически достоверные значения r ($p < 0,05$).

При ЭАГ без ГЛЖ все статистически значимые различия по уровню ЭТ1-21 в сыворотке крови утрачиваются, за исключением носителей генотипа AA полиморфизма A1166C гена *AGTR1*. В последнем случае определяется достоверное ($P < 0,05$) увеличение этого показателя по сравнению с контролем (табл. 6). А показатели АТ II, напротив, достигали статистически значимых различий. Определялось достоверное снижение АТ II у носителей генотипов AA и AC полиморфизма A1166C гена *AGTR1* и всех генотипов полиморфизма Arg16Gly гена *ADRB2* по сравнению с контролем. Аналогичная картина присутствует и в отношении уровня АС. Из таблицы видно, что у носителей всех генотипов полиморфизма A1166C гена *AGTR1*, а также у носителей генотипов Arg/Arg и Arg/Gly полиморфизма Arg16Gly гена *ADRB2* определяется достоверное снижение этого гормона в сыворотке крови по сравнению с контролем. Уровень АПФ испытывал тенденцию к повышению во всех изученных случаях.

Помимо констатации фактов изменений частот генотипов и аллелей изученных полиморфизмов, а также изменений сывороточных уровней важнейших вазопрессоров у этих больных, важно было оценить характер связей между изученными показателями. В таблице 7 представлены результаты расчётов достоверных корреляционных связей между уровнями в сыворотке крови ЭТ 1-21, АТ II, АС и АПФ с полиморфизмами генов *AGT*, *AGTR1* и *ADRB2* при ЭАГ с ГЛЖ. Видно, что всего насчитывается три достоверные связи — это связь между полиморфизмом Gln27Glu гена *ADRB2* с уровнями ЭТ1-21 и АТ II, а также связь между полиморфизмом Arg16Gly гена *ADRB2* и уровнем АС.

В группе больных ЭАГ без ГЛЖ количество таких связей увеличивается до семи (табл. 8). Наибольшее количество достоверных связей (четыре) определяется между уровнем ЭТ 1-21 и изученными полиморфизмами генов *AGT* и *ADRB2*. Все эти связи были положительными, средней силы. Такие же связи определяются между АТ II и полиморфизмами гена *ADRB2*. В отношении АС просматривается одна достоверная связь такой же силы и направленности — с полиморфизмом Arg16Gly гена *ADRB2*.

Обсуждение

Систолическая перегрузка и последующее ремоделирование ЛЖ при АГ приводит гипертрофии кардиомиоцитов и формированию миокардиального фиброза. Степень ГЛЖ, стадия развития этого патологического процесса, нарушения нервных и гуморальных механизмов регуляции деятельности сердца являются важным прогностическими факторами течения и исхода АГ. Патогенетически обусловленная причинно-следственная связь между АГ и ГЛЖ является неоспоримой. Однако убедительно объяснить случаи ЭАГ, протекающей без ГЛЖ степенью АГ и длительностью течения этого заболевания не всегда удаётся. В связи с этим, обращение многих исследователей к изучению генетических основ гипертрофии кардиомиоцитов вполне обоснованно и перспективно. Получены многочисленные, крайне важные результаты роли полигенных нарушений в течении и исходе ЭАГ и ассоциаций полиморфизмов генов РААС, симпатoadrenalовой системы, генов, ответственных на синтез сократительных белков кардиомиоцитов и др., с фактом ГЛЖ [8, 9, 11, 12, 14]. Отличительными особенностями результатов этих популяционно-генетических исследований являются уникальность распределения частот полиморфизмов генов-кандидатов в зависимости от этнической, гендерной принадлежности, а также географического района проживания исследуемых пациентов.

В настоящей работе представлены результаты изучения частот генотипов и аллелей полиморфизмов генов *AGT*, *AGTR1*, *ADRB2* и связь с уровнями вазопрессоров в сыворотке крови при ЭАГ с ГЛЖ и без ГЛЖ в дагестанской популяции. Из всех изученных нами полиморфизмов указанных генов достоверные изменения частот встречались только в отношении двух полиморфизмов — A1166C гена *AGTR1* и Arg16Gly гена *ADRB2*. В группе больных ЭАГ с ГЛЖ ни в одном случае нами не определено статистически достоверного увеличения (или уменьшения) частоты генотипа или аллеля какого-либо полиморфизма. Исключение составил генотип Arg/Arg полиморфизма гена Arg16Gly гена *ADRB2*, когда критерий χ^2 был близок к статистически достоверному по сравнению с контрольной группой (табл. 2). Совершенно иная картина открывается при анализе генетических показателей в группе больных без ГЛЖ (табл. 1

и табл. 3). Прежде всего, определяется достоверное снижение частот генотипа АС полиморфизма A1166C гена *AGTR1* и генотипа Arg/Arg полиморфизма Arg16Gly гена *ADRB2*, причём в последнем случае это снижение сопровождалось появлением достоверного ОР = 0,2 (0,09-0,5). Иными словами, снижение частоты указанных генотипов ассоциировано с уменьшением вероятности развития ГЛЖ при ЭАГ в дагестанской популяции. В то же время, в этой же группе больных ЭАГ мы получили достоверное увеличение частоты генотипа Arg/Gly по сравнению с контролем и это увеличение ассоциировано с высокой вероятностью отсутствия ГЛЖ при ЭАГ у носителей данного генотипа в дагестанской популяции, поскольку ОР = 2,9 (1,12-7,6). Кроме того, в данной группе больных определяется достоверное увеличение частот аллелей Arg и Gly. Подобного сочетания частот конкретных генотипов и аллелей изученных генов-кандидатов при ЭАГ с ГЛЖ и без ГЛЖ в литературе мы не встречали, поэтому именно такое сочетание является уникальным, свойственным только дагестанской популяции больных ЭАГ.

Патогенетическую интерпретацию полученных генетических данных мы связали с оценкой уровня вазопрессоров в сыворотке крови у носителей указанных генотипов и аллелей. Результаты достаточно интересны. Прежде всего, уровень ЭТ1-21 в группе больных ЭАГ без ГЛЖ достоверно превышал аналогичный показатель в контрольной группе, в то время как повышение этого показателя в группе больных ЭАГ с ГЛЖ не было статистически достоверным (табл. 4). Полученные результаты свидетельствуют, во-первых, о бесспорной роли ЭТ1-21 как мощного вазоконстриктора при ЭАГ и, во-вторых, о том, что, вероятно, степень эндотелиальной дисфункции на этапе развития АГ без ГЛЖ более выражена по сравнению с ЭАГ с ГЛЖ. Противоположная картина наблюдалась в отношении АТ II. Видно, что уровень этого вазопрессора у больных ЭАГ с ГЛЖ достоверно превышал аналогичный показатель в группе больных без ГЛЖ, что может свидетельствовать об усилении патогенетического значения почечной РААС при ЭАГ с ГЛЖ. Повышение показателей указанных медиаторов АГ сочеталось со снижением уровня гормона АС в исследованных группах больных по сравнению с контрольной группой, что, в целом, не противоречит литературным данным. Известно, что первичные АГ сопровождаются снижением уровня альдостерона в сыворотке крови [18].

На этом фоне изучение генотипов и аллелей полиморфизмов A1166C гена *AGTR1* и Arg16Gly гена *ADRB2*, т.е. тех полиморфизмов, у носителей которых регистрировалось достоверное изменение их частот, показало, что в группе больных ЭАГ с ГЛЖ достоверное увеличение уровня ЭТ1-21 ассоциировано с носительством генотипа АС полиморфизма A1166C гена *AGTR1*, а генотипы АА и СС этого же полиморфизма ассоциированы со снижением уровня ЭТ1-21

(табл. 5). Аналогично, генотип Arg/Arg полиморфизма Arg16Gly гена *ADRB2* ассоциирован с повышением ЭТ1-21, а генотипы Arg/Gly и Gly/Gly — со снижением. Снижение уровня гормона АС было ассоциировано только с генотипами AA и CC полиморфизма A1166C гена *AGTR1*. Соотношение остальных показателей не несло статистически значимых различий.

Анализ генетических показателей и уровней вазопрессоров в группе больных без ГЛЖ выявил более богатую картину (табл. 6). Прежде всего, обращает на себя внимание увеличение уровня ЭТ1-21 у носителей только генотипа AA полиморфизма A1166C гена *AGTR1* по сравнению с контрольной группой. В этой же группе больных достоверное снижение уровня АТ II отмечалось у носителей генотипов AA и AC полиморфизма A1166C гена *AGTR1*. Кроме этого, определялась ассоциация всех генотипов полиморфизма Arg16Gly гена *ADRB2* со снижением уровня АТ II. В отношении АС видно, что снижение уровня этого гормона в сыворотке крови ассоциировано со всеми генотипами полиморфизма A1166C гена *AGTR1*, а также с генотипами Arg/Arg и Arg/Gly полиморфизма Arg16Gly гена *ADRB2* по сравнению с контрольной группой.

Полученные результаты подтверждаются наличием достоверных корреляционных связей между патогенетически важными генотипами при ЭАГ с ГЛЖ и без ГЛЖ и уровнями сывороточных вазопрессоров (табл. 7). Речь идёт о взаимосвязях уровней ЭТ1-21, АТ II и АС с полиморфизмом Arg16Gly гена *ADRB2*. Другие достоверные

взаимосвязи отмечались с теми полиморфизмами генов РААС и полиморфизмами генов β 2-адренорецепторов, частота которых не была статистически значима при ЭАГ с ГЛЖ и без ГЛЖ в дагестанской популяции.

Заключение

Представленные в настоящей работе результаты свидетельствуют о том, что при ЭАГ с ГЛЖ и без ГЛЖ в дагестанской популяции наиболее значимыми являются генотипы AA, AC и CC полиморфизма A1166C гена *AGTR1*, также генотипы Arg/Arg, Arg/Gly, Gly/Gly и аллели Arg и Gly полиморфизма Arg16Gly гена *ADRB2*. Такое заключение основывается на фактах достоверных ассоциаций этих генотипов с изменениями уровней важнейших вазопрессоров в сыворотке крови — ЭТ1-21 АТ II и АС. Значение указанных вазопрессоров в патогенезе АГ хорошо изучено и не подвергается сомнению. Дополняет это заключение наличие достоверных прямых корреляционных взаимосвязей средней силы между обозначенными генотипами и уровнями вазопрессоров в сыворотке крови. Подчеркнём, что представленные результаты отражают генетические особенности ЭАГ с ГЛЖ и без ГЛЖ именно в дагестанской популяции. Разумеется, иные патогенетические аспекты ЭАГ остались вне рамок полученных нами результатов, но подобное отсутствие лишь намечает направление дальнейших исследований генетики ЭАГ, которые, несомненно, обоснованны и перспективны.

Литература

- Ivanova SV, Vasyuk YA, Shkolnik EL, et al. Prediction role of the left ventricle remodelling in arterial hypertension patients. Russian journal of cardiology. 2016; 12: 39-44. doi:10.15829/1560-4071-2016-12-39-44. (In Russ.) Иванова С.В., Васюк Ю.А., Школьник Е.Л. и др. Прогностическое значение ремоделирования левого желудочка у больных артериальной гипертензией. Российский кардиологический журнал. 2016; 12: 39-44. doi:10.15829/1560-4071-2016-12-39-44.
- Lip GY, Felmeden DC, Hee FL, et al. Hypertensive heart disease. A complex syndrome or a hypertensive "cardiomyopathy"? Eur. Heart J. 2000; 21: 1653-65.
- Pardo Mindan FJ, Panizo A. Alterations in the extracellular matrix of the myocardium in essential hypertension. Eur. Heart J. 1993; 14: 12-4.
- Gudkova AY, Shlyakhto EV. Cellular mechanisms of myocardial hypertrophy in hypertrophic cardiomyopathy and essential hypertension. Arterial hypertension. 2008; 14 (4): 373-80. (In Russ.) Гудкова А.Я., Шляхто Е.В. Клеточные механизмы гипертрофии миокарда при гипертрофической кардиомиопатии и эссенциальной артериальной гипертензии. Артериальная гипертензия. 2008; 14 (4): 373-80.
- Geisterfer-Lowrance AA, Kass S, Tanigawa G, et al. A molecular basis for familial hypertrophic cardiomyopathy: a beta cardiac myosin heavy chain gene missense mutation. Cell. 1990; 62: 999-1006.
- Watkins H, McKenna WJ, Thierfelder L, et al. Mutations in the genes for cardiac troponin T and alpha-tropomyosin in hypertrophic cardiomyopathy. N. Engl. J. Med. 1995; 332:1058-64.
- Savinkova IA, Zavarin VV, Mazur IC. Genetic polymorphism in pathogenesis of arterial hypertension and left ventricular hypertrophy (review of literature) Vsevolgskiy medicinskiy gurnal. 2012; 10 (2): 16-21. (In Russ.) Савинкова Е.А., Заварин В.В., Мазур Е.С. Генетический полиморфизм в патогенезе артериальной гипертензии и гипертрофии левого желудочка (обзор литературы). Всевожский медицинский журнал 2012; 10 (2): 16-21.
- Delles C, Erdmann J, Jacobi J, et al. Aldosterone Synthase (CYP11B2) -344 C/T Polymorphism is Associated With Left Ventricular Structure in Human Arterial Hypertension. J. Am. Coll. Cardiol. 2001; 37 (3): 878-84.
- Kuznetsov T, Staessen JA, Thijs L, et al. Left Ventricular Mass in Relation to Genetic Variation in Angiotensin II Receptors, Renin System Genes, and Sodium Excretion. Circulation. 2004; 110 (17): 2644-50.
- Hingorani AD. Endothelial nitric oxide synthase polymorphisms and hypertension. Curr. Hypertens. Rep. 2003; 5 (1): 19-25.
- Jeng J.-R. Left ventricular mass, carotid wall thickness, and angiotensinogen gene polymorphism in patients with hypertension. Am. J. Hypertens. 1999; 12 (5): 443-50.
- Hyung-Ki Kim, Hwayoung Lee, Jun-Tack Kwon, et al. A polymorphism in *AGT* and *AGTR1* gene is associated with lead-related high blood pressure. Journal of the Renin-Angiotensin- Aldosterone System. 2015; 16 (4): 712-19.
- Kobalava GD, Kotovskaya UV, Chistiakov DA, et al. Clinico-genetics determinants of left ventricular hypertrophy in patients with arterial hypertension. Cardiology. 2001; 41 (7): 39-44. (In Russ.) Кобалава Ж.Д., Котовская Ю.В., Чистяков Д.А. и др. Клинико-генетические детерминанты гипертрофии левого желудочка у больных эссенциальной гипертензией. Кардиология. 2001; 41 (7): 39-44.
- Konradi AO, Rudomanov OG, Zacharov DV. Association of angiotensin-converting enzyme polymorphism with left ventricular hypertrophy in arterial hypertension, influence of sex. Problems of female health. 2008; 3 (3): 12-8. (In Russ.) Конради А.О., Рудоманов О.Г., Захаров Д.В. Ассоциация полиморфизма гена ангиотензин-превращающего фермента с гипертрофией левого желудочка при артериальной гипертензии, влияние пола. Проблемы женского здоровья. 2008; 3 (3): 12-8.
- Czarnecka D, Kawecka-Jaszcz K, Stolarz K, et al. Genetic factors in hypertension. Angiotensin-converting enzyme polymorphism. Kardiol Pol. 2004; 61 (7): 1-10.
- Iwai N, Ohmichi N, Nakamura Y, Kinoshita M. DD genotype of the angiotensin-converting enzyme gene is a risk factor for left ventricular hypertrophy. Circulation 1994; 90 (6): 2622-8.
- Saidov MZ, Mammaev SN, Abdullaev SN, et al. Renin-angiotensin-aldosterone system genes polymorphism and relation with vasopressors in essential hypertension among Dagestan inhabitants. Russian Journal of Cardiology. 2017; 4: 61-9. (In Russ.) Саидов М.З., Маммаев С.Н., Абдуллаев А.А. и др. Полиморфизмы генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и связь с вазопрессорами при эссенциальной артериальной гипертензии в дагестанской популяции. Российский кардиологический журнал. 2017; 4: 61-9. DOI: 10.15829/1560-4071-2017-4-61-69.
- Adebijoyi A, Akinosun O, Nwafor C, Falase A. Relationship between Plasma Aldosterone Levels and Left Ventricular Mass in Hypertensive Africans. International Journal of Hypertension; 2013, Article ID 762597, 6 pages http://dx.doi.org/10.1155/2013/762597.

АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА АНГИОТЕНЗИНОГЕНА (AGT, RS699) С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ И ЕЕ ФАКТОРАМИ РИСКА У ЖИТЕЛЕЙ ГОРНОЙ ШОРИИ

Мулерова Т.А.^{1,2}, Понасенко А.В.¹, Цепочкина А.В.¹, Кузьмина А.А.¹, Огарков М.Ю.^{1,2}

Цель. Изучить распространенность полиморфизма гена *AGT* и его ассоциации с риском развития артериальной гипертензии в этнических группах населения Горной Шории.

Материал и методы. Проведено клинико-эпидемиологическое исследование компактно проживающего населения в труднодоступных районах Горной Шории (п. Ортон, п. Усть-Кабырза) и поселке городского типа (п. Шерегеш). На основании поименных списков обследовано 1178 жителей указанных поселков. У 398 человек сплошным методом забрана кровь из кубитальной вены утром натощак для выполнения генотипирования. Выделение ДНК из крови проводилось методом фенол-хлороформной экстракции. Полиморфизм гена *AGT* (M235T, rs699) тестировали с помощью ПЦР.

Результаты. В целом в обеих этнических когортах распространенность генотипов гена *AGT* значимо не различалась. Однако среди мужчин были установлены национальные особенности в отношении генотипа C/C: в группе шорцев его частота (27,8%) была выше по сравнению с некоренными представителями (10,3%). В когорте шорцев у мужчин носителей генотипа T/C отношения шансов выявления нарушений углеводного обмена и артериальной гипертензии составили, соответственно, 2,45, 2,21; у женщин, носителей генотипа C/C риск развития дислипидемии оказался равен 3,37. Среди женщин некоренной национальности установлены ассоциации генотипа T/T с гиперхолестеринемией. Отношение шансов выявить повышенный уровень общего холестерина среди носителей гомозиготного аллеля T выше в 4,3 раза по сравнению с носителями генотипов T/C и C/C.

Заключение. Несмотря на отсутствие различий в распространенности генотипов гена *AGT*, выявлены различия ассоциативной связи с факторами риска артериальной гипертензии в зависимости от этнической принадлежности. В когорте шорцев генотип C/C ассоциировался с гипербетакхолестеринемией и дислипидемией, генотип T/C — с нарушениями углеводного обмена. В когорте некоренной национальности генотип T/T ассоциировался с дислипидемией.

Российский кардиологический журнал 2017, 10 (150): 85–92
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-85-92>

Ключевые слова: этнос, полиморфизм гена *AGT*, артериальная гипертензия.

¹ФГБНУ Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, Кемерово; ²НГИУВ — филиал ФГБОУ Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Министерства здравоохранения Российской Федерации, Новокузнецк, Россия.

Мулерова Т.А.* — к.м.н., с.н.с. лаборатории эпидемиологии ССЗ, Понасенко А.В. — к.м.н., зав. лабораторией геномной медицины, Цепочкина А.В. — м.н.с. лаборатории геномной медицины, Кузьмина А.А. — м.н.с. лаборатории исследования гомеостаза, Огарков М.Ю. — д.м.н., профессор, зав. кафедрой кардиологии.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
 mulerova-77@mail.ru

AG — артериальная гипертензия, АД — артериальное давление, АО — абдоминальное ожирение, ГТГ — гипертриглицеридемия, ГХС — гиперхолестеринемия, ДЛП — дислипидемия, ОТ — окружность талии.

Рукопись получена 26.04.2017

Рецензия получена 10.05.2017

Принята к публикации 17.05.2017

ASSOCIATIONS OF THE ANGIOTENSIN GENE POLYMORPHISM (AGT, RS699) WITH SYSTEMIC HYPERTENSION AND ITS RISK FACTORS IN GORNAYA SHORIA INHABITANTS

Mulerova T.A.^{1,2}, Ponasenko A.V.¹, Tsepokina A.V.¹, Kuzmina A.A.¹, Ogarkov M.Yu.^{1,2}

Aim. To assess the prevalence of polymorphism of the gene *AGT* and its relation with systemic hypertension risk in the ethnicities of Gornaya Shoria (Mountain Shoriya).

Material and methods. A clinical-epidemiological study conducted, of compactly inhabiting people of uneasily reachable areas of Gornaya Shoria (settlements Orton, Ust-Kabyrza) and city-like settlement Sheregesh. Based on the name lists, 1178 inhabitants included from the settlements. In 398 persons, blood was collected from cubital vein, fasting, in the morning for genotyping. Extraction of DNA from the blood was done with phenol-chloroform method. Polymorphism of *AGT* (M235T, rs699) gene was tested with PCR.

Results. In general, in both ethnicities, the prevalence of *AGT* did not differ significantly. However, among men there was national specifics found for the C/C genotype: in the Shortsy group its prevalence (27,8%) was higher comparing to non-native inhabitants (10,3%). In Shortsy male cohort the carriers of T/C had odds ratio for glucose metabolism and arterial hypertension at 2,45 and 2,21, respectively; in females with C/C carriage the risk of dyslipidemia was 3,37. Among females of non-native nationality there were associations found for T/T genotype with

hypercholesterolemia. The odds ratio for higher cholesterol among homozygotes T-allele was 4,3 times higher comparing to T/C and C/C.

Conclusion. Regardless the absence of differences in genotypes prevalences of *AGT*, there were differences revealed of the association of risk factors of arterial hypertension according to ethnicity. In Shortsy cohort the C/C genotype was associated with hyperbetacholesterolemia and dyslipidemia, and genotype T/C — with glucose metabolism. In non-native cohort T/T genotype was associated with dyslipidemia.

Russ J Cardiol 2017, 10 (150): 85–92
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-85-92>

Key words: ethnicity, gene *AGT* polymorphism, arterial hypertension.

¹Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo; ²NSIPI — branch of Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Health, Novokuznetsk, Russia.

В современной медицине активно изучается роль генетической регуляции и возможности передачи из поколения в поколение геномных маркеров, реализация эффектов которых опосредована образом жизни и влиянием окружающей среды. Перспективным является направление по изучению роли геномного наследования в развитии мультифакториальной патологии, к которой относится артериальная гипертензия (АГ). Наследственные факторы в развитии АГ могут играть значительную роль, поэтому в мировой практике научных исследований по фундаментальной медицине большое внимание уделяют молекулярно-генетическим методам анализа с идентификацией полиморфных участков с заменой одного нуклеотида на другой (однонуклеотидные замены, SNP — single nucleotide polymorphism) [1, 2]. Выявление генетических предикторов АГ могло бы способствовать созданию более совершенной системы профилактики данного заболевания.

Известно, что носительство отдельных аллелей полиморфных генов ренин-ангиотензиновой системы у человека ассоциируется с повышенным риском развития ряда мультифакториальных заболеваний, в том числе АГ [3-5]. Одним из значимых генов указанной системы является ген ангиотензиногена (*AGT*), который находится в локусе q42-43 первой хромосомы [6]. Ангиотензиноген вырабатывается в печени и является ранним предшественником ангиотензина II, играющего ключевую роль в регуляции артериального давления, почечной гемодинамики, водного и электролитного гомеостаза. В настоящее время описано несколько структурных полиморфизмов *AGT* среди которых функционально значимой является замена нуклеотида тимина (Т) на цитозин (С) в белок-кодирующем участке гена (с.803Т>С, rs699), что приводит к замене аминокислоты метионина на треонин в позиции 235 пептидной цепи ангиотензиногена (Met235Thr). За счет этой замены меняются свойства ангиотензиногена [7]. Проведенный мета-анализ исследований европейской популяции в количестве 45 267 человек показал, что уровень ангиотензиногена в плазме крови у представителей европеоидной расы выше на 11% при наличии аллеля Т в гомозиготном состоянии и на 5% в гетерозиготном, в отличие от лиц с полиморфизмом М235М *AGT*. У представителей монголоидной и негроидной рас такой закономерности ранее получено не было [8]. В другом исследовании показано, что носители минорного аллеля С rs699 *AGT* и лица с гомозиготным генотипом С/С наиболее предрасположены к АГ и заболеваниям, ассоциированным с атеросклерозом [9]. Однако результаты исследований отличаются противоречивостью выводов в зависимости от расовых и популяционных особенностей. В связи с этим, в нашем исследовании на примере коренного малочисленного народа юга Западной Сибири (шор-

цев) изучена распространенность полиморфных вариантов гена-кандидата АГ *AGT* и его ассоциации с данным заболеванием и факторами сердечно-сосудистого риска с учетом этнической принадлежности.

Цель исследования: изучить распределение частот аллелей варибельного сайта rs699 *AGT* (с.803Т>С) и определить наличие ассоциаций между носительством определенных генотипов и риском развития АГ в этнических группах населения Горной Шории.

Материал и методы

Проведено клинико-эпидемиологическое исследование компактно проживающего населения в труднодоступных районах Горной Шории (п. Ортон, п. Усть-Кабырза) и поселке городского типа (п. Шерегеш). Данные регионы среднегорья расположены на юге Западной Сибири. Предки шорцев занимались охотой, рыболовством, подсобным скотоводством, примитивным ручным земледелием, собирательством. В последние годы в связи с урбанизацией, изменением образа жизни и доступностью не характерных для отдельных территорий продуктов питания значительно изменились устоявшиеся традиции в социальном и пищевом поведении, что могло привести к срыву складывающихся веками на уровне генотипа популяции метаболических и адаптационных механизмов у народностей изолированного проживания.

Сплошным методом на основании поименных списков обследовано 1178 жителей указанных поселков, из них 720 человек — представители коренной национальности (шорцы), 458 человек — представители некоренной национальности (90% из них русские). Выборка состояла из взрослого населения, включая лиц 18 лет и старше, из них 33,5% — мужчины, 66,5% — женщины. Средний возраст мужчин составил $47,8 \pm 1,0$ лет у шорцев и $46,9 \pm 1,5$ лет у некоренных жителей ($p=0,595$); женщин — $48,5 \pm 0,7$ лет и $50,7 \pm 0,9$ лет ($p=0,054$), соответственно.

Протокол исследования был одобрен Этическими комитетами всех участвующих клинических центров. До включения в исследование у всех участников было получено письменное информированное согласие. Осмотры специалистов (кардиолога, эндокринолога и терапевта) проходили в условиях экспедиции на базе сельских фельдшерско-акушерских пунктов. Измерение артериального давления (АД) проводилось по методике ВОЗ/РМОАГ (2010г). Диагноз АГ выставлялся в соответствии с рекомендациями ВНОК/РМОАГ (2010г): систолическое АД больше или равно 140 мм рт.ст., диастолическое АД больше или равно 90 мм рт.ст. Кроме этого, диагноз АГ устанавливался независимо от уровня АД на фоне приема антигипертензивных препаратов.

Антропометрическое исследование включало измерение роста, веса, окружности талии (ОТ). Рассчитывали индекс Кетле. Согласно классификации

ВОЗ (1997), ожирение определяли при ИК $30,0 \text{ кг/м}^2$ и более. Критериями абдоминального ожирения (АО) считали окружность талии (ОТ) выше 94 см у мужчин и свыше 80 см у женщин.

Кровь для биохимических исследований брали из кубитальной вены утром натощак; ее центрифугировали, сыворотку замораживали и хранили при отрицательной температуре. В лабораторию материал доставляли в контейнерах с жидким азотом, не допуская размораживания. Содержание общего холестерина (ХС), холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛВП), триглицеридов (ТГ), холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛНП) в сыворотке крови оценивали с помощью стандартных тест-систем фирмы Thermo Fisher Scientific (Финляндия). Повышение уровня липидов оценивали в соответствии с европейскими рекомендациями 2012 года. В группу респондентов с нарушениями углеводного обмена (УО) включали лиц с нарушенной гликемией натощак (глюкоза плазмы натощак $6,1\text{--}6,9 \text{ ммоль/л}$), лиц с нарушением толерантности к глюкозе (глюкоза плазмы натощак $<7,0 \text{ ммоль/л}$ и через 2 часа после перорального глюкозотолерантного теста $\geq 7,8 \text{ ммоль/л}$ и $<11,1 \text{ ммоль/л}$), лиц с сахарным диабетом 2-го типа (глюкоза плазмы натощак $\geq 7,0 \text{ ммоль/л}$ или через 2 часа после перорального глюкозотолерантного теста $\geq 11,1 \text{ ммоль/л}$ или случайного определения $\geq 11,1 \text{ ммоль/л}$).

У 398 человек сплошным методом забрана кровь из кубитальной вены в пробирки с антикоагулянтом К3ЕДТА утром натощак для выполнения генотипирования. В лабораторию материал доставляли в сумках-холодильниках. Выделение ДНК из крови проводилась методом фенол-хлороформной экстракции. Аллельные варианты гена *AGT* в варибельном сайте rs699 тестировали с помощью полимеразно-цепной реакции с учетом результатов в режиме реального времени (РТ-ПЦР). Генотипирование методом РТ-ПЦР осуществляли в 96-луночном формате TaqMan по протоколу производителя (Applied Biosystems, США) на амплификаторе RT-PCR ViiA7 (Applied Biosystems, США). Для контроля качества 10% случайно выбранных образцов были подвергнуты повторному генотипированию.

Статистическая обработка проводилась с помощью программы "STATISTICA 6.1" (StatSoft Inc., США). Для характеристики признаков рассчитывали среднюю арифметическую величину (M) и ошибку средней (m), удельный вес вариантов. При оценке статистической значимости различий качественных показателей строились таблицы сопряженности с последующим расчетом критерия χ^2 Пирсона, при доле ожидаемых чисел в таблицах менее пяти использовался критерий Фишера. Относительный риск (OR — odds ratio) заболевания по конкретному генотипу вычисляли как отношение шансов (ОШ). Под-

считывали ОШ для оценки ассоциации между определенными генотипами и риском развития заболевания по стандартной формуле:

$$OR = a/b \times d/c,$$

где a и b — количество больных, имеющих и не имеющих мутантный генотип, соответственно, d и c — количество человек в контрольной группе, имеющих и не имеющих мутантный генотип. ОШ указан с 95% доверительным интервалом (ДИ). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Частоты генотипов rs699 *AGT* в обеих этнических группах Горной Шории находились в равновесии, согласно распределению Харди-Вайнберга: в когорте шорцев составили — Т/Т (35,8%), Т/С (44,6%), С/С (19,6%), в когорте некоренных представителей — Т/Т (25,8%, $p=0,060$), Т/С (47,7%, $p=0,596$), С/С (26,5%, $p=0,179$). У мужчин выявлена тенденция к меньшей распространенности часто встречаемого генотипа Т/Т среди коренного этноса (25,4%) по сравнению с некоренным (41,0%, $p=0,060$), тогда как частота гомозиготного генотипа по редкому аллелю С была выше среди первых: 27,8% против 10,3% ($p=0,024$). Распространенность гетерозиготного генотипа Т/С составила 46,8% среди шорцев и 48,7% среди некоренного населения ($p=0,836$). У женщин статистически значимых различий в зависимости от этнической принадлежности выявлено не было: частота генотипа Т/Т составила 26,1% среди шорцев против 32,1% среди некоренных представительниц ($p=0,393$); генотипа Т/С — 48,3% против 41,5% ($p=0,382$); генотипа С/С — 25,6% против 26,4% ($p=0,900$), соответственно.

Нами проанализированы возможные ассоциации генотипов *AGT* с АГ и факторами сердечно-сосудистого риска. В таблице 1 представлены результаты средних значений факторов риска и АД у носителей трех генотипов гена-кандидата АГ *AGT* в обеих национальных группах. Этнические особенности были установлены для ТГ, ИК и ОТ. Средние показатели ТГ и ОТ оказались выше среди обследованных всех генотипов данного гена среди некоренного населения по сравнению с коренным. Аналогичная закономерность получена и в отношении ИК среди лиц с генотипами Т/Т и С/С. Выявлены статистически значимые различия между генотипами Т/Т, Т/С и С/С для ХС-ЛНП, САД и ДАД среди коренного этноса. В когорте шорцев для носителей гомозиготного генотипа С/С характерен более высокий показатель ХС-ЛНП ($3,42 \pm 0,19 \text{ ммоль/л}$), чем для обследованных с гетерозиготным генотипом Т/С ($3,02 \pm 0,09 \text{ ммоль/л}$, $p=0,031$) и для лиц с гомозиготным генотипом Т/Т ($3,00 \pm 0,14 \text{ ммоль/л}$, $p=0,051$). У носителей минорного аллеля С в гомозиготном состоянии оказались более высокие значения САД и ДАД ($133,9 \pm 3,0 \text{ мм рт.ст.}$ и $83,1 \pm 1,4 \text{ мм рт.ст.}$) по сравнению с лицами,

Таблица 1

Средние значения факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний и АД в зависимости от генотипов гена *AGT* в обеих этнических группах

Признаки	Генотипы	Некоренные жители n=92		Коренные жители n=306		P (между этносами)			
		Средние значения (M±m)	P (между генотипами)	Средние значения (M±m)	P (между генотипами)				
ОХС, ммоль/л	T/T	5,37±0,21	0,101	0,129	5,33±0,16	0,206	0,788	0,886	
	T/C	4,91±0,19	0,838		5,10±0,10			0,327	0,369
	C/C	4,84±0,25			5,27±0,14				0,187
ТГ, ммоль/л	T/T	1,98±0,20	0,819	0,351	1,29±0,15	0,803	0,926	0,012	
	T/C	1,90±0,20	0,243		1,33±0,09			0,719	0,005
	C/C	2,40±0,55			1,27±0,10				0,001
ХС-ЛНП, ммоль/л	T/T	3,02±0,21	0,121	0,632	3,00±0,14	0,934	0,051	0,944	
	T/C	2,58±0,18	0,462		3,02±0,09			0,031	0,070
	C/C	2,85±0,33			3,42±0,19				0,299
ХС-ЛВП, ммоль/л	T/T	1,27±0,15	0,965	0,712	1,50±0,07	0,051	0,571	0,133	
	T/C	1,26±0,09	0,737		1,35±0,04			0,190	0,362
	C/C	1,19±0,17			1,45±0,06				0,151
ИК, кг/м ²	T/T	28,40±1,11	0,103	0,746	24,63±0,66	0,476	0,662	0,003	
	T/C	24,95±1,77	0,093		24,10±0,36			0,224	0,461
	C/C	29,25±1,53			25,00±0,71				0,012
ОТ, см	T/T	90,42±2,84	0,148	0,984	82,16±1,71	0,301	0,642	0,012	
	T/C	85,15±2,46	0,238		80,32±0,91			0,609	0,026
	C/C	90,33±3,01			81,22±1,48				0,009
Глюкоза, ммоль/л	T/T	5,27±0,16	0,425	0,074	5,25±0,14	0,193	0,352	0,942	
	T/C	5,47±0,18	0,224		5,48±0,11			0,787	0,951
	C/C	5,85±0,30			5,44±0,13				0,203
САД, мм рт.ст.	T/T	133,2±3,3	0,502	0,891	125,5±2,4	0,071	0,029	0,075	
	T/C	130,1±3,2	0,679		131,7±2,0			0,498	0,703
	C/C	132,4±4,7			133,9±3,0				0,821
ДАД, мм рт.ст.	T/T	83,1±1,8	0,481	0,649	79,3±1,3	0,437	0,049	0,113	
	T/C	81,1±2,0	0,292		80,6±1,0			0,142	0,798
	C/C	84,6±2,2			83,1±1,4				0,634

Сокращения: ОХС — общий холестерин, ТГ — триглицериды, ХС-ЛНП — холестерин липопротеинов низкой плотности, ХС-ЛВП — холестерин липопротеинов высокой плотности, ИК — индекс Кетле, ОТ — окружность талии, САД — систолическое артериальное давление, ДАД — диастолическое артериальное давление.

имеющими гомозиготный генотип T/T (125,5±2,4 мм рт.ст., p=0,029 и 79,3±1,3 мм рт.ст., p=0,049), соответственно.

Установлены этнически обусловленные особенности распределения частот встречаемости аллелей гена-кандидата *AGT* среди лиц с гипертриглицеридемией (ГТГ), гипербетакхолестеринемией и в целом дислипидемией (ДЛП). Частота гомозиготного генотипа T/T в группе шорцев с перечисленными нарушениями липидного обмена была ниже, чем в группе некоренных представителей: 17,3% и 40,0% (p=0,015); 23,7% и 50,0% (p=0,017); 25,5% и 42,1% (p=0,015), соответственно. В таблице 2 представлены результаты ассоциации гена *AGT* с факторами сердечно-сосудистого риска.

В когорте коренного этноса частота гомозиготного генотипа C/C у пациентов с гипербетакхолесте-

ринемией составила 33,0%, у обследованных с целевым уровнем ХС-ЛНП — 21,0% (p=0,047). Отношение шансов выявить данное нарушение липидного обмена среди носителей минорного аллеля С в гомозиготном состоянии выше в 1,85 раза по сравнению с носителями генотипов T/C и T/T (ОШ =1,85; 95% ДИ (1,00-3,41), p=0,047). Частота гетерозиготного генотипа T/C у лиц с повышенным показателем ХС-ЛНП была установлена в 43,3% случаев, в контроле — в 52,9% случаев (ОШ =0,68; 95% ДИ (0,40-1,16), p=0,158). Частота гомозиготного генотипа T/T у обследованных с гипербетакхолестеринемией составила 23,7%, в контроле — 26,1% (ОШ =0,88; 95% ДИ (0,47-1,64), p=0,693). В когорте некоренного этноса ассоциации между полиморфизмом гена *AGT* и данным нарушением липидного обмена установлено не было. Распространенность генотипа T/T у лиц

Таблица 2

Ассоциации гена-кандидата АГ *AGT* (rs699) с факторами сердечно-сосудистого риска

Генотипы	Некоренные жители					Коренные жители					P (между этносами)
	ФР+ (%)	ФР- (%)	P	ОШ	95% ДИ	ФР+ (%)	ФР- (%)	P	ОШ	95% ДИ	
Гиперхолестеринемия											
Т/Т	40,9	27,8	0,221	1,80	0,70-4,63	27,2	24,1	0,545	1,18	0,69-1,99	0,078
Т/С	40,9	50,0	0,416	0,69	0,28-1,68	43,8	51,1	0,211	0,75	0,47-1,18	0,729
С/С	18,2	22,2	0,653	0,78	0,26-2,33	29,0	24,8	0,419	1,24	0,74-2,08	0,150
Гипертриглицеридемия											
Т/Т	40,0	29,3	0,310	1,61	0,64-4,06	17,3	27,6	0,125	0,55	0,25-1,19	0,015
Т/С	40,0	48,8	0,427	0,70	0,29-1,69	50,0	46,5	0,647	1,15	0,63-2,09	0,340
С/С	20,0	21,9	0,829	0,89	0,30-2,59	32,7	25,9	0,319	1,39	0,73-2,65	0,175
Гипербетахолестеринемия											
Т/Т	50,0	36,3	0,372	1,75	0,51-6,01	23,7	26,1	0,693	0,88	0,47-1,64	0,017
Т/С	35,0	45,5	0,491	0,65	0,19-2,24	43,3	52,9	0,158	0,68	0,40-1,16	0,493
С/С	15,0	18,2	0,556	0,79	0,15-4,08	33,0	21,0	0,047	1,85	1,00-3,41	0,087
Гипоальфахолестеринемия											
Т/Т	46,7	37,5	0,571	1,46	0,39-5,40	21,7	26,5	0,511	0,77	0,35-1,68	0,062
Т/С	33,3	45,8	0,333	0,59	0,15-2,26	52,2	48,8	0,685	1,14	0,60-2,20	0,166
С/С	20,0	16,7	0,556	1,25	0,24-6,57	26,1	24,7	0,847	1,08	0,51-2,27	0,461
Дислипидемия											
Т/Т	42,1	17,4	0,030	4,18	1,28-13,7	25,5	26,0	0,922	0,97	0,56-1,70	0,015
Т/С	38,6	60,9	0,070	0,40	0,15-1,09	42,9	55,2	0,047	0,61	0,37-0,99	0,566
С/С	19,3	21,7	0,514	0,86	0,26-2,83	31,6	18,8	0,020	2,00	1,10-3,63	0,070
Ожирение											
Т/Т	33,3	37,1	0,724	0,85	0,34-2,12	29,6	25,2	0,541	1,25	0,62-2,52	0,730
Т/С	40,0	46,8	0,540	0,76	0,31-1,84	40,9	48,9	0,329	0,72	0,38-1,39	0,938
С/С	26,7	16,1	0,232	1,89	0,66-5,43	29,5	25,9	0,617	1,20	0,59-2,42	0,787
Абдоминальное ожирение											
Т/Т	40,5	32,0	0,398	1,44	0,61-3,40	26,7	25,5	0,817	1,07	0,61-1,88	0,116
Т/С	35,7	52,0	0,117	0,51	0,22-1,19	46,5	48,2	0,793	0,94	0,57-1,54	0,247
С/С	23,8	16,0	0,347	1,64	0,58-4,63	26,7	26,3	0,946	1,02	0,58-1,79	0,722
Нарушения углеводного обмена											
Т/Т	28,0	40,0	0,301	0,58	0,21-1,63	19,1	26,6	0,211	0,65	0,33-1,28	0,355
Т/С	52,0	41,8	0,396	1,51	0,58-3,90	60,3	43,9	0,019	1,93	1,11-3,38	0,472
С/С	20,0	18,2	0,847	1,13	0,34-3,72	20,6	29,5	0,154	0,62	0,32-1,20	0,950

с повышенным уровнем ХС-ЛНП составила 50,0%, у обследованных без гипербетахолестеринемии — 36,3% (ОШ =1,75; 95% ДИ (0,51-6,01), $p=0,372$), генотипа Т/С — 35,0% против 45,5% (ОШ =0,65; 95% ДИ (0,19-2,24), $p=0,491$), генотипа С/С — 15,0% против 18,2% (ОШ =0,79; 95% ДИ (0,15-4,08), $p=0,556$), соответственно.

У шорцев среди пациентов с ДЛП преобладал генотип С/С в локусе rs699 гена *AGT* по сравнению с лицами без нарушения липидного обмена: 31,6% против 18,8% (ОШ =2,00; 95% ДИ (1,10-3,63), $p=0,020$). Напротив, среди носителей гетерозиготного генотипа Т/С выявлено снижение риска развития ДЛП: 42,9% против 55,2% (ОШ =0,61; 95% ДИ (0,37-0,99), $p=0,047$). Распространенность генотипа Т/Т у обследованных с нарушениями липидного обмена составила 25,5%, в контроле — 26,0% (ОШ =0,97; 95%

ДИ (0,56-1,70), $p=0,922$). У представителей некоренной национальности получены другие результаты: гомозиготный генотип Т/Т ассоциировался с ДЛП. Среди респондентов с нарушениями липидного обмена статистически значимо преобладал генотип Т/Т в локусе rs699 гена *AGT* по сравнению с лицами без них: 42,1% против 17,4% (ОШ =4,18; 95% ДИ (1,28-13,68), $p=0,030$). Частота генотипа Т/С у обследованных с ДЛП составила 38,6%, в группе контроля — 60,9% (ОШ =0,40; 95% ДИ (0,15-1,09), $p=0,070$), генотипа С/С — 19,3% против 21,7% (ОШ =0,86; 95% ДИ (0,26-2,83), $p=0,514$), соответственно.

В когорте коренной национальности доля обследованных с гетерозиготным генотипом Т/С у больных с нарушениями углеводного обмена была выше по сравнению с лицами без него и составила 60,3% против 43,9% ($p=0,019$). Отношение шансов выявить

данное метаболическое нарушение среди носителей генотипа Т/С увеличивалось в 1,93 раза по сравнению с носителями генотипов Т/Т и С/С (ОШ =1,93; 95% ДИ (1,11-3,38), $p=0,019$). Распространенность гомозиготного генотипа Т/Т у лиц с повышенным уровнем глюкозы была установлена в 19,1% случаев, в контроле — в 26,6% случаев (ОШ =0,65; 95% ДИ (0,33-1,28), $p=0,211$). Частота гомозиготного генотипа С/С у первой группы составила 20,6%, второй — 29,5% (ОШ =0,62; 95% ДИ (0,32-1,20), $p=0,154$). В когорте некоренного этноса ассоциации между полиморфизмом гена *AGT* и данным метаболическим нарушением установлено не было. Распространенность генотипа Т/Т у лиц с повышенным уровнем глюкозы составила 28,0%, у обследованных с целевым уровнем — 40,0% (ОШ =0,58; 95% ДИ (0,21-1,63), $p=0,301$), генотипа Т/С — 52,0% против 41,8% (ОШ =1,51; 95% ДИ (0,58-3,90), $p=0,396$), генотипа С/С — 20,0% против 18,2% (ОШ =1,13; 95% ДИ (0,34-3,72), $p=0,847$), соответственно.

Взаимосвязи между полиморфизмом гена *AGT* и АГ в обеих этнических группах выявлено не было. В группе шорцев распространённость гомозиготного генотипа Т/Т у больных АГ составила 22,2%, у лиц без данного заболевания — 28,0% (ОШ =0,73; 95% ДИ (0,43-1,26), $p=0,258$), гетерозиготного генотипа Т/С — 48,7% и 47,1% (ОШ =1,07; 95% ДИ (0,67-1,69), $p=0,782$), гомозиготного генотипа С/С — 29,1% и 24,9% (ОШ =1,24; 95% ДИ (0,74-2,08), $p=0,419$); в группе некоренной национальности — 35,5% и 36,1% (ОШ =0,98; 95% ДИ (0,40-2,40), $p=0,956$), 41,9% и 45,9% (ОШ =0,85; 95% ДИ (0,36-2,04), $p=0,718$), 22,6% и 18,0% (ОШ =1,33; 95% ДИ (0,46-3,85), $p=0,603$), соответственно.

При разделении обеих этнических групп по половому признаку были получены следующие ассоциации с факторами сердечно-сосудистого риска. В когорте шорцев среди мужчин выявлена тенденция взаимосвязи гетерозиготного генотипа Т/С с нарушениями углеводного обмена: частота данного генотипа у пациентов с указанными метаболическими изменениями составила 62,5%, в группе контроля — 40,5% (ОШ =2,45; 95% ДИ (1,02-6,21), $p=0,054$). Среди женщин коренной национальности установлено повышение шанса развития ДЛП у носителей гомозиготного генотипа С/С в 3,4 раза по сравнению с носителями двух других генотипов: 32,0% против 12,2% (ОШ =3,37; 95% ДИ (1,33-8,58), $p=0,008$) и снижение риска развития липидных нарушений у лиц с гетерозиготным генотипом Т/С: 41,6% против 65,3% (ОШ =0,37; 95% ДИ (0,19-0,75), $p=0,005$). В когорте некоренного этноса среди мужчин частота генотипа Т/С у пациентов с ДЛП ниже (39,1%), чем у обследованных без нее (77,8%) (ОШ =0,18; 95% ДИ (0,03-1,09), $p=0,049$). Среди женщин некоренной национальности установлены ассоциации генотипа

Т/Т с гиперхолестеринемией (ГХС). Отношение шансов выявить повышенный уровень ОХС среди носителей гомозиготного аллеля Т выше в 4,3 раза по сравнению с носителями генотипов Т/С и С/С. Частота генотипа Т/Т у пациентов с ГХС составила 44,8%, у лиц без нее — 15,8% (ОШ =4,33; 95% ДИ (1,03-18,18), $p=0,036$). Риск развития АО ниже среди респондентов с гетерозиготным генотипом Т/С, чем среди обследованных с двумя другими генотипами: 30,0% против 56,5% (ОШ =0,33; 95% ДИ (0,11-0,99), $p=0,052$). Кроме этого, для женщин были установлены этнические особенности распространенности аллельных вариантов гена-кандидата АГ *AGT*. Частота встречаемости гомозиготного генотипа Т/Т при наличии ГТГ и гипербетакхолестеринемии оказалась ниже среди представительниц коренного этноса по сравнению с некоренным: 13,8% против 41,7% ($p=0,022$) и 22,7% против 54,6% ($p=0,028$), соответственно.

В зависимости от половых особенностей были установлены ассоциации вариантных аллелей гена *AGT* с АГ. Так, среди мужчин-шорцев с данным заболеванием статистически значимо преобладал гетерозиготный генотип Т/С *rs699 AGT* по сравнению с лицами без АГ: 60,5% против 40,9% (ОШ =2,21; 95% ДИ (1,02-4,82), $p=0,043$). Напротив, среди носителей гомозиготного генотипа Т/Т выявлено снижение риска развития АГ: 10,5% против 31,8% (ОШ =0,25; 95% ДИ (0,08-0,78), $p=0,008$). Частота генотипа С/С у обследованных с повышенным уровнем АД составила 29,0%, в контроле — 27,3% (ОШ =1,09; 95% ДИ (0,47-2,53), $p=0,847$). Кроме этого, для мужчин были установлены этнические особенности распределения аллельных вариантов данного гена. Распространенность гомозиготного генотипа Т/Т при наличии АГ оказалась ниже среди представителей коренного этноса по сравнению с некоренным: 10,5% против 40,0% ($p=0,047$).

Таким образом, в результате проведенного исследования выявлены отличия в распределении частот встречаемости генотипов сайта *rs699 AGT* среди больных с нарушениями углеводного обмена и АГ и лицами без перечисленных заболеваний у мужчин коренной национальности; среди пациентов с ДЛП и обследованными без нарушений липидного обмена у женщин коренного этноса; среди больных с ГХС и участниками с целевым уровнем ОХС у женщин некоренного этноса.

Обсуждение

Представители коренных народов отличаются как физиологическими механизмами адаптации, так и морфофункциональными особенностями. Многовековое проживание в привычных условиях среды обитания определило не только их внешний облик и культурологические черты, но и особенности жиз-

недеятельности организма. Урбанизация, изменение образа жизни и доступность не характерных для отдельных территорий продуктов питания зачастую негативно влияют на устоявшиеся традиции в социальном и пищевом поведении, что приводит к срыву складывающихся веками метаболических и адаптационных механизмов у народностей изолированного проживания. Установление генетических предикторов формирования АГ и её факторов риска, на примере коренного населения Горной Шории (шорцев), дает возможность понять роль наследственной составляющей в совокупности с влиянием окружающей среды и, соответственно, развить одно из направлений персонализированной медицины.

При обследовании населения Горной Шории установлена ассоциация гетерозиготного генотипа Т/С гена *AGT* с АГ у мужчин коренной этнической группы. В когорте шорцев генотипы С/С и Т/С коррелируют с различными метаболическими проявлениями (нарушениями липидного и углеводного обменов), в когорте некоренной национальности аналогичную корреляцию демонстрирует генотип Т/Т. Взаимосвязь генотипа С/С с различными метаболическими нарушениями (ожирением и дислипидемией) демонстрируют исследования других популяций [10–12].

Вместе с тем, изучение пациентов юга Индии продемонстрировало взаимосвязь варианта М235Т с повышенным уровнем АД среди женщин [13]. Исследованиями, проведенными Муженя Д. В., и др. (2010) выявлена аналогичная взаимосвязь полиморфизма *AGT* с риском развития сердечно-сосудистых заболеваний у жителей Республики Адыгея. У 84,0% обследованных кардиологических больных и 63,6% лиц с наследственной отягощенностью по АГ обнаружена гетерозиготная Met235Thr аллель. Все больные, гетерозиготные по 235 позиции аминокислоты, имели различные варианты ишемической болезни сердца (от нарушений ритма до инфаркта миокарда), сопровождавшиеся повышенным уровнем АД [14]. В работе Hu DC, et al. (2014) установлены схожие закономерности: именно гетерозиготный генотип ТС взаимосвязан с АГ [15].

Литература

1. Fernández-Rhodes L, Hodonsky CJ, Graff M, et al. Comparison of 2 models for gene-environment interactions: an example of simulated gene-medication interactions on systolic blood pressure in family-based data. *BMC Proc* 2016; 10 (Suppl 7): 371-77.
2. Ioannidis JP. Genetic associations: false or true? *Trends Mol Med* 2003; 9 (4): 135-38.
3. Harrap S, Scurrah K, Lamantia A, et al. OS 08-04 Epistatic and sex-dependent association analyses of genes of the renin-angiotensin-aldosterone system and blood pressure in families. *J Hypertens* 2016; 34 (Suppl 1): e68-e69.
4. Bonfim-Silva R, Guimarães LO, Souza Santos J, et al. Case-control association study of polymorphisms in the angiotensinogen and angiotensin-converting enzyme genes and coronary artery disease and systemic artery hypertension in African-Brazilians and Caucasian-Brazilians. *J Genet* 2016; 95 (1): 63-9.
5. Tabei SM, Nariman A, Daliri K, et al. Simple renal cysts and hypertension are associated with angiotensinogen (AGT) gene variant in Shiraz population (Iran). *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2015; 16 (2): 409-14.
6. Dickson ME, Sigmund CD. Genetic basis of hypertension: revisiting angiotensinogen. *Hypertension* 2007; 48: 14-20.
7. Wang QS, Li YG, Chen XD, et al. Angiotensinogen polymorphisms and acquired atrial fibrillation in Chinese. *J Electrocardiol* 2010; 43 (4): 373-77.
8. Sethi AA, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A. Angiotensinogen gene polymorphism, plasma angiotensinogen, and risk of hypertension and ischemic heart disease: a metaanalysis. *Arterioscler Tromb Vasc Biol* 2003; 7 (23): 1269-75.
9. Skvortsova VI, Limborskaya SA, Slominskiy PA. Genetic aspects of ischemic stroke. *Russian Medical Journal* 2006; 5: 28-31. (in Russ.) Скворцова В. И., Лимборская С. А., Сломинский П. А. Генетические аспекты ишемического инсульта. *Российский медицинский журнал* 2006; 5: 28-31.
10. Procopciuc LM, Sitar-Tăut A, Pop D, et al. Renin angiotensin system polymorphisms in patients with metabolic syndrome (MetS). *Eur J Intern Med* 2010; 21 (5): 414-18.
11. Thomas GN, Tomlinson B, Chan JC, et al. Renin-angiotensin system gene polymorphisms, blood pressure, dyslipidemia, and diabetes in Hong Kong Chinese: a significant association of the ACE insertion/deletion polymorphism with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2001; 24 (2): 356-61.
12. Fernández-Arcás N, Dieguez-Lucena JL, Muñoz-Morán E, et al. Both all els of the M235T polymorphism of the angiotensinogen gene can be a risk factor for myocardial infarction *Clin Genet* 2001; 60 (1): 52-7.

Мета-анализ данных китайской этнической группы выявил клинически значимую ассоциацию АГ с генотипом С/С гена *AGT* (OR = 1,54; p=0,002) [16, 17]. Установлена корреляция генотипа СС с данным заболеванием в популяции Саудовской Аравии [18]. У народов Монголии получена противоположная взаимосвязь генотипа Т/Т с риском развития АГ [19].

В европейской популяции М235Т полиморфизм *AGT* определяет прогноз течения и лечения АГ и ее осложнений менее благоприятным [20]. Результаты работы Kolovou V, et al. (2015) продемонстрировали значительные различия в распределении генотипов и аллелей варианта М235Т между гипертониками и нормотониками [21]. В то же время, при обследовании популяции европейского происхождения из Новой Зеландии было обнаружено, что данная мутация является независимым фактором, не связанным с риском развития АГ. Не выявлена корреляция между данным полиморфизмом и повышенным уровнем АД у американских негров [22]. Исследования Amrani A, et al. (2015) и Meroufel DN, et al. (2014) также не установили ассоциации гена *AGT* и АГ [23, 24].

Заключение

Анализ распространенности генотипов гена *AGT* установил этнические особенности в отношении генотипа С/С среди мужчин: в группе шорцев его частота была выше по сравнению с некоренными представителями.

Определены половые особенности: генотип Т/С взаимосвязан с нарушениями углеводного обмена и АГ у мужчин-шорцев, генотип С/С — с ДЛП у женщин-шорцев, генотип Т/Т — с ГХС у женщин некоренного этноса.

В когорте шорцев генотип С/С ассоциировался с гипербетохолестеринемией и ДЛП, генотип Т/С — с нарушениями углеводного обмена.

В когорте некоренной национальности генотип Т/Т ассоциировался с ДЛП.

13. Dhanachandra Singh Kh, Jajodia A, Kaur H, et al. Gender specific association of RAS gene polymorphism with essential hypertension: a case-control study. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 538-53.
14. Muzhenya DV, Ashkanova TM, Kalakutok KB, et al. Met235Thr association of polymorphism of a angiotensinogen gene (AGT) and A1166C allele of the receptor of I type of angiotensinogen-2 (AGT2 RI) with cardiovascular diseases of the population of the Republic of Adyghya. *Bulletin of the Adyge State university*. 2010; 3 (67): 125-34. (In Russ.) Муженя Д. В., Ашканова Т. М., Калакуток К. Б. и др. Ассоциация Met235Thr полиморфизма гена ангиотензиногена (AGT) и A1166C аллели гена рецептора I типа ангиотензиногена-2 (AGT2R1) с сердечно-сосудистыми заболеваниями у жителей Республики Адыгея. *Вестник Адыгейского государственного университета* 2010; 3 (67): 125-34.
15. Hu DC, Zhao XL, Shao JC, et al. Interaction of six candidate genes in essential hypertension. *Genet Mol Res* 2014; 13 (4): 8385-95.
16. Ji LD, Zhang LN, Shen P, et al. Association of angiotensinogen gene M235T and angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphisms with essential hypertension in Han Chinese population: a meta-analysis 2010; 3 (28): 419-28.
17. Li H, Du Z, Zhang L, et al. The relationship between angiotensinogen gene polymorphisms and essential hypertension in a Northern Han Chinese population. *Angiology* 2014; 65 (7): 614-19.
18. Al-Najai M, Muiya P, Tahir AI, et al. Association of the angiotensinogen gene polymorphism with atherosclerosis and its risk traits in the Saudi population. *BMC Cardiovasc Disord* 2013; 13: 17.
19. Gui-yan W, Yan-hua W, Qun X, et al. Associations between RAS Gene polymorphisms, environmental factors and hypertension in Mongolian people. *Eur J Epidemiol* 2006; 21 (4): 287-92.
20. Sethi AA, Nordestgaard BG, Grønholdt ML, et al. Angiotensinogen single nucleotide polymorphisms, elevated blood pressure, and risk of cardiovascular disease. *Hypertension* 2003; 41 (6): 1202-11.
21. Kolovou V, Lagou E, Mihas C, et al. Angiotensinogen (AGT) M235T, AGT T174M and Angiotensin-1-Converting Enzyme (ACE) I/D Gene Polymorphisms in Essential Hypertension: Effects on Ramipril Efficacy. *Open Cardiovasc Med J* 2015; 9: 118-26.
22. Rotimi C, Puras A, Cooper R, et al. Polymorphisms of renin-angiotensin genes among Nigerians, Jamaicans, and African Americans. *Hypertension* 1996; 27 (3 Pt 2): 558-63.
23. Amrani A, Baba Hamed MB, Mesli Talebbendiab F. Association study between some renin-angiotensin system gene variants and essential hypertension in a sample of Algerian population: case control study. *Ann Biol Clin* 2015; 73 (5): 557-63.
24. Meroufel DN, Médiène-Benchekor S, Dumont J, et al. A study on the polymorphisms of the renin-angiotensin system pathway genes for their effect on blood pressure levels in males from Algeria. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2014; 15 (1): 1-6.

БОЛЕЗНЬ ДАНОНА: РЕДКО ВЫЯВЛЯЕМОЕ СИСТЕМНОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ С *LAMP2*-КАРДИОМИОПАТИЕЙ

Вайханская Т.Г.¹, Сивицкая Л.Н.², Даниленко Н.Г.², Сидоренко И.В.¹, Давыденко О.Г.²

Болезнь Данона (БД) является редкой и сложной для диагностики патологией с мультисистемными клиническими проявлениями, что требует комплексного взаимодействия врачей нескольких специальностей, в т.ч. кардиологов, генетиков, неврологов, офтальмологов и реабилитологов. Заболевание характеризуется классической триадой признаков: фенотипом гипертрофической кардиомиопатии (ГКМП), скелетной миопатией и снижением интеллекта различной степени выраженности.

Распространенность БД до настоящего времени точно не установлена. Это связано с тем, что причина гипертрофии миокарда вследствие лизосомального накопления гликогена в кардиомиоцитах часто остается нераспознанной. БД является фенкопией ГКМП, но отличается злокачественным течением и неблагоприятным прогнозом. Быстрое прогрессирование болезни (с развитием тяжелой сердечной недостаточности) наблюдается даже при умеренной степени гипертрофии миокарда, что требует более частого динамического наблюдения и своевременного рассмотрения вопроса о целесообразности трансплантации сердца. Обнаружение у пациентов с БД признаков фиброза миокарда является прогностически неблагоприятным фактором высокого риска аритмогенеза и внезапной сердечной смерти. Таких пациентов необходимо рассматривать в качестве потенциальных кандидатов для имплантации кардиовертер-дефибриллятора с целью первичной профилактики ВСС.

В статье представлен клинический случай поздней диагностики БД, обусловленной мутацией в гене, кодирующем лизосом-ассоциированный мембранный протеин 2 (*LAMP2*), детально изложены клинические признаки и методы дифференциальной диагностики заболевания.

Российский кардиологический журнал 2017, 10 (150): 93–99

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-93-99>

Ключевые слова: болезнь Данона, *LAMP2*, гипертрофическая кардиомиопатия.

¹Республиканский научно-практический центр “Кардиология”, Минск; ²Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь.

Вайханская Т.Г. — к.м.н., в.н.с., лаборатория информационных технологий, Сивицкая Л.Н. — к.б.н., с.н.с., лаборатория нехромосомной наследственности, Даниленко Н.Г. — к.б.н., в.н.с., лаборатория нехромосомной наследственности, Сидоренко И.В. — врач-кардиолог, Давыденко О.Г. — д.м.н., чл.-кор. НАНБ, главный ведущий сотрудник, зав. лабораторией нехромосомной наследственности.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
tat_vaikh@mail.ru

БД — болезнь Данона, ВСС — внезапная сердечная смерть, ГКМП — гипертрофическая кардиомиопатия, КВД — кардиовертер-дефибриллятор, КДО — конечно-диастолический объем, КСО — конечно-систолический объем, ЛЖ — левый желудочек, ПБЛНПГ — полная блокада левой ножки пучка Гиса, ПЖ — правый желудочек, ТП — трепетание предсердий.

Рукопись получена 12.02.2017

Рецензия получена 03.03.2017

Принята к публикации 07.04.2017

DANON DISEASE: A RARE SYSTEMIC DISORDER WITH THE *LAMP2*-CARDIOMYOPATHY

Vaykhanskaya T. G.¹, Sivitskaya L. N.², Danilenko N. G.², Sidorenko I. V.¹, Davydenko O. G.²

Danon disease (DD) is a rare and complex pathology, difficult for diagnostics, with multisystemic presentation, which demands for multidisciplinary clinical approach, incl. cardiologists, genetics, neurologists, ophthalmologists and rehabilitologists. The disorder is characterized by a classical triad of signs: phenotype of hypertrophic cardiomyopathy (HCM), skeletal myopathy and intellect deficit of various grade.

The prevalence of DD until recently is not known precisely. It is due to unrecognized origin of myocardial hypertrophy caused by lysosomal glycogen retention in cardiomyocytes. DD is a phenocopy of HCM, but differs by a malignant course and adverse outcome. Rapid progression of the disease (with the development of heart failure) is known even in moderate myocardial hypertrophy, that requires frequent dynamic follow-up and on-time evaluation of heart transplantation. Is myocardial fibrosis is found in DD, it is prognostically adverse factor for arrhythmia risk and

sudden cardiac death. Such patients should be regarded as potential candidates for cardioverter-defibrillator implantation for primary SCD prevention.

The article presents with clinical case of delayed diagnostics of DD related to mutation in the gene for lysosome-associated membrane protein 2 (*LAMP2*), in details clinical signs are provided, as differential diagnostics methods.

Russ J Cardiol 2017, 10 (150): 93–99

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-93-99>

Key words: Danon disease, *LAMP2*, hypertrophic cardiomyopathy.

¹Republic Scientific-Practitioner Center “Cardiology”, Minsk; ²Institute of Genetics and Cytology of NAS Belorussia, Minsk, Belorussia.

Болезнь Данона (БД) является X-сцепленным доминантным заболеванием с мультисистемными клиническими проявлениями. Заболевание характеризуется классической триадой признаков: фенотипом гипертрофической кардиомиопатии (ГКМП), скелетной миопатией и снижением интеллекта различной степени выраженности.

Впервые Морис Данон в 1981г при гистологическом исследовании мышечной ткани двоих мальчи-

ков, страдающих кардиомиопатией, скелетной миопатией и когнитивной дисфункцией, выявил накопления гликогена, подобные тем, которые наблюдаются при болезни Помпе. При ультраструктурном исследовании биоптатов ученый выявил обилие гликогеновых частиц, находящихся по большей части внутри лизосомальных мешочков, а в некотором количестве — отдельно или вместе с дебрисом (отходами) клетки [1]. В связи с этим, первоначально

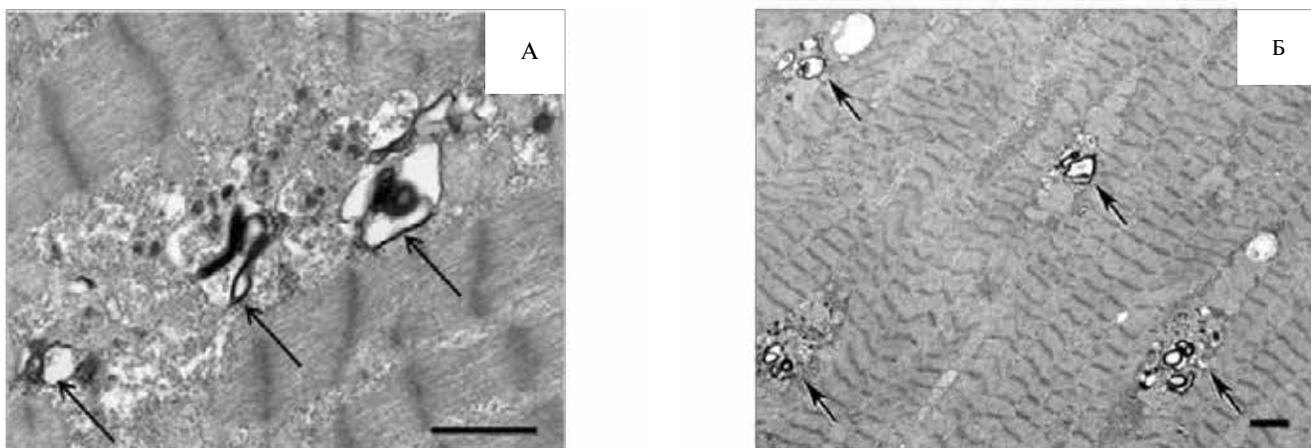


Рис. 1 (А, Б). Электронная микроскопия биоптатов скелетных мышц (А) и миокарда (Б).

Примечание: стрелками указаны цитоплазматические вакуоли, содержащие аутофагической материал и гликоген (масштаб фрагмента линейки 1 мкм). Перепечатано с разрешения издателя (M. R. Taylor et al. Copyright © 2007).

заболевание было классифицировано как болезнь лизосомального накопления гликогена типа IIb. Однако, позже генетические, гистологические и ультраструктурные исследования показали, что при такой патологии нарушается процесс аутофагии. Это сложный механизм “разборки”, утилизации и повторного использования “отработанных” компонентов клетки. В 2000г Nishino I, et al. идентифицировали дефекты в гене, кодирующем лизосом-ассоциированный мембранный протеин 2 (*LAMP2*), — важный компонент мембраны лизосом [2]. Мутации этого гена приводят к снижению экспрессии или полному отсутствию белка *LAMP2*. По причинам еще до конца не изученным дефицит протеина *LAMP2* нарушает цитоплазматический обмен и приводит к накоплению аутофагического материала и гликогена в клетках сердечной и скелетных мышц. И как следствие, в миоцитах скелетной и сердечной мускулатуры накапливаются вакуоли, в которых содержится большое количество гликогена (рис. 1) [3]. В свою очередь, это приводит к увеличению размеров клеток и их гибели, гипертрофическим и фиброзным изменениям в миокарде (с нарушениями ритма и проводимости сердца) и в скелетных мышцах (с формированием миопатического синдрома). Встречаются и другие клинические признаки, менее распространенные, включающие офтальмопатию (ретинопатию), патологию печени и легких [4-7].

Так как БД наследуется по X-сцепленному доминантному типу, клиническая картина этой патологии имеет значительные гендерные различия. Более тяжелое течение и ранняя манифестация болезни наблюдается чаще у мужчин, которые являются *LAMP2* гемизиготными (в $13,3 \pm 8,0$ года для мужчин и в $28,9 \pm 14,2$ лет для женщин; $p=0,0008$) [8]. А у женщин БД вследствие гетерозиготности характеризуется более мягкой клинической симптоматикой

и поздней пенетрантностью. Скелетная миопатия и умственная отсталость встречаются также гораздо реже у женщин, чем у мужчин.

В базе данных Human Gene Mutation Database (HGMD, www.hgmd.org) в гене *LAMP2* зарегистрирована 81 мутация, ассоциированная с БД. Более четверти из них представлены миссенс-заменами, большинство из которых (около 85%) приводят к образованию преждевременного стоп-кодона. Еще четверть мутаций затрагивает сайты сплайсинга *LAMP2* гена. И треть мутаций приходится на малые инсерции/делеции, приводящие к сдвигу рамки считывания белка и образованию преждевременного кодона. Описаны также крупные делеции и дупликации в этом гене. Таким образом, подавляющее большинство изменений в *LAMP2*, приводящих к развитию БД, связано с синтезом укороченного, или делетированного, протеина [8].

Распространенность БД до настоящего времени точно не установлена. Это связано с тем, что причина гипертрофии миокарда из-за отложений гликогена в кардиомиоцитах (вследствие мутации в гене *LAMP2*) часто остается нераспознанной. По литературным источникам, верифицируется БД чаще в странах с большей доступностью генетического скрининга с включением гена *LAMP2* в кардиопанели (США, Австралия, Израиль, Финляндия, Швеция, Франция, Италия, Великобритания, Греция и Китай). Так, в одном из исследований БД была выявлена Charron P, et al. в двух случаях из 50 (4%) фенотипов ГКМП, обнаруженных у детей [9]. В другом, Arad M, et al. верифицировали БД у четырех из 24 (17%) пациентов с гипертрофическим фенотипом и синдромом предвозбуждения миокарда желудочков (феномен WPW по данным ЭКГ) [10]. А в мужской подгруппе из девяти пациентов, имеющих ГКМП и “вакуолярную” миопатию, подтвержденную результатами

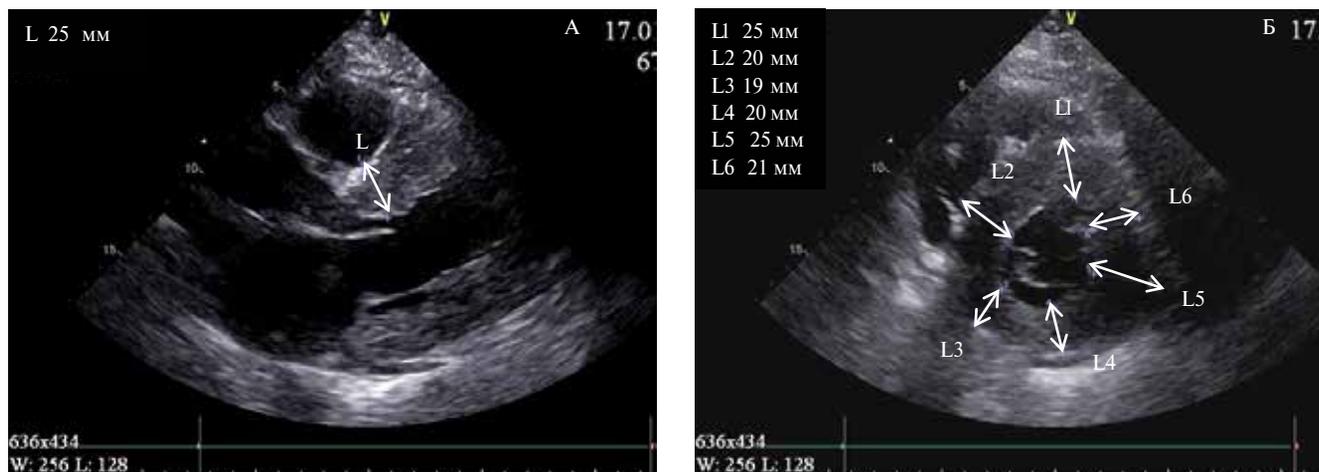


Рис. 2 (А, Б). Трансторакальная эхокардиография: **А** — вид из парастерального доступа по длинной оси, демонстрирующий умеренную гипертрофию ЛЖ (стрелкой отмечена толщина МЖП), повышенную эхогенность миокарда и дилатацию левого предсердия; **Б** — вид из парастерального доступа по короткой оси с признаками гипертрофии ЛЖ (стрелками отмечена толщина стенок ЛЖ).

микроскопии мышечных биоптатов, БД была верифицирована у 3 (33%) пациентов [11].

По разным литературным данным, изменения в *LAMP2* гене встречаются у 1-5% больных с ГКМП [7, 8, 12]. А так как частота этой некоронарогенной патологии составляет 2 случая на 1000 молодого взрослого населения, можно предположить минимальную распространенность БД в европейской популяции — от 2 до 6 случаев на 100 тыс. населения.

Клинический случай из практики

Пациент N. — мужчина 30 лет, кровных родственников не имеет, своей родословной не знает. После смерти родителей (причина ранней смерти неизвестна) в детском возрасте оказался на государственном попечении. С 12-14 лет ситуационно отмечал приступы мышечной слабости и сердцебиения при волнении, отставал от своих сверстников в обучении. При обследовании была диагностирована аксональная нейропатия Шарко-Мари-Тута и дисплазия соединительной ткани сердца. В возрасте 30 лет появились приступы учащенного сердцебиения, одышка и рецидивирующие предобморочные состояния.

Объективно при осмотре: ЧДД 18 в 1 мин, PS 54 уд./мин, ЧСС 60 уд./мин, АД 115/60 мм рт.ст.; аускультативно — тоны сердца аритмичные, дующий систолический шум над мечевидным отростком, мелкопузырчатые хрипы в нижних отделах легких; печень +3 см от края реберной дуги; периферических отеков нет.

Мышечно-неврологический статус: астеничная конституция, снижение массы тела (ИМТ 17), гипотрофия мышц плечевого пояса, поясничный гиперлордоз, “крыловидные лопатки”, гипотрофия икроножных мышц. Мышечная сила верхних и нижних конечностей умеренно снижена, изменение походки по типу “перонеальной”. Пациент отмечал чувство слабости в мышцах ног, шеи и плеч с пубертатного

возраста. Несмотря на прогрессирующий характер миопатии, мышечная слабость не была изнурительной, и молодой мужчина сохранял способность к нормальной двигательной активности и умеренной физической работе на приусадебном участке.

Умеренные когнитивные нарушения были выявлены при нейропсихологическом исследовании: когнитивный тест MMSE (Mini Mental State Examination) составил 17 баллов (11-19 деменция умеренной степени; 20-23 — легкая деменция). У пациента N. отмечались затруднения в математическом подсчете, снижение зрительной и слухоречевой памяти, обнаружены некоторые элементы пространственной агнозии и умеренные расстройства конструктивного праксиса.

Признаки кардиомегалии с венозным застоем в малом круге кровообращения выявлены по данным рентгенографии органов грудной клетки.

При трансторакальном эхокардиографическом обследовании обнаружены признаки бивентрикулярной гипертрофии, дилатации обоих предсердий и левого желудочка (ЛЖ) с выраженной систолической дисфункцией ЛЖ (рис. 2А). Отмечалась повышенная эхогенность всех отделов миокарда, увеличение массы (789 г) и индекса массы миокарда (492 г/м^2). Наблюдалась умеренная симметричная гипертрофия ЛЖ с толщиной задней стенки до 20 мм, межжелудочковой перегородки — 25 мм, и гипертрофией папиллярных мышц без обструкции выходного тракта ЛЖ (LVOT 2 мм рт.ст.) и без SAM (передне-систолическое движение створки митрального клапана) феномена (рис. 2Б). Выявлено расширение полости ЛЖ: по методу Симпсона конечно-диастолический диаметр составил 67 мм, конечно-диастолический объем (КДО) — 285 мл, конечно-систолический объем (КСО) — 178 мл. Систолическая функция была

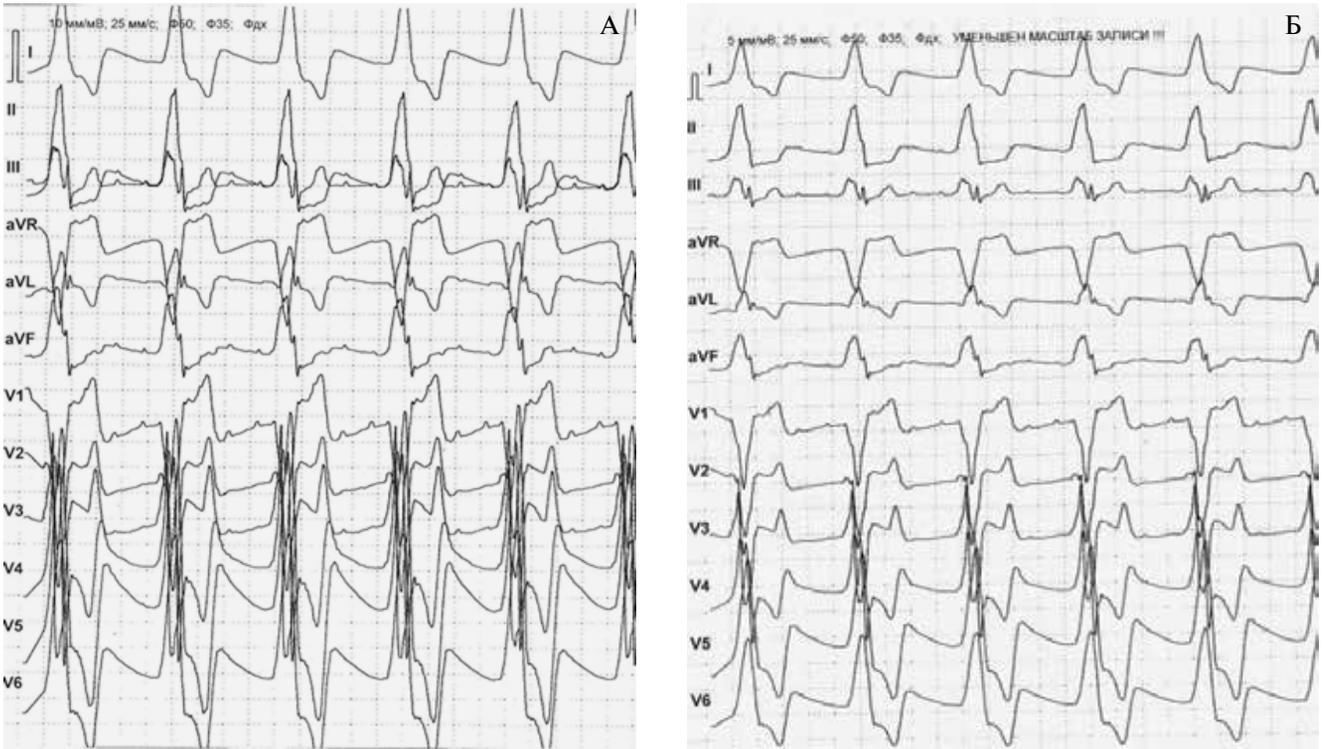


Рис. 3 (А, Б). Электрокардиограмма пациента: **А** — трепетание предсердий, расширение комплекса QRS до 250 мс (ПБЛНПГ), экстремально высокий вольтаж QRS комплексов: амплитуда зубца R в отведении V_5 — 35 мм, амплитуда негативного T зубца — 35 мм в отведении V_6 , амплитуда QRST комплекса — 62 мм в отведении V_6 (калибровочная шкала 10 мм/мВ; 25 мм/с); **Б** — ЭКГ пациента в уменьшенном масштабе (5 мм/мВ; 25 мм/с).

значительно снижена вследствие акинеза нижнего, верхушечного сегментов ЛЖ и гипокинеза остальных сегментов ЛЖ. Величина фракции выброса ЛЖ составила 38%, значительно была нарушена сократительная функция ЛЖ с изменением глобальной продольной деформации (GLS ср.) до -5,1%. Отмечалось гипертрабекулярное строение верхушки ЛЖ и диссинхрония миокарда. Выявлены атриовентрикулярная, внутри- и межжелудочковая диссинхрония (соотношение длительности сердечного цикла — интервала R-R — и времени диастолического наполнения ЛЖ составило 30%, пресистолическая задержка на АоК — 156 мс, септально-латеральная задержка — 115 мс, максимальная задержка для 12 сегментов — 142 мс, индекс диссинхронии — 82 мс). Выявлена также гипертрофия миокарда правого желудочка (ПЖ): толщина миокарда свободной стенки ПЖ составила 9 мм, верхушки ПЖ — 10 мм. Внутрижелудочковый градиент на уровне верхушечных сегментов в покое составил 8 мм рт.ст. Размеры и глобальная систолическая функция ПЖ были в пределах возрастной нормы (КДО ПЖ 76 мл, КСО ПЖ 25 мл, ФВ ПЖ 47%), а продольная сократительная функция ПЖ была снижена (TAPSE 13).

В результате ЭКГ исследования у пациента выявлен очень высокий вольтаж расширенных комплексов QRS, полная блокада левой ножки пучка Гиса

(ПБЛНПГ) с длительностью QRS до 250 мс, брадисистолическая форма истмус-зависимого трепетания предсердий (ТП) с ЧСС 55-67 в 1 мин (рис. 3А, 3Б). При суточном мониторинге ЭКГ выявлены: брадисистолическая форма ТП, средняя ЧСС 49 уд./мин; минимальная ЧСС 25 уд./мин, максимальная ЧСС 89 уд./мин, ПБЛНПГ, переходящий синдром Фредерика (ТП с дистальной АВ-блокадой 3 степени с ЧСС 25-27 уд./мин), эпизоды асистолии от 3 до 5 сек, одиночная и парная полиморфная желудочковая экстрасистолия (208 ЖЭС/сут., 9 куплетов), пароксизмы неустойчивой желудочковой тахикардии от 4 до 7 комплексов с ЧСС 125-146 уд. в мин.

У пациента были обнаружены значительные изменения лабораторных показателей биохимического анализа крови: повышение уровня лактатдегидрогеназы (1543 Е/л, норма до 220 Е/л); повышение уровня сывороточной креатинфосфокиназы (1553 U/L, референтный диапазон 0-146 U/L); повышение уровня трансаминаз (АСТ 359 Е/л; АЛТ 294 Е/л) и мозгового натрийуретического пептида (1795 пг/ммоль, норма 0-35 пг/ммоль).

МРТ исследование сердца не проводилось из-за наличия клаустрофобии. На фоне медикаментозной терапии сердечной недостаточности пациенту имплантировали ресинхронизирующее устройство (СРТ-Д) с функцией кардиовертер-дефибриллятора (КВД).

С учетом типичной триады признаков БД в виде кардиомиопатии гипертрофического фенотипа, скелетной миопатии (периферические мышечные нарушения) и отставания в умственном развитии, была заподозрена метаболическая причина гипертрофии миокарда, ранее клинически не распознанная, и проведен забор образцов биологического материала (буккальные клетки) для генетического исследования.

У пациента было получено письменное информированное согласие на проведение молекулярно-генетического исследования образцов биологического материала и разрешение на анонимную публикацию результатов. Биологическим материалом послужили буккальные эпителиоциты ротовой полости.

Геномная ДНК была использована для target next-generation sequencing (tNGS) на приборе MiSeqSystem (Illumina Inc., San Diego, USA). Секвенирование было выполнено с помощью коммерческой панели TruSight Cardiomyopathy Sequencing panel (Illumina Inc., San Diego, USA), охватывающей 46 генов-кандидатов, детерминирующих развитие кардиомиопатии. Метод прямого секвенирования по Сэнгеру был использован для проверки вариантов, идентифицированных при tNGS и отвечающих требованиям патогенных мутаций.

С целью обнаружения сплайсинг-мутаций, был проведен подробный анализ синонимичных вариантов в экзонах, малых инсерций/делеций и точковых замен в интронах. Это позволило идентифицировать делецию четырех нуклеотидов в интроне 6 гена *LAMP2* — с.864+3_864+6delGAGT (rs397516751, NM_002294.2). На рисунке 4 представлены результаты секвенирования 6 экзона, мутация была верифицирована методом прямого секвенирования по Сэнгеру. По данным базы ClinVar, этот вариант является патогенным и ассоциирован с развитием БД.

Идентифицированная делеция расположена в районе стыка экзона 6 и интрона 6, где локализуется естественный донорный сайт сплайсинга. Такая делеция с большой вероятностью приводит к ликвидации донорного мотива. Чтобы понять, каким образом это отразится на сплайсинге пре-мРНК, и какой именно будет синтезирован белок, необходимо проводить исследования РНК, выделенной из пораженной ткани.

Предиктивный анализ этой мутации проведен в специализированных сервисах (Splice Site Prediction by Neural Network, Splice Port, Human Splice Finder, Net Gene2, Max Ent Scan), которые позволяют прогнозировать вероятность изменения сайтов сплайсинга и процессинга пре-мРНК. Все использованные предикторы идентифицировали ликвидацию естественного донорного сайта сплайсинга вследствие патогенной делеции четырёх нуклеотидов — с.864+3_864+6delGAGT.

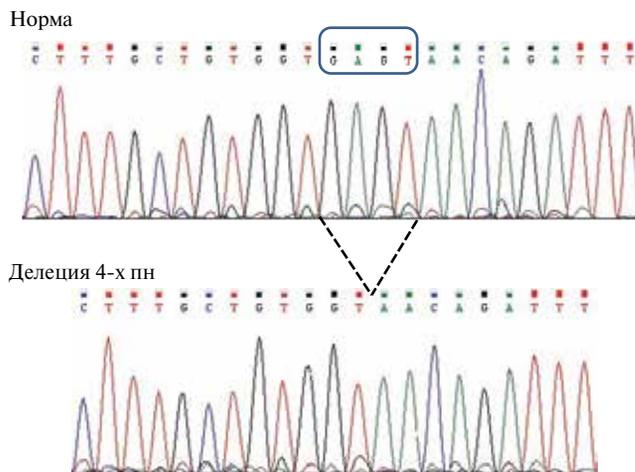


Рис. 4. Делеция с.864+3_864+6delGAGT в гене *LAMP2*. Мутация идентифицирована методом прямого секвенирования.

Таким образом, БД у пациента N. верифицирована генетически, и заключительный диагноз в виде буквенного международного (MOGES) индивидуального кода заболевания представляется следующим образом:

$M_{\text{Danon:H+D [CHB+AF+nsVT]}}$
 $O_{\text{H+M+N [\uparrow sCK, \uparrow ALT, \uparrow AST, \uparrow LDH]}}$
 $G_{\text{XLD}} E_{\text{G-XLD-LAMP2 [c.864+3_864+6delGAGT]}}$
 $S_{\text{C-III}}?$

где клинический морфофункциональный фенотип (M) БД $M_{\text{Danon:H+D [CHB+AF+nsVT]}}$ представляет фенотип ГМКП с дилатационным фенотипом (H+D); AF (atrial flutter) — ТП; CHB (complete heart block) — полная поперечная блокада сердца (AB-блокада полная); nsVT — неустойчивые пароксизмы желудочковой тахикардии; $O_{\text{H+M+N [\uparrow sCK, \uparrow ALT, \uparrow AST, \uparrow LDH]}}$ — поражение органов: сердца H (heart), скелетных мышц M (muscles), нервной системы N (nervous) с когнитивным дефицитом; повышение сывороточных уровней ферментов КФК, АЛТ, АСТ, ЛДГ ($\uparrow sCK, \uparrow ALT, \uparrow AST, \uparrow LDH$); G_{XLD} — наследственность обусловлена X-сцепленным доминантным типом наследования; $E_{\text{G-XLD-LAMP2 [c.864+3_864+6delGAGT]}}$ — этиология генетическая, выявлен генетический дефект с X-сцепленным доминантным типом наследования — мутация гена *LAMP2* в виде делеции в 6 экзоне (мутация с.864+3_864+6delGAGT); $S_{\text{C-III}}$ сердечная недостаточность соответствует H_{IIa} (C) и ФК III по NYHA.

Обсуждение

ГМКП является саркомерной патологией, фенотипически очень похожей на другие метаболические заболевания, возникающие в результате мутаций генов, кодирующих несаркомерные белки. Основным признаком, феномен гипертрофии, обусловлен накоплением и отложением аномальных продуктов метаболизма в цитоплазме или лизосомах кардиомиоци-

Таблица 1

Клинические критерии и методы верификации БД

Синдром	Диагностика	Клинико-инструментальные критерии
Фенотип ГКМП	Клинические проявления	Одышка, сердцебиение, синкопальные состояния. Прогрессирование симптомов ХСН.
	ЭхоКГ признаки	Концентрическая гипертрофия ЛЖ. Редко асимметричная ГЛЖ с обструкцией выходного тракта и SAM-феноменом (передне-систолическое движение створки митрального клапана). В динамике часто развивается дилатация полости ЛЖ и выраженная систолическая дисфункция с низкой ФВЛЖ (20-35%). Отличительной особенностью является экстремально выраженная симметричная гипертрофия, при этом, толщина стенок левого желудочка колеблется от 29 до 65 мм, нередко встречается гипертрофия ПЖ. Возможно сочетание гипертрофии миокарда с участками некомпактного миокарда.
	ЭКГ признаки ХМ ЭКГ	Синдром предвозбуждения желудочков (WPW-феномен или синдром), резко увеличенный вольтаж R/S зубцов от 15 до 145 мм, в среднем 69±39 мм, глубокие инвертированные Т зубцы. Расширение QRS комплекса, нарушения АВ-проводимости и блокады ножек пучка Гиса. Жизнеопасные желудочковые тахикардии.
	Биопсия миокарда	Выявление в цитоплазме кардиомиоцитов при электронной микроскопии большого количества вакуолей, содержащих гликоген и фрагменты аутофагического материала.
	MPT сердца	Оценка гипертрофии и функции миокарда желудочков, выявление возможных областей с дефектом поглощения гадолиния, которые указывают на образование фиброза.
Миопатия скелетная	Мышечная слабость	Слабость в мышцах может носить транзиторный характер и провоцироваться стрессовыми ситуациями.
	Биопсия скелетных мышц	При микроскопии биоптатов скелетных мышц отмечается широкая вариабельность размеров мышечных волокон, участки фиброза и признаки вакуолярной миопатии (накопление в вакуолях аутофагического материала и гликогена), иммуногистохимические признаки дефицита LAMP2 белка без увеличения уровня мальтазы.
Когнитивные расстройства	MMSE тест, нейропсихологическое исследование	Нейрокогнитивные расстройства: академическая слабость в математике и чтении, дефицит внимания, проблемы с поведением, гиперактивность или расстройства аутистического характера.
Офтальмологические изменения	Офтальмоскопия	Женщины могут иметь периферическую пигментную ретинопатию по типу "соль и перец"; диффузная и почти полная потеря пигмента сетчатки наблюдается у мужчин.
Лабораторные маркеры повреждения клеток сердца, печени, скелетных мышц	Биохимический анализ	Вследствие массивной гипертрофии и ишемии миокарда наблюдается повышение уровня тропонинов и ЛДГ. При миопатическом синдроме — увеличение активности сывороточной креатинфосфокиназы (КФК). Отмечаются проявления цитолиза гепатоцитов с повышением уровня ферментов — трансаминаз (АСТ и АЛТ).
Гендерные различия	Половая принадлежность	У мужчин заболевание возникает уже в подростковом возрасте и носит более агрессивный характер, тогда как у женщин отмечается более поздняя пенетрантность БД (на 15-20 лет позже) и менее тяжелая форма. Гипертрофический фенотип кардиомиопатии чаще развивается у мужчин; у женщин возможны фенотипы как ГКМП, так и ДКМП, но чаще встречается фенокопия ДКМП. Значительно более выражены клинический полиморфизм и тяжесть течения патологии у лиц мужского пола.
Генетическая диагностика	Прямое секвенирование	Молекулярно-генетическая идентификация патогенных мутаций гена <i>LAMP2</i> .

тов. К таким заболеваниям относятся болезни Помпе, Кори, Фабри, амилоидоз, гемахроматоз [7-9]. Гликогенозы доминируют среди всех метаболических форм с фенотипом ГКМП. БД (*LAMP2*-кардиомиопатия) является одной из форм гликогеноза и характеризуется типичной триадой: признаки ГКМП, когнитивный дефицит и скелетная миопатия. По клиническим проявлениям *LAMP2*-кардиомиопатия практически не отличается от тяжелой формы ГКМП, развивающейся вследствие мутаций саркомерных генов. Но отличительной особенностью является экстремально выраженная симметричная гипертрофия, чаще концентрическая, при этом толщина стенок ЛЖ колеблется от 29 до 65 мм, нередко встречается гипертрофия и ПЖ [13-15]. У нашего пациента N. гипертрофия ЛЖ имела симметричный характер,

но умеренную степень выраженности (максимальная толщина стенки составила 25 мм), которая обычно встречается у больных с ГКМП (35±15 мм), а это значительно меньше представленных в литературе случаев БД с характерной экстремальной толщиной миокарда [15, 16]. Все остальные клинические признаки (миопатия, когнитивный дефицит, специфическая высокоамплитудная ЭКГ, изменения лабораторных показателей) представляют классический симптомокомплекс типичной картины БД. Основные дифференциальные отличия и клинические признаки этого заболевания представлены в таблице 1 [1-17].

По данным аутопсии, у пациентов с БД масса сердца может достигать от 900 г до 1425 г, отмечается выраженная гипертрофия миокарда, распространенный фиброз

чаще субэндокардиальной локализации, но не соответствующей бассейнам кровоснабжения. По данным электронной микроскопии, в цитоплазме кардиомиоцитов выявляется большое количество вакуолей, содержащих гликоген и фрагменты аутофагического материала (это основные отличительные гистопатологические особенности); редко могут встречаться участки дезорганизации мышечных волокон, но при этом признаки воспаления, “рваные” красные волокна (RRF) отсутствуют [17].

Заболевание характеризуется неблагоприятным и прогрессирующим течением с высоким риском внезапной смерти или прогрессирования тяжелой сердечной недостаточности. Основным методом профилактики внезапной сердечной смерти (ВСС) является имплантация КВД. Учитывая неблагоприятный прогноз *LAMP2*-ассоциированной кардиомиопатии, ранняя диагностика имеет решающее значение для определения адекватной стратегии лечения и проведения своевременной трансплантации сердца, как наиболее эффективного метода лечения.

Диагноз БД верифицируется генетически или с помощью микроскопии биоптатов миокарда/скелетных мышц (патогномоничные критерии: цитоплазматические вакуоли, содержащие фрагменты аутофагического материала и гликоген). Показаниями для проведения генетического обследования (поиск мутаций в гене *LAMP2*) являются следующие клинические симптомы: 1) признаки выраженной концентрической гипертрофии ЛЖ, т.н. фенокопия ГКМП с выраженной симметричной гипертрофией миокарда; 2) экстремально высокий вольтаж комплексов QRS в сочетании с синдромом/феноменом предвозбуждения желудочков (WPW феномен); расширенный комплекс QRS (ПБЛНПГ); атриовентрикулярная блокада; 3) миопатический симптомокомплекс (мышечная слабость, гипо-/гипертрофия мышц); 4) изменения биохимических показателей (КФК, ЛДГ, АЛТ и АСТ), отражающих клеточный цитолиз.

Литература

- Danon MJ, Oh SJ, Di Mauro S, et al. Lysosomal glycogen storage disease with normal acid maltase. *Neurology* 1981; 31: 51-7. [PubMed: 6450334].
- Nishino I, Fu J, Tanji K, Yamada T, et al. Primary lamp-2 deficiency causes x-linked vacuolar cardiomyopathy and myopathy (Danon disease). *Nature*. 2000; 406: 906-10. [PubMed: 10972294].
- Taylor MR, Ku L, Slavov D, et al. Danon disease presenting with dilated cardiomyopathy and a complex phenotype. *J Hum Genet*. 2007; 52: 830-5. [PubMed: 17899313].
- Prall FR, Drack A, Taylor M, et al. Ophthalmic manifestations of Danon disease. *Ophthalmology*. 2006; 113: 1010-3. [PubMed: 16751040].
- Schorderet DF, Cottet S, Lobrinus JA, et al. Retinopathy in Danon disease. *Arch Ophthalmol*. 2007; 125: 231-6. [PubMed: 17296900].
- Sugie K, Yamamoto A, Murayama K, et al. Clinicopathological features of genetically confirmed Danon disease. *Neurology*. 2002; 58: 1773-8. [PubMed: 12084876].
- Nishino I. Autophagic vacuolar myopathy. *Semin Pediatr Neurol*. 2006; 13: 90-5. [PubMed: 17027858].
- Boucek D, Jirikovic J, Taylor M. Natural history of Danon disease. *Genet Med*. 2011; 13: 563-8. [PubMed: 21415759].
- Charron P, Villard E, Sébillon P, et al. Danon's disease as a cause of hypertrophic cardiomyopathy: A systematic survey. *Heart*. 2004; 90:842-6. [PubMed: 15253947].
- Arad M, Maron BJ, Gorham JM, et al. Glycogen storage diseases presenting as hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 2005; 352: 362-72. [PubMed: 15673802].
- Fanin M, Nascimbeni AC, Fulizio L, et al. Generalized lysosome-associated membrane protein-2 defect explains multisystem clinical involvement and allows leukocyte diagnostic screening in Danon disease. *Am J Pathol*. 2006; 168: 1309-20. [PubMed: 16565504].
- Cheng Z, Fang Q. Danon disease: focusing on heart. *J Hum Genet* 2012; 57 (7): 407-10. [PubMed: 22695892].
- Maron BJ, Roberts WC, Ho CY, et al. Profound left ventricular remodeling associated with *LAMP2* cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 2010; 106: 1194-6. [PubMed: 20920663].
- Van Der Starre P, Deuse T, Pritts C, et al. Late profound muscle weakness following heart transplantation due to Danon disease. *Muscle Nerve* 2013; 47 (1): 135-7. [PubMed: 23168931].
- Zaki A, Zaidi A, Newman WG, Garratt CJ. Advantages of a subcutaneous implantable cardioverter-defibrillator in *LAMP2* hypertrophic cardiomyopathy. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2013; 24 (9): 1051-3. [DOI: 10.1111/jce.12142].
- Gersh BJ, Maron BJ, Bonow RO, et al. 2011 ACCF/AHA Guideline for the Diagnosis and Treatment of Hypertrophic Cardiomyopathy: A Report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation* 2011; 124: 213-60. [PubMed: 22075469].
- Maron BJ. A phenocopy of sarcomeric hypertrophic cardiomyopathy: *LAMP2* cardiomyopathy (Danon disease) from China. *Eur Heart J* 2011; 33 (5): 570-2. [PubMed: 22187509].

Заключение

1. БД является мультисистемной патологией, что диктует необходимость комплексного взаимодействия врачей нескольких специальностей, — кардиологов, генетиков, неврологов, офтальмологов, физиотерапевтов и реабилитологов.

2. Заболевание является фенокопией ГКМП, но отличается более злокачественным течением; прогрессирование БД, даже при умеренной степени гипертрофии, может быть довольно быстрым (особенно у мужчин), что требует более частого динамического наблюдения (контроль каждые три-шесть месяцев) и необходимости рассмотрения вопроса о целесообразной трансплантации сердца [17].

3. Обнаружение признаков фиброза миокарда (по данным МРТ с контрастным усилением гадолинием) является прогностически неблагоприятным фактором высокого риска аритмогенеза и ВСС. В качестве первичной профилактики ВСС необходимо рассматривать имплантацию КВД. Однако, по мнению ряда авторов, имплантированные пациентам с БД КВД являются недостаточно эффективным средством профилактики внезапной смерти, т.к. в некоторых исследованиях была доказана недостаточная конверсионная эффективность дефибриллирующих разрядов для купирования множества залпов желудочковых тахикардий при стандартной (трансвензная) имплантации электродов. Исследователями рассматриваются предложения по применению подкожных систем имплантации КВД (S-ICD). Наиболее предпочтительным выбором метода лечения, на сегодняшний день, является трансплантация сердца. Абсолютным показанием для пересадки сердца является выраженная левожелудочковая систолическая дисфункция [3, 8, 12-17]. Специфическое лечение заболевания до настоящего времени, к сожалению, еще находится на стадии экспериментального изучения и пока не разработано.

КАРДИОМИОПАТИЯ ПРИ АТАКСИИ ФРИДРЕЙХА: КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ И ДИАГНОСТИКА ОСЛОЖНЕНИЙ

Фомичева Е. И.¹, Мясников Р. П.¹, Селивёрстов Ю. А.², Дадали Е. Л.³, Коталевская Ю. Ю.⁴, Харлап М. С.^{1,6}, Корецкий С. Н.¹, Нужный Е. П.², Мершина Е. А.⁵, Синецын В. Е.⁵, Вернохаева А. Н.¹, Базаева Е. В.¹, Драпкина О. М.¹, Бойцов С. А.⁶

Атаксия Фридрейха (АФ) является одним из наиболее распространенных вариантов наследственных атаксий. Это заболевание характеризуется сложным фенотипом, включающим неврологические проявления (атаксия, сенсорная полиневропатия, дизартрия, нарушение глубокой чувствительности, арефлексия, пирамидные симптомы с вовлечением нижних конечностей, вегетативные нарушения, иногда — психопатологические симптомы), кардиологические нарушения (кардиомиопатия, сердечная недостаточность, аритмии), а также нарушения углеводного обмена и скелетные деформации. Если неврологические нарушения приводят к значительному ухудшению качества жизни и инвалидизации пациентов, то осложнения со стороны сердечно-сосудистой системы являются основными причинами смерти больных с АФ. Стоит отметить, что вовлеченность в патологический процесс сердца может оставаться не диагностированной.

В настоящее время подавляющее большинство зарубежных и отечественных публикаций по АФ посвящены неврологическим проявлениям этого заболевания. Несмотря на то, что основной причиной смерти пациентов с АФ являются тяжелая сердечная недостаточность и внезапная сердечная смерть вследствие кардиомиопатии (выраженной симметричной гипертрофии миокарда с участками интрамиокардиального фиброза), в кардиологическом научно-практическом обществе данной проблеме уделяется мало внимания.

Нами представлено клинико-генетическое описание пациента 27 лет с АФ с умеренными неврологическими нарушениями и выраженной гипертрофией миокарда. В статье рассмотрены современные клинико-диагностические аспекты кардиомиопатии, ассоциированной с АФ.

Российский кардиологический журнал 2017, 10 (150): 100–106

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-100-106>

Ключевые слова: кардиомиопатия Фридрейха, атаксия Фридрейха, кардиомиопатии, гипертрофия миокарда, фратаксин, сердечная недостаточность, внезапная сердечная смерть, некомпактный миокард левого желудочка.

¹ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр профилактической медицины Минздрава России, Москва; ²ФГБНУ Научный центр неврологии, Москва; ³ФГБНУ Медико-генетический научный центр, Москва; ⁴ГБУЗ МО МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского, Москва; ⁵ФГАУ Лечебно-реабилитацион-

ный центр Минздрава России, Москва; ⁶ФГБУ НИИЦ кардиологии Минздрава России, Москва, Россия.

Фомичева Е. И. — м.н.с. отдела фундаментальных и прикладных аспектов ожирения, Мясников Р. П.* — к.м.н., с.н.с. отдела клинической кардиологии и молекулярной генетики, Селивёрстов Ю. А. — к.м.н., н.с., Дадали Е. Л. — д.м.н., профессор, зав. научно-консультативным отделом, Коталевская Ю. Ю. — к.м.н., врач-генетик, зав. консультативным отделением медико-генетического центра, Харлап М. С. — к.м.н., с.н.с. отдела клинической кардиологии и молекулярной генетики, Корецкий С. Н. — к.м.н., врач функциональной диагностики, Нужный Е. П. — аспирант 5-го неврологического отделения, Мершина Е. А. — к.м.н., зав. отделением томографии, доцент курса лучевой диагностики, лучевой терапии факультета фундаментальной медицины МГУ им. М. В. Ломоносова, Синецын В. Е. — д.м.н., профессор, руководитель Центра лучевой диагностики, руководитель курса лучевой диагностики, лучевой терапии факультета фундаментальной медицины МГУ им. М. В. Ломоносова, Вернохаева А. Н. — клинический ординатор, Базаева Е. В. — врач, Драпкина О. М. — член-корр. РАН, д.м.н., профессор, директор, Бойцов С. А. — член-корр. РАН, д.м.н., профессор, и.о. генерального директора.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

RMyasnikov@gnicpm.ru

АД — артериальное давление, АФ — атаксия Фридрейха, ВТ ЛЖ — выносящий тракт левого желудочка, ГКМП — гипертрофическая кардиомиопатия, ЗС ЛЖ — задняя стенка левого желудочка, КДО — конечно-диастолический объем, КДР — конечно-диастолический размер, КМЦ — кардиомиоциты, КСО — конечно-систолический объем, КСР — конечно-систолический размер, ЛЖ — левый желудочек, МРТ — магнитно-резонансная томография, НМЛЖ — некомпактный миокард левого желудочка, ФВ ЛЖ — фракция выброса левого желудочка, ЧСС — частота сердечных сокращений, ЭКГ — электрокардиография, Эхо-КГ — эхокардиография, FXN — фратаксин, GAA — гуанин-аденин-аденин.

Рукопись получена 21.09.2017

Рецензия получена 22.09.2017

Принята к публикации 25.09.2017

CARDIOMYOPATHY IN THE FRIEDREICH ATAXIA: CLINICAL PRESENTATION AND DIAGNOSTICS OF COMPLICATIONS

Fomicheva E. I.¹, Myasnikov R. P.¹, Selivyorstov Yu. A.², Dadali E. L.³, Kotalevskaya Yu. Yu.⁴, Kharlap M. S.¹, Koretsky S. N.¹, Nuzhny E. P.², Mershinina E. A.⁵, Sinityn V. E.⁵, Vernokhaeva A. N.¹, Bazaeva E. V.¹, Drapkina O. M.¹, Boytsov S. A.⁶

Friedreich's ataxia (FA) is one of the most prevalent variants of the inherited ataxias. The disease is characterized by complicated phenotype that includes neurological signs (ataxia, sensory polyneuropathy, dysarthria, disorders of deep sensitivity, areflexia, pyramid symptoms with lower extremities involvement, vegetative disorders, sometimes — psychopathological symptoms), cardiological disorders (cardiomyopathy, heart failure, arrhythmias), and disorders of carbohydrate metabolism, and skeletal deformities. If neurological disorders lead to significant decrease of life quality and disability, cardiovascular complications are the main cause of fatal outcome in FA. It is worthy to mention that involvement of the heart into pathological process might long remain undiagnosed.

Recently, most of abroad and local publications on FA are related to neurological presentation. Cardiovascular side of the problem in the scientific society remains underestimated, regardless the risk of sudden death and of heart failure (due to symmetric myocardial hypertrophy with the areas of intramyocardial fibrosis) being high.

We present clinical and genetic observation of a 27-year old patient with FA, moderate neurological disorders and severe myocardial hypertrophy. The article is focused on the contemporary clinical and diagnostic aspects of FA associated cardiomyopathy.

Russ J Cardiol 2017, 10 (150): 100–106

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-100-106>

Key words: Friedreich cardiomyopathy, Friedreich ataxia, cardiomyopathies, myocardial hypertrophy, heart failure, sudden cardiac death, non-compaction myocardium of the left ventricle.

¹National Research Center for Preventive Medicine of the Ministry of Health, Moscow; ²Medical and Genetic Scientific Center, Moscow; ³Medical and Genetic Scientific Center, Moscow; ⁴Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI), Moscow; ⁵Treatment and Rehabilitation Center of the Ministry of Health, Moscow; ⁶SMRC of Cardiology of the Ministry of Health, Moscow, Russia.

Атаксия Фридрейха (АФ) — это аутосомно-рецессивное нейродегенеративное заболевание, развивающееся вследствие мутаций в гене *FXN*, кодирующем белок фратаксин. На сегодняшний день АФ является наиболее распространенным вариантом наследственных атаксий.

Функции фратаксина до конца не изучены, однако известно, что он локализуется в матриксе митохондрий и активирует сборку митохондриальных железосерных белковых кластеров. При АФ содержание последних значительно снижается в I, II и III комплексах дыхательной цепи (примечательно, что со II комплексом фратаксин также взаимодействует непосредственно). Кроме того, фратаксин участвует в синтезе гем-содержащих белков, которые играют важную роль в метаболизме кислорода и транспорте электронов [1]. Преимущественное нарушение функции митохондрий приводит к необратимому поражению наиболее энергозависимых тканей (в первую очередь, клеток нервной системы, миокарда, поджелудочной железы).

Для дебюта АФ необходимо, чтобы мутация была в обоих аллелях гена *FXN*. В 96% случаев к развитию заболевания приводит экспансия тринуклеотидных повторов гуанин-аденин-аденин (GAA) в первом интроне гена *FXN* (в обоих его аллелях). На долю остальных случаев приходится компаунд-гетерозиготное носительство GAA-экспансии в одном аллеле в сочетании с иным патогенным вариантом в другом. Считается, что экспансия GAA-повторов более 30 является патогенной. По данным исследований, существует ряд клинико-генетических взаимосвязей. Так, величина GAA-экспансии на меньшем аллеле имеет отрицательную корреляцию с возрастом дебюта АФ. Кроме того, более крупные экспансии приводят к развитию более тяжёлого фенотипа с ранним началом, быстрым прогрессированием и большей выраженностью кардиальных и метаболических нарушений.

АФ характеризуется сложным фенотипом, включающим неврологические проявления, кардиологические нарушения, а также нарушения углеводного обмена и скелетные деформации.

Клинические проявления со стороны нервной системы характеризуются широким спектром симптомов. Наиболее ранним симптомом АФ является исчезновение глубоких рефлексов с развитием тотальной арефлексии. Затем присоединяются атаксия при ходьбе (неловкость, неуверенность, пошатывание, спотыкание), нарушение координации в руках, изменение почерка, прогрессирует расстройство глубокой чувствительности, развивается мышечная гипотония. Характерны деформации скелета, такие как сколиоз и полая стопа. На поздних стадиях болезни больные перестают самостоятельно ходить и обслуживать себя.

Помимо типичных неврологических расстройств в 90% случаев АФ также связана с прогрессирующей гипертрофической кардиомиопатией, которая является наиболее частой причиной смерти у таких больных вследствие декомпенсации сердечной недостаточности или развития опасных нарушений ритма сердца. При гистологическом исследовании в миокарде левого желудочка выявляются гипертрофия кардиомиоцитов, диффузный фиброз и очаговый некроз миокарда, что и является субстратом для смертельных осложнений. Стоит отметить, что развитие неврологических расстройств имеет более последовательное вовлечение структур и неуклонное прогрессирование до инвалидизации, чего нельзя сказать о поражении сердца. Кардиальная симптоматика может манифестировать как совместно с неврологическими расстройствами, так и быть значительно отсроченной, может быстро прогрессировать до летального исхода, а может и длительное время оставаться в стабильном состоянии.

Описаны и атипичные фенотипические варианты: АФ с поздним началом (после 25 лет) или с очень поздним началом (после 40 лет). Они характеризуются значительно более медленными темпами прогрессирования, меньшей частотой развития кардиомиопатии, сахарного диабета и деформаций скелета. В клинической картине при этом часто выявляется спастичность в ногах при небольшой выраженности атаксии [2].

Клинический случай

Пациент 27 лет поступил в ФГБУ НМИЦ ПМ МЗ РФ с жалобами на одышку при значительных физических нагрузках, дискомфорт в левой половине грудной клетки, шаткость и неустойчивость при ходьбе, нарушение координации движений, нечёткость речи, изменение почерка, периодическое дрожание правой руки и головы, изменение характера (стал более вспыльчивым).

Из анамнеза известно, что впервые отметил незначительное изменение походки в 2014г, по поводу чего в местной городской больнице проводилась неспецифическая терапия без какого-либо эффекта. Тогда же впервые стал беспокоить дискомфорт в грудной клетке, появились ощущения перебоев в работе сердца, которым пациент значения не придавал и по этому поводу за медицинской помощью не обращался.

В 2015г после сильного эмоционального стресса (смерть отца) выраженность симптомов значительно выросла, а также появились трудности в произнесении слов, ухудшился почерк, пациент отметил появления дрожания головы и правой руки. Обратил также внимание на усиление выраженности дискомфорта в грудной клетке и одышки при значительных

физических нагрузках. По месту жительства было проведено обследование. По данным эхокардиографии (Эхо-КГ) выявлена симметричная гипертрофия миокарда задней стенки левого желудочка (ЗСЛЖ) и межжелудочковой перегородки (МЖП) до 1,6 см. При коронароангиографии гемодинамически значимого изменения коронарных артерий выявлено не было. На основании полученных данных установлен диагноз “гипертрофической кардиомиопатии без обструкции выносящего тракта левого желудочка”. В дальнейшем пациент неоднократно обращался к неврологам, однако диагностическая концепция оставалась неясной.

В декабре 2016г в связи с усугублением дискомфорта в грудной клетке и одышки при физических нагрузках пациент госпитализирован в стационар ФГБУ НМИЦ ПМ МЗ РФ.

Из общего анамнеза известно, что пациент курит на протяжении 8 лет (около 10 сигарет в сутки). Семейный анамнез: детей нет; мать (49 лет, грузинка) — клинически здорова, отец (абхазец) умер в 42 года (внезапная сердечная смерть); есть родная сестра 24 года — клинически здорова.

При осмотре: пациент астенического телосложения, мышечная система развита слабо. Кожный покров бледный. Частота дыхательных движений — 19/мин. При аускультации легких дыхание с жестким оттенком, хрипов нет. Границы сердца не смещены. Тоны сердца ясные, ритмичные. ЧСС 75/мин, АД 110/70 мм рт.ст. Размеры печени и селезенки при перкуссии не увеличены. Отеков нижних конечностей нет.

В неврологическом статусе выявлены нарушения плавности следящих движений глаз в горизонтальной и вертикальной плоскостях, сходящееся косоглазие за счет левого глаза (левый глаз не доводит кнаружи на 3 мм). Умеренная дизартрия. Мышечный тонус несколько снижен. Глубокие рефлексы с рук и ног D=S, живые. Патологических стопных знаков нет. Походка атаксическая. Эпизодически — титубация головы и туловища. Непостоянный постуральный тремор правой руки. Координаторные пробы в руках выполняет с интенционным тремором. Дизметрия при выполнении пальце-носовой и пяточно-коленной проб. Диздиадохокinesis. В пробе Ромберга — пошатывание. Тандемная ходьба значительно нарушена. Нарушений чувствительности при осмотре не определяется. Функции тазовых органов контролирует. Оценка по Монреальской шкале оценки когнитивных функций (MoCA) — 22 балла, что с учетом функциональной сохранности повседневной активности пациента соответствует легким когнитивным нарушениям. Оценка по шкале SARA (англ. Scale for the assessment and rating of ataxia — шкала для оценки атаксии) — 9 баллов (негрубые нарушения). Оценка по шкале ICARS (англ. International

Cooperative Ataxia Rating Scale — международная объединенная шкала оценки атаксии) — 28 баллов.

Проведено лабораторное обследование. Общий анализ крови — без особенностей. В биохимическом анализе крови уровень глюкозы, показатели функции почек, печени, креатинфосфокиназа — в пределах референсных значений. Уровень мозгового натрийуретического пептида не изменен.

На ЭКГ при поступлении регистрировалась синусовая брадикардия с ЧСС 50/мин. Нормальное положение электрической оси сердца. Вольтаж нормальный. Неспецифические изменения сегмента ST и зубца T (зубцы T плоские в отведениях I и aVL, двухфазные в II, III, V6).

При проведении Эхо-КГ выявлена симметричная гипертрофия стенок левого желудочка без признаков обструкции выносящего тракта левого желудочка (ВТ ЛЖ) в покое; толщина МЖП в диастолу в ВТ ЛЖ 1,7 см, задней стенки — 1,7 см. Кроме того, отмечались признаки некомпактного миокарда левого желудочка (НМЛЖ) в области верхушки, боковой стенки (критерий Столбергера), где толщина миокарда достигала 2 см. Также обращала на себя внимание различная степень эхогенности стенок левого желудочка. В остальном без особенностей: глобальная систолическая функция ЛЖ сохранена (ФВ ЛЖ по Simpson 57%), камеры сердца не расширены, признаков легочной гипертензии нет.

ЭКГ-картина, нехарактерная для гипертрофической кардиомиопатии (ГКМП), симметричная гипертрофия и неоднородная эхогенность миокарда, признаки НМЛЖ, а также неврологическая симптоматика не позволяли исключить наличие у пациента лизосомальных болезней накопления (болезнь Помпе, болезнь Фабри, болезнь Данона, болезнь Ниманна-Пика типа С) и митохондриальную патологию (проявляющуюся в том числе кардиомиопатиями с НМЛЖ), что потребовало проведения дополнительного инструментального и молекулярно-генетического обследования, а также консультаций клинического генетика и невролога.

В ходе дальнейшего диагностического поиска при проведении магнитно-резонансной томографии (МРТ) сердца с контрастным усилением подтвердилась картина симметричной гипертрофии миокарда левого желудочка без расширения камер сердца и нарушения его функции с признаками наличия интрамиокардиального фиброза (рис. 1). После в/в введения контрастного препарата в отсроченную фазу (через 10-15 минут) определялось диффузное субэпикардальное контрастирование миокарда базального сегмента переднебоковой стенки левого желудочка, в среднем сегменте распространяющееся на все слои стенки миокарда (рис. 2). МРТ спинного мозга показала истончение спинного мозга в грудном отделе до 4 мм (рис. 3). МРТ головного мозга —

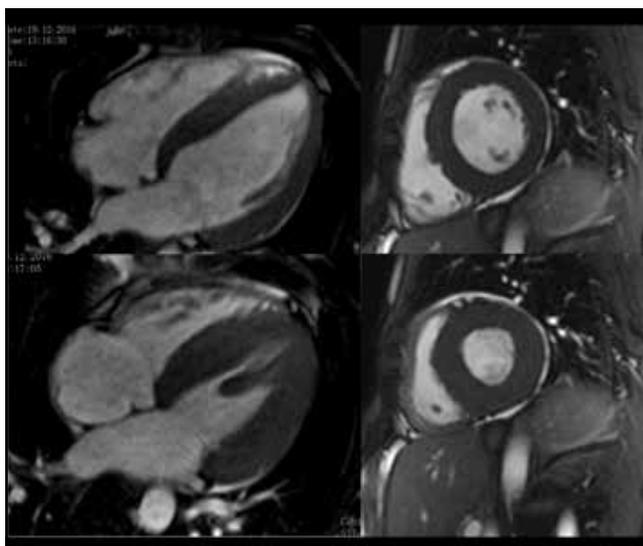


Рис. 1. МРТ сердца. Концентрическая гипертрофия миокарда без признаков дилатации камер сердца.

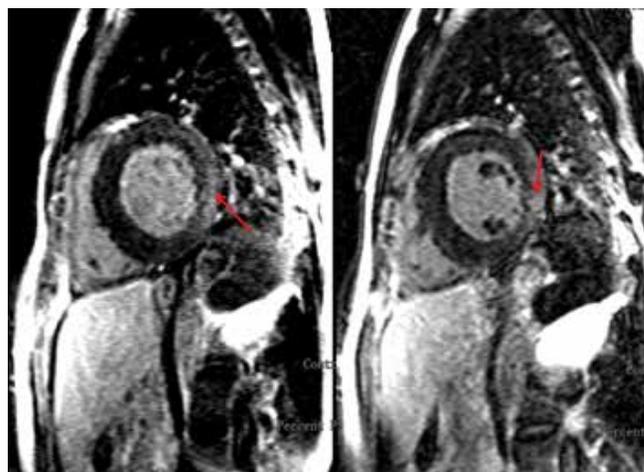


Рис. 2. МРТ сердца в отсроченную фазу контрастирования (через 10-15 минут после в/в введения контрастного вещества). Определяется диффузное суб-эпикардальное контрастирование миокарда базального сегмента передне-боковой стенки левого желудочка, в среднем сегменте распространяющееся на все слои стенки.



Рис. 3 (А, Б). МРТ спинного мозга. **А** — истончение спинного мозга в грудном отделе (на уровне Th 3 — Th 11) до 4 мм; **Б** — в шейном отделе и на уровне Th12 диаметр спинного мозга не изменен.

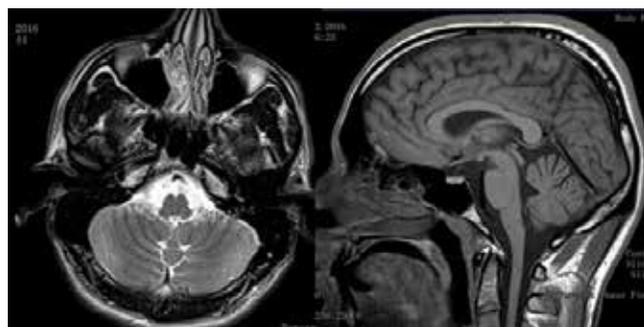


Рис. 4. МРТ головного мозга: на аксиальных и сагиттальных срезах вещество мозжечка интактно.

без особенностей (в т.ч. со стороны мозжечка) (рис. 4).

По данным ультразвукового исследования органов брюшной полости, признаков структурных изменений паренхимы органов не выявлено.

При осмотре офтальмологом признаков поражения зрительного нерва выявлено не было.

По результатам консультации невролога рекомендовано проведение дифференциального диагноза между наследственными мозжечковыми атаксиями и болезнями обмена с преимущественным поражением мозжечка и базальных ядер.

В ходе дальнейшей консультации врачом-генетиком рекомендовано проведение дообследования для исключения лизосомальных болезней накопления (болезнь Помпе, болезнь Фабри, болезнь Ниманна-Пика типа С), митохондриальной патологии, наследственных нейродегенеративных заболеваний.

Методом тандемной масс-спектрометрии (ESI-MS/MS) было проведено определение активности ферментов α -D-галактозидазы в крови (7,84 мкмоль/литр/час — болезнь Фабри исключена), β -глюкоцереброзидазы в сухих пятнах крови (13,30 мкмоль/литр/час — болезнь Гоше исключена). Нормальные значения активности кислой альфа-глюкозидазы позволили исключить болезнь Помпе.

На основании нормальных значений содержания триола (5,9 нг/мл), 7-кетохолестерина (28,8 нг/мл) и активности хитотриозидазы в крови (10 нмоль/ч/мл) была также исключена болезнь Ниманна-Пика типа С.

Вместе с тем, по результатам исследования гена *FXN*, в двух хромосомах выявлена патологическая экспансия GAA-повторов (более 33), что подтвердило диагноз АФ.

Относительно позднее начало заболевания может быть обусловлено небольшой величиной GAA-экспансии (больше популяционного, но меньше необхо-

Таблица 1

Характеристика находок при Эхо-КГ при гипертрофии миокарда левого желудочка различной этиологии

Заболевание	Максимальная диастолическая толщина стенки миокарда	Фракция выброса левого желудочка	Региональная сократимость	Диастолическая функция	Обструкция выносящего тракта левого желудочка	Специфические особенности
АФ	15 мм	Норма или незначительно снижена	Незначительно снижена	Замедление расслабления	Нет	“Зернистая” структура
Спортивное сердце	14 мм	Норма	Норма или повышена	Норма	Нет	Незначительное увеличение размеров ЛЖ
Обструктивная ГКМП	>20 мм	Норма	Явно снижена	Замедление расслабления	Да	Ассиметричная гипертрофия
Артериальная гипертензия	15 мм	Норма	Незначительно снижена	Замедление расслабления	Нет	Преимущественно базальные отделы перегородки
Амилоидоз	14 мм	Норма или незначительно снижена	Явно снижена	Псевдо-нормализация/рестрикция	Нет	“Зернистая” структура
Болезнь Фабри	15 мм	Норма	Умеренно снижена	Замедление расслабления	Нет	Гипертрофия папиллярных мышц
Некомпактный миокард	25 мм	Снижена	Незначительно/умеренно снижена	Замедление расслабления	Нет	Повышенная трабекулярность

димого для раннего развития заболевания). Учитывая, что патология сердца является основной причиной смерти при АФ, пациенту рекомендовано наблюдение и лечение у кардиолога.

На фоне лечения диуретиками, ингибиторами ангиотензин-превращающего фермента, β -адреноблокаторами, антагонистами минералокортикоидных рецепторов, антагонистами кальция, а также антиоксидантами (витамин Е, идебенон), флуоксетином и ривастигнином состояние пациента улучшилось: регрессировала одышка, улучшились походка и движения, нормализовался эмоциональный фон. Пациент продолжает наблюдаться кардиологом и неврологом.

Обсуждение

Сердечная недостаточность является причиной смерти у 60% пациентов с АФ. Однако нередко первые клинические проявления сердечной недостаточности значительно отсрочены во времени от момента дебюта неврологических нарушений, что обусловлено снижением физической активности больных, часто значительно ограниченных в двигательной активности вследствие неврологического дефицита.

На Эхо-КГ в подавляющем большинстве случаев выявляется симметричная гипертрофия миокарда без признаков обструкции выносящего тракта, при этом, максимальная толщина стенок ЛЖ не превышает 1,5–2,0 см. Выявление гипертрофии миокарда не является сложной задачей — достаточно данных Эхо-КГ.

Порой наибольшие трудности представляет установление причины выявленной гипертрофии. Кардиомиопатия при АФ не обладает какими-либо характерными признаками, поэтому только комплексный анализ кардиологических и сопутствующих неврологических нарушений в сочетании с данными нейровизуализации может позволить с большой степенью вероятности заподозрить верный диагноз (табл. 1) [3]. Как и при амилоидозе сердца, миокард при АФ имеет “зернистую” структуру, однако нет признаков рестрикции и поражения других органов (наиболее характерно для AL-амилоидоза) [4]. Отличие ГКМП состоит в более выраженной гипертрофии миокарда (как правило, толщина стенки левого желудочка более 20 мм) и формировании обструкции выносящего тракта левого желудочка, что не является характерным для кардиомиопатии при АФ. При диагностике некомпактной кардиомиопатии левого желудочка руководствуются критериями Столбергера, которые включают в себя наличие не менее трех отдельных трабекул, а также соотношение толщины некомпактного слоя и компактного более 2,0 [5].

Выявление отличительных качественных и количественных характеристик кардиомиопатии при АФ (например, закономерная локализация и распространенность зон фиброза) может позволить проводить своевременную верификацию диагноза и соответственно раньше начинать терапию. Стоит отметить, что на протяжении достаточно долгого времени показатели глобальной систолической и диастолической функций миокарда, а также размеры камер сердца

остаются в пределах нормальных значений. Примечательно, что на ранних стадиях сохраняя фракция выброса левого желудочка сочетается со снижением ударного объема, что, вероятно, обусловлено концентрическим ремоделированием миокарда. Только на поздних стадиях отмечается дилатация полостей и снижение сократительной способности миокарда. Такая динамика, в первую очередь, обусловлена развивающимся интрамиокардиальным фиброзом, в местах скопления которого происходит истончение стенок, что и приводит к ремоделированию и снижению насосной функции. Наличие фиброза обуславливает также неоднородную эхогенность миокарда, которая наряду с симметричной выраженной гипертрофией миокарда заставляет проводить дифференциальную диагностику с болезнями накопления с поражением миокарда.

По данным литературы, при проведении МРТ сердца даже на доклинической стадии и в отсутствии выраженной гипертрофии уже выявляются снижение перфузионного резерва миокарда и признаки фиброза. Эта находка может стать ключом к диагностике кардиомиопатии на более ранних стадиях АФ, когда начало лечения более эффективно в отношении прогрессирования сердечной недостаточности. Имеются предположения, что нарушение микроциркуляции миокарда и снижение перфузионного резерва обусловлены не собственно избытком железа в органеллах (как при гемохроматозе или талассемии), а нарушением тканевого дыхания из-за повреждения митохондрий. Эта гипотеза высказывается, в том числе, на основании данных перфузионной МРТ в покое у пациентов с ишемической симптоматикой и интактными коронарными сосудами. Несмотря на формирование концентрической гипертрофии миокарда, у пациентов с АФ на ЭКГ отсутствуют типичные для гипертрофической кардиомиопатии изменения. Даже у пациентов с выраженным утолщением стенки левого желудочка не выявляется удлинение интервала QRS, что исключает вовлеченность ножек пучка Гиса. В то же время, более чем у 90% пациентов на ЭКГ регистрируются отклонения от нормы, характеризующиеся преимущественно изменением сегмента ST-T в виде инверсии или уплощения зубца T в левых грудных отведениях; на более поздних стадиях АФ регистрируется увеличение амплитуды зубца R в отведениях V5-V6 и зубца

S — в V1-V2, что является общим признаком гипертрофии миокарда левого желудочка. Анализ интервала QT не выявляет изменения его продолжительности, что не влияет на восприимчивость миокарда к развитию злокачественных желудочковых аритмий. Вместе с тем, наличие диастолической дисфункции и увеличение давления наполнения желудочков может провоцировать развитие суправентрикулярных аритмий, таких как фибрилляция и трепетание предсердий [6, 7].

Стоит отметить, что наряду с развитием гипертрофии миокарда левого желудочка у пациентов с АФ крайне редко регистрируются жизнеугрожающие желудочковые нарушения ритма, типичные для пациентов с ГКМП. Это различие обусловлено разной структурной морфологией кардиомиоцитов МЖП. Так, при развитии первичной ГКМП увеличивается не только длина и толщина кардиомиоцитов, но меняется и их пространственная ориентация, т.е. кардиомиоциты межжелудочковой перегородки располагаются поперечно, а не продольно. Подобных морфологических признаков при аутопсии не выявляется у пациентов с кардиомиопатией при АФ, что, по всей видимости, и обуславливает низкую частоту развития желудочковых аритмий [8-13].

Заключение

Представленный клинический случай достаточно ярко продемонстрировал дебют заболевания с одномоментным развитием как неврологической, так и кардиальной симптоматики. Несмотря на то, что с момента описания АФ прошло уже более 150 лет, остается много нерешенных вопросов в отношении диагностики и лечения этого заболевания. Особый интерес и в то же время сложность представляет изучение кардиологической составляющей данной патологии, т.к. у 60% пациентов продолжительность жизни обусловлена именно степенью нарушения функции сердца. В настоящее время не разработаны методы ранней диагностики и прогнозирования течения сердечной недостаточности у пациентов с АФ. В этой связи особый интерес представляет дальнейшее изучение данной патологии и проведение дополнительных исследований с целью поиска ранних маркеров поражения сердца, которые могли бы позволить проводить более раннее, а, соответственно, и более эффективное, лечение.

Литература

1. Ershova MV, Illarionovskiy SN. Molecular basis of Friedreich's disease. *Journal of Neurology and Psychiatry*. C. C. Korsakov. 2003; 103 (2): 61-7 (In Russ.) Ершова М.В., Илларионовский С.Н. Молекулярные основы болезни Фридрейха. *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова*. 2003; 103 (2): 61-7.
2. Illarionovskiy SN, Ershova MV, Bagyeva GK, et al. Atypical phenotypes of Friedreich's disease: DNA analysis and clinical-genetic comparisons. *Medical genetics*. 2004; 3 (1): 36-42. (In Russ.) Илларионовский С.Н., Ершова М.В., Багыева Г.Х., и др. Атипичные фенотипы болезни Фридрейха: ДНК-анализ и клинико-генетические сопоставления. *Медицинская генетика*. 2004; 3 (1): 36-42.
3. Weidemann F, Stork S, Liu D, et al. Cardiomyopathy of Friedreich Ataxia. *Jou of neurochemistry*. 2013; 126 (Suppl. 1): 88-93.
4. Myasnikov RP, Andreenko EY, Kushunina DV, et al. Amyloidosis of the heart: modern aspects of diagnosis and treatment (clinical observation). *Wedge. And experiment. hir. Jour. them. acad. B.V. Petrovsky*. 2014; 4: 72-82. (In Russ.) Мясников Р.П., Андреевко Е.Ю., Кушунина Д.В., и др. Амилоидоз сердца: современные аспекты диагностики и лечения (клиническое наблюдение). *Клин. И эксперимент. хир. Журн. им. акад. Б.В. Петровского*. 2014; 4: 72-82.
5. Merschina EA, Myasnikov RP, Kulikova OV, et al. Non-compact cardiomyopathy of the left ventricle: clinical features and diagnostic capabilities. *Rational pharmacotherapy in cardiology* 2015; 11 (6): 638-42. (In Russ.) Мершина Е.А., Мясников Р.П., Куликова О.В., и др. Некомпактная кардиомиопатия левого желудочка: особенности клинического течения и возможности диагностики. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии* 2015; 11 (6): 638-42.
6. Gregory S, Macrae C, Aziz K, et al. Myocardial blood flow and oxygen consumption in patients with Friedreich's ataxia prior to the onset of cardiomyopathy. *Coron Artery Dis*. 2007; 18: 15-22.
7. Dedobbeleer C, Rai M, Donal E, et al. Normal left ventricular ejection fraction and mass but subclinical myocardial dysfunction in patients with Friedreich's ataxia. *Eur.Heart J. Cardiovasc*. 2012; 13: 346-52.
8. Rajagopalan B, Francis J, Cooke F, et al. Analysis of the factors influencing the cardiac phenotype in Friedreich's ataxia. *Mov. Disord*. 2010; 25: 846-52.
9. Koeppen A, Ramirez R, Becker A, et al. The pathogenesis of cardiomyopathy in Friedreich ataxia, *PLoS One*. 2015; 105e0116396.
10. Weidemann F, Niemann M, Ertl G, and Stork S. The different faces of echocardiographic left ventricular hypertrophy: clues to the etiology. *J. Am. Soc. Echocardiogr*. 2010; 23: 793-801.
11. Tsou A, Paulsen E, Lagedroost SJ, et al. Mortality in Friedreich ataxia. *J Neurol Sci*. 2011; 307 (1-2): 46-9.
12. Weidemann F, Liu D, Hu K, et al. The cardiomyopathy in Friedreich ataxia - New biomarker for staging cardiac involvement, *Int. J. Cardiol*. 2015; 1 (94): 50-7.
13. Bruder O, Wagner A, Jensen C, et al. Myocardial scar visualized by cardiovascular magnetic resonance imaging predicts major adverse events in patients with hypertrophic cardiomyopathy, *J. Am. Coll. Cardiol*. 2010; 56: 875-87.

ГЕНОТИПЫ И СЫВОРОТОЧНЫЕ УРОВНИ АПОЛИПОПРОТЕИНА E И ПАРАОКСОНАЗЫ 1 ПРИ КАЛЬЦИНИРОВАННОМ СТЕНОЗЕ КЛАПАНА АОРТЫ

Щеглова Е. В.¹, Лайпанова А. И.¹, Байкулова М. К.², Чотчаева З. К.¹, Рогова С. Ш.¹, Колесников В. Н.², Боева О. И.¹

Цель. Аполипопротеин E (АпоЕ) и параоксоназа 1 (ПОН1) участвуют в регуляции уровня липопротеинов крови, как и в их гидролизе и окислении. Мы предположили, что индивидуальные аллели генов *apoE* и *PON1*, вместе с изменениями концентрации данных молекул, вносят вклад в развитие кальцинированного стеноза клапана аорты (КСКА).

Материал и методы. Группа исследования включила 108 участников с КСКА и 46 пациентов без признаков стеноза клапана аорты. Сывороточные уровни АпоЕ и ПОН1 измеряли методом ELISA, мутацию Leu28Pro в гене *apoE* (rs429358) и мутацию Gln192Arg в гене *PON1* (rs662) выявляли методом ПЦР SNP-EXPRESS электрофореза.

Результаты. Повышенные уровни АпоЕ (0,05 vs 0,03 мкг/л, $p < 0,001$) и ПОН1 (4,8 vs 3,4 мкг/мл, $p < 0,05$) были выявлены у пациентов с КСКА. Частоты полиморфизмов аллелей генов АпоЕ и ПОН1 были одинаковы в обеих группах. Аллель 28Pro гена АпоЕ был ассоциирован с повышенным уровнем липопротеинов низкой плотности у группы с КСКА ($3,9 \pm 1,05$ vs $3,13 \pm 1,08$ ммоль/л, $p < 0,02$) и общего холестерина — у контроля ($6,2$; $6,5$ vs $5,11 \pm 0,89$ ммоль/л, $p < 0,05$). Генотип *PON1* не оказывал влияния на обмен липидов при КСКА. Контрольная группа с аллелем 192Gln показала сниженный уровень АпоЕ (0,02 vs 0,05 мкг/л, $p < 0,01$) и повышенную концентрацию в сыворотке ПОН1 (4,1 vs 3,3 мкг/мл, $p < 0,01$).

Заключение. У пациентов с КСКА повышен сывороточный уровень АпоЕ и ПОН1; уровень АпоЕ — независимый предиктор кальциноза аорты. Маркеры полиморфизмов Gln192Arg гена *PON1* и Leu28Pro гена *apoE* не ассоциированы с КСКА.

Ключевые слова: аполипопротеин E, параоксоназа 1, полиморфизмы генов, кальцинированный стеноз аорты.

¹ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет Минздрава России, Ставрополь; ²ГБУЗ СК Краевой клинический кардиологический диспансер, Ставрополь, Россия.

Боева О. И.* — д.м.н., зав. кафедрой медицинской радиологии, Щеглова Е. В. — к.м.н., ассистент кафедры клинической физиологии, кардиологии с курсом интроскопии, Лайпанова А. И. — соискатель кафедры клинической физиологии, кардиологии с курсом интроскопии, Байкулова М. Х. — врач-кардиолог, Чотчаева З. Х. — аспирант кафедры клинической физиологии, кардиологии с курсом интроскопии, Рогова С. Ш. — доцент кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом бактериологии, Колесников В. Н. — главный врач.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): box0271@mail.ru.

CAVS — calcific aortic valve stenosis, IHD — ischemic heart disease, apoE — apolipoprotein E, PON1 — paraoxonase 1, LDL — low-density lipoproteins, VLDL — very low-density lipoproteins, HDL — high-density lipoproteins.

Рукопись получена 07.02.2017

Рецензия получена 03.03.2017

Принята к публикации 07.04.2017

Российский кардиологический журнал 2017, 10 (150): 107–112

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-107-112>

GENOTYPES AND SERUM LEVELS OF APOLIPOPROTEIN E AND PARAOXONASE 1 IN CALCIFIC AORTIC VALVE STENOSIS

Shcheglova E. V.¹, Laipanova A. I.¹, Baikulova M. K.², Chotchaeva Z. K.¹, Rogova S. Sh.¹, Kolesnikov V. N.², Boeva O. I.¹

Aim. Apolipoprotein E (apoE) and paraoxonase 1 (PON1) participate in regulation of blood lipoprotein levels, as well as in their hydrolysis and oxidation. We assumed that individual alleles of the *apoE* and *PON1* genes, along with the changes in concentrations of these substances, contribute to the development of calcific aortic valve stenosis (CAVS).

Material and methods. The study group included 108 patients with CAVS and 46 patients without any signs of the aortic valve lesions were determined. The serum apoE and PON1 levels were measured by ELISA, the Leu28Pro mutation in the *apoE* (rs429358) gene and the Gln192Arg mutation in the *PON1* (rs662) gene were detected using PCR SNP-EXPRESS electrophoresis detection scheme.

Results. Increased serum levels of apoE (0,05 vs 0,03 $\mu\text{g/l}$, $p < 0,001$) and PON1 (4,8 vs 3,4 $\mu\text{g/ml}$, $p < 0,05$) were detected in CAVS patients. The frequencies of allelic polymorphisms of the apoE and PON1 genes were similar in the two groups. 28Pro allele of the apoE gene was associated with increased level of low density lipoproteins in CAVS ($3,9 \pm 1,05$ vs $3,13 \pm 1,08$ mmol/l, $p < 0,02$) and total cholesterol in the controls ($6,2$; $6,5$ vs $5,11 \pm 0,89$ mmol/l, $p < 0,05$). The *PON1* genotype had no

effect on lipid metabolism in CAVS patients. Controls with 192Gln allele demonstrated decreased blood levels of apoE (0,02 vs 0,05 $\mu\text{g/l}$, $p < 0,01$) and increased PON1 serum concentration (4,1 vs 3,3 $\mu\text{g/ml}$, $p < 0,01$).

Conclusions. CAVS patients have increased serum levels of apoE and PON1; the apoE level is an independent predictor of aortic calcification. Polymorphic markers Gln192Arg of the *PON1* gene and Leu28Pro of the *apoE* gene are not associated with CAVS.

Russ J Cardiol 2017, 10 (150): 107–112

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-107-112>

Key words: apolipoprotein E, paraoxonase 1, gene polymorphism, calcific aortic stenosis.

¹Stavropol State Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Stavropol; ²Regional Clinical Center of Cardiology, Stavropol, Russia.

Introduction

Calcific aortic valve stenosis (CAVS) is the progressive non-rheumatic thickening and calcification of aortic semilunar cusps. This pathology is known to be triggered by hyperlipidemia and local inflammatory process.

A thorough analysis of the lipid profile in the CAVS patient population revealed increased levels of total cholesterol and atherogenic lipid fractions [1]. The total cholesterol level in these patients is higher even than that in patients with ischemic heart disease (IHD) after

coronary bypass surgery. However, only 40% of CAVS patients have hemodynamically significant coronary artery stenosis, while aortic stenosis is revealed in only 2% of patients with severe IHD [2].

Oxidized lipoproteins are deposited on the valve cusps, where they interact with T-cells and macrophages. This interaction initiates expression of inflammatory cytokines followed by valve matrix remodeling and formation of fibrotic and calcification areas [3].

Apolipoprotein E (apoE) regulates the plasma level of lipoproteins and triglycerides. The key role of apoE is transferring circulating lipoproteins from plasma into the cells. Furthermore, apoE participates in vascular wall inflammation by presenting lipid antigens in the immune [4]. Oxidation of low-density lipoproteins (LDL) and very low-density lipoproteins (VLDL) in plasma is inhibited by substances with antioxidant activity of high-density lipoproteins (HDL). Antioxidant and anti-atherogenic activity of HDL is attributed to paraoxonase 1 (PON1). PON1 inhibits lipid hydrolysis in LDL, differentiation of monocytes to macrophages, entrapment of oxidized LDL by macrophages, and conversion of macrophages to foam

cells [5]. The role of apoE and PON1 in the development of aortic calcification is controversial; however, association of their biological functions with lipid metabolism and vascular endothelial injury may indicate their involvement in the disease mechanisms.

Polymorphisms of the *apoE* and *PON1* genes causing development of cardiovascular pathology have been reported. *PON1* 192Arg (rs662, Gln192Arg) carriers have an increased risk of coronary atherosclerosis and acute coronary events [6], while *apoE* Leu28Pro polymorphism (rs429358) is associated with lipid metabolism abnormalities [7].

There is a concept that CAVS is a genetically determined disease; gene candidates of this pathology have been reported sporadically [8]. Our hypothesis is that some alleles of the *apoE* and *PON1* genes, along with the changes in concentrations of these substances, may cause development of CAVS. We studied frequency of allelic polymorphisms of the *PON1* (rs662) and *apoE* (rs429358) genes and measured PON1 and apoE levels in blood serum of CAVS patients and in patients without any signs of aortic valve lesions.

Table 1

Demographic and clinical profile of the study participants

Indicator	CAVS patients (n=108)	Control group (n=46)	p
Age, years	72.5±7.5	70.1±5.9	0.09
Males	49 (45%)	24 (49%)	0.55
BMI (kg/m ²)	29.6±4.5	29.1±3.7	0.11
Concomitant pathology			
Hypertension	105 (95%)	42 (87.5)	0.23
Angina	90 (82%)	37 (80%)	0.84
Diabetes mellitus	14 (13%)	6 (13%)	0.80
Drug therapy:			
acetylsalicylic acid	69 (63%)	36 (78%)	0.11
warfarin	30 (27%)	8 (17%)	0.24
statins	61 (56%)	32 (67%)	0.18
β-adrenoblockers	66 (60%)	34 (74%)	0.18
calcium channel blockers	38 (35%)	14 (30%)	0.70
ACE inhibitors	46 (42%)	26 (54%)	0.16
angiotensin II receptor blockers	35 (32%)	14 (30%)	0.95
Echocardiographic data:			
LVEDD, cm	5.62±0.62	5.36±0.44	0.054
LVESD, cm	3.96±0.68	3.71±0.39	0.010
LVPW, cm	1.05±0.1	1.0±0.06	0.001
IVSd, cm	1.25±0.18	1.1±0.17	0.062
EDV, cm ³	158.44±46.9	137.2±27.61	0.005
ESV, cm ³	73.35±32	58.8±17.88	0.057
SV, cm ³	86.77±17.4	78.2±1.32	0.042
LA, cm	4.73±0.82	4.21±0.56	0.002
EF, %	55.1±6.41	57.67±4.27	0.049
Separation of AV, mm	13.53±5.58	19.53±0.97	0.0001
Transaortic flow velocity, m/s	219.16±93.01	119.73±19.83	0.0001

Abbreviations: BMI — body mass index; ACE — angiotensin converting enzyme, LVEDD — left ventricular end-diastolic dimension, LVESD — left ventricular end-systolic dimension, LVPW — left ventricular posterior wall, IVSd — interventricular septal thickness at diastole, EDV — end-diastolic volume, ESV — end-systolic volume, SV — stroke volume, LA — left atrium, EF — ejection fraction, AV — aortic valve.

Table 2

**Genotypes and alleles of polymorphic markers of the *PON1* and *apoE* genes
in patients with calcific aortic valve stenosis and in the control group**

Polymorphism	Genotype	CAVS patients (n=108)	Control group (n=46)	p
<i>apoE</i> gene (rs429358)				
	Leu28Leu	100 (93%)	44 (96%)	0.8*
	Leu28Pro	7 (6%)	2 (4%)	
	Pro28Pro	1 (1%)	0	
	Allele frequencies			0.59
	28Leu	207 (96%)	90 (98%)	
28Pro	9 (4%)	2 (2%)		
<i>PON1</i> gene (rs662)				
	Arg192Arg	65 (60%)	24 (50%)	0.364
	Gln192Arg	34 (31%)	20 (43%)	
	Gln192Gln	9 (9%)	2 (7%)	
	Allele frequencies			0.81
	192Arg	164 (76%)	68 (71%)	
192Gln	52 (24%)	24 (29%)		

Note: * — Since the control group contained no carriers of the Pro28Pro genotype, the Pro28Pro and Leu28Pro genotypes were combined during statistical processing.

Material and methods

Study population. This was an open, non-randomized, comparative case-control study. Study group included 108 patients with calcific aortic valve stenosis (≥ 65 years) who received hospital care at the Regional Clinical Center of Cardiology in 2010-2012. Aortic valve calcification was confirmed by transthoracic echocardiography. Aortic stenosis was diagnosed in accordance with the recent international guidelines [9]. The exclusion criteria were congenital anomalies of aortic valve and/or past history of surgical correction of malformations, chronic rheumatic heart disease, infra- or supra-avalvular aortic stenosis, chronic kidney disease, parathyroid gland disorders, and neoplasms. The control group included 46 patients without any signs of aortic valve lesions matched for sex, age, concomitant cardiovascular pathology, and received therapy. The study followed the principles of the Declaration of Helsinki and Good clinical practice and complied with all local regulations. The study was approved by the Ethics Committee of the Stavropol State Medical University. All the patients provided written informed consent.

Demographic and clinical profile of the enlisted patients is shown in Table 1. Mean age of CAVS patients was 72.5 ± 7.5 years. CAVS patients were generally characterized by a more pronounced heart chamber remodeling: left ventricular hypertrophy and dilatation with moderately reduced ejection fraction and increased left atrial and left ventricular size (Table 1).

Laboratory testing. The serum apoE and PON1 levels were measured by ELISA using AssayMax Human Apolipoprotein E ELISA Kit (Assaypro, USA) and Human serum paraoxonase 1 (PON1) ELISA Kit (Aviscera Bioscience Inc., USA) in accordance with the manufacturer's protocols.

DNA was isolated from whole blood leukocytes using a DNA-sorb-C kit (Central Research Institute of Epidemiology, Federal Service on Customers' Rights Protection and Human Wellbeing Surveillance, Russia). The Leu28Pro mutation in the *apoE* (rs429358) gene and the Gln192Arg mutation in the *PON1* (rs662) gene were detected with commercially available kits using PCR SNP-EXPRESS electrophoresis detection scheme (Research and Production Company Litekh, Russia).

Statistical analysis. Statistical analysis was performed using IBM SPSS Statistics 21 for Windows (IBM SPSS Inc., USA). For the normal distribution, indicators were shown as the mean values and standard deviation ($M \pm \sigma$); the differences between groups were assessed using single-factor dispersion analysis and Fischer's test. The non-normally distributed data were represented as a median and interquartile range ($Me (Q1-Q3)$); the differences between groups were analyzed using the Mann-Whitney U-test. The Spearman's rank correlation coefficient r was calculated. The qualitative indicators were represented as absolute values (%). The chi-squared test and Fischer's exact test were used to compare fractions. Stepwise binary logistic regression with calculation of the Wald statistics was used to reveal independent predictors of CAVS. Differences at $p < 0.05$ were considered to be significant.

Results

No significant differences in the mean levels of total cholesterol, cholesterol fractions, and triglycerides were found in both groups. Study group patients were characterized by lower serum Ca^{2+} levels (1.17 ± 0.06 vs 1.25 ± 0.14 mmol/l, $p = 0.0005$) and elevated apoE levels ($0.05 (0.03-0.09)$ vs $0.03 (0.02-0.04)$ $\mu\text{g/l}$, $p = 0.0001$) and

Table 3

Concentrations of lipid fractions, PON1, and apoE in blood serum of patients with different apoE genotypes

Indicator	ApoE genotype					
	CAVS patients			Control group		
	Leu28Leu (n=100)	Leu28Pro Pro28Pro (n=8)	p	Leu28Leu (n=44)	Leu28Pro Pro28Pro (n=2)*	p
Total cholesterol, mmol/l	4.91±1.28	5.68±1.3	0.13	5.11±0.89	6.2; 6.5	0.04
Triglycerides, mmol/l	1.52±0.82	1.25±0.29	0.62	1.59±0.67	2.0; 2.6	0.12
LDL, mmol/l	3.13±1.08	3.9±1.05	0.02	3.28±0.91	3.3; 3.6	0.64
HDL, mmol/l	1.09±0.25	1.07±0.15	0.91	1.13±0.24	1.04; 1.1	0.74
VLDL, mmol/l	0.71±0.51	0.57±0.13	0.78	0.72±0.3	1.02; 1.15	0.13
ApoE, µg/l	0.05 (0.04-0.09)	0.03 (0.02-0.04)	0.16	0.03 (0.02-0.04)	0.028; 0.032	0.27
PON1, µg/ml	4.5 (3.4-6.4)	5.1 (3.1-6.8)	0.31	3.5 (3.2-4.2)	3.9; 4.1	0.77

Note: * — Since the number of patients per group is small, the exact values for each patient are given.

Table 4

Concentration of lipid fractions, PON1 and apoE in blood serum of patients with different PON1 genotypes

Indicator	PON1 genotype					
	CAVS patients			Control group		
	Arg192Arg (n=65)	Gln192Arg Gln192Gln (n=43)	p	Arg192Arg (n=24)	Gln192Arg Gln192Gln (n=22)	p
Total cholesterol, mmol/l	4.96±1.33	4.96±1.24	0.95	5.5±0.87	4.86±0.86	0.02
Triglycerides, mmol/l	1.48±0.84	1.54±0.75	0.52	1.86±0.6	1.41±0.69	0.01
LDL, mmol/l	3.17±1.02	3.19±1.19	0.99	2.98±0.9	2.59±0.8	0.03
HDL, mmol/l	1.1±0.26	1.08±0.2	0.69	1.09±0.18	1.16±0.27	0.68
VLDL, mmol/l	0.7±0.58	0.69±0.36	0.63	0.85±0.27	0.64±0.31	0.01
ApoE, µg/l	0.05 (0.03-0.09)	0.05 (0.03-0.1)	0.85	0.05 (0.02-0.06)	0.02 (0.02-0.03)	0.01
PON1, µg/ml	4.5 (3.3-6.6)	4.5 (3.5-6.3)	0.94	3.3 (2.7-3.9)	4.1 (3.2-7.4)	0.01

PON1 (4.8 (3.57-6.8) vs 3.4 (3.1-4.1) µg/ml, p=0.018) as compared to patients without CAVS.

In the study group a weak negative correlation between PON1 concentration with the levels of LDL (r=-0.24, p=0.04) and VLDL (r=-0.27, p=0.02) and a weak positive correlation with the apoE level (r=0.24, p=0.04) were observed; apoE showed a weak negative correlation with the level of calcium ions (r=-0.28, p=0.04). Control group showed a moderate negative correlation between the serum level of apoE and the levels of total cholesterol (r=-0.42, p=0.02) and LDL (r=-0.43, p=0.01).

Table 2 shows frequencies of genotypes and alleles of the apoE and PON1 genes in the study population. Allele frequencies of the genes under study did not differ between the groups and corresponded to the data of global populations according to the dbSNP database.

An analysis of the lipid profile of blood, serum concentrations of PON1 and apoE depending on apoE genotype showed a statistically significant increase in LDL in CAVS patients with 28Pro allele (3.9±1.05 vs 3.13±1.08 mmol/l, p=0.02); in the control group the presence of this allele was accompanied by an increase in the total cholesterol level (6.2; 6.5 vs 5.11±0.89 mmol/l, p=0.04) (Table 3).

PON1 genotype in CAVS patients had no significant effect on blood lipid levels. Significantly lower levels of total cholesterol (4.86±0.86 vs 5.5±0.87 mmol/l, p=0.02), triglycerides (1.41±0.69 vs 1.86±0.6 mmol/l, p=0.01), and VLDL (0.64±0.31 vs 0.85±0.27 mmol/l, p=0.01) were observed in the control group when the 192Gln allele was present in the genotype. Furthermore, carriers of this allele were characterized by a relatively higher PON1 concentration (4.1 (3.2-7.4) vs 3.3 (2.7-3.9) µg/ml, p=0.01) and reduced apoE level (0.02 (0.02-0.03) vs 0.05 (0.02-0.06) µg/l, p=0.01) (Table 4).

Regression analysis with serum concentrations of blood lipids, apoE, PON1, and Ca²⁺ used as covariates enabled us to ascertain that apoE concentration is an independent predictor of CAVS (Odds ratio 7.04 (95% CI 2.54; 19.47), p=0.004).

Discussion

ApoE is often considered to be a lipoprotein inhibiting the development of both atherosclerosis and aortic valve calcification. The apoE knockout animals have severe hyperlipidemia resulting in the formation of atherosclerotic plaques and sclerotic aortic valve changes that are morphologically similar to the changes in the calcified

aortic valve. However, results of experiments on mice cannot be reliably extrapolated to humans. Aortic valves in mice and humans have different morphological structure and laboratory induced sclerosis of the aortic valve in transgenic animals can be reproduced under natural conditions in extremely rare cases. The high plasma level of apoE in a human population is associated with the risk of such conditions as Alzheimer disease and cardiovascular death [10]. The results of our study show that development of CAVS can be associated with an increased apoE level. The mechanisms of this relationship remain unclear. It has been shown that apoE level in young and middle-aged people correlates with the levels of total cholesterol, HDL, and LDL. However, CAVS most often develops in older people, while the correlation between the levels of apoE and plasma lipids in this population becomes not so clearly pronounced. The *apoE* genotype (rs429358) also affects blood lipid concentration. Since *apoE* and its allele polymorphism participate in lipid metabolism, it would be reasonable to assume that they contribute to progression of CAVS by inducing hyperlipidemia. In the population studied, lipid profile parameters were not significantly higher than the normal values and did not differ between the groups. The lack of expected differences might be due to the fact that most of our patients received hypolipidemic therapy. Another mechanism through which apoE may induce CAVS is related to the proinflammatory activity of this lipoprotein. Plasma apoE tightly binds to lipid antigens and promotes their presentation on LDL receptors of antigen-presenting cells of the vascular wall (macrophages, T cells), thus inducing endocytosis of lipid particles [11]. The subsequent inflammatory process results in elimination of lipid antigens from systemic circulation. Close correlation between the levels of this lipoprotein and the high-sensitivity C-reactive protein may be indicative of proinflammatory activity of apoE. It is likely that apoE interacts with macrophages and T cells that infiltrate aortic valve cusps to initiate and promote persistence of the local inflammatory process, which is accompanied by secretion of proinflammatory cytokines and matrix metalloproteinases, destruction of intercellular matrix, and eventually aortic valve sclerosis.

It has been reported that aortic valve calcification in patients without chronic kidney disease is accompanied by reduced serum calcium level [12]. In our study, the level of calcium ions in CAVS patients was reduced and showed a negative correlation with apoE. Expression of apoE by macrophages is known to be inhibited by chelated intracellular calcium, while high extracellular apoE concentrations promote increased calcium level inside the cell through the feedback mechanism. It can be assumed that a decrease in plasma calcium level results from its macrophage clearance; however, this hypothesis needs further experimental data.

The study group was also characterized by an increased paraoxonase 1 level compared to the control group.

PON1 exhibits anti-atherogenic properties. Reduced serum level and activity of this enzyme is observed in patients with ischemic heart disease and atherosclerotic peripheral vascular disease. No relationship was found between the PON1 level and aortic calcification or arterial calcification in patients with diabetes mellitus [13]. Research is currently focused on the effect of PON1 on the emergence and progression of CAVS. Moura et al. have reported increased PON1 activity in CAVS patients, which was associated with the progression of aortic stenosis. Meanwhile, Cagirci et al. have reported quite an opposite results [14]. The level and activity of PON1 are known to largely depend on Gln192Arg polymorphism of the *PON1* gene. This locus ensures production of two alloenzymes: with either high or low activity depending on arginine or glutamine at position 192, respectively. The Gln192Gln genotype is also associated with the increased levels of total cholesterol, low-density lipoproteins, and triglycerides. In our study, similar trends were revealed in the control group of patients. However, the *PON1* genotype in CAVS patients had no effect on blood lipids and PON1 concentration. Apolipoprotein A1 on the surface of low-density lipoproteins is known to participate in PON1 activation. An apoE molecule also exhibits nanomolar binding affinity for a PON1 molecule; identically to apoA1, it can enhance stability and activity of this enzyme [15]. Increased PON1 concentration in CAVS patients may result from the high apoE level, which is confirmed by the direct correlation between plasma levels of these molecules in the examined population.

The main limitation of this study is the small size of study population. Further studies with larger groups are needed.

Since the patients were selected for the study at the Center of Cardiology, assessed patients frequently had concomitant cardiovascular diseases (IHD, peripheral atherosclerosis, and arterial hypertension), which could have affected the measured parameters. However, taking into account epidemiology of cardiovascular diseases in Russia, such problems as the lack of complaints and laboratory abnormalities in patients with hemodynamically insignificant atherosclerosis during the routine clinical examination, unavailability of routine invasive procedures for screening purposes, make it difficult to select almost healthy elderly individuals to comprise the control group, as well as to find otherwise healthy patients with aortic calcification.

No final conclusions regarding possible contribution of candidate genes to CAVS pathogenesis and progression can be drawn from analyzing single polymorphism of each gene. The studied mutations may be located in several loci; both point mutations and their combinations can change the structure and activity of protein synthesis and biological properties of proteins of interest. Further fundamental studies of the combination of point

mutations of *apoE* and *PON1* and their products and a prospective study of the natural history of CAVS are needed.

The results demonstrated that CAVS patients are characterized by the increased apoE and PON1 levels in

blood serum; the apoE level turned out to be an independent predictor of the development of aortic calcification. Polymorphic markers Gln192Arg of the *PON1* gene (rs662) and Leu28Pro of the *apoE* gene (rs429358) are not associated with CAVS.

References

1. Rajamannan N, Moura L. The lipid hypothesis in Calcific Aortic Valve Disease. The Role of the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2016; 36: 774-6.
2. Chumakova OS, Selezneva ND, Evdokimova MA et al. Prognostic value of aortic stenosis in patients after exacerbation of ischemic heart disease. Kardiologija 2011; 51 (1): 23-8. (In Russ.) Чумакова О. С., Селезнева Н. Д., Евдокимова М. А. и др. Прогностическое значение аортального стеноза у больных, перенесших обострение ишемической болезни сердца. Кардиология 2011; 51 (1):23-8.
3. Parisi V, Leosco D, Ferro G, et al. The lipid theory in the pathogenesis of calcific aortic stenosis. Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases 2015; 25: 519-25.
4. Vartabedian VF, Savage PB, Teyton L. The processing and presentation of lipids and glycolipids to the immune system Immunol Rev. 2016; 272 (1): 109-19.
5. Soran H, Schofield JD, Durrington PN. Antioxidant properties of HDL. Front Pharmacol. 2015; 6: 222.
6. Bounafaa A, Berrougui H, Ghalim N, et al. Association between Paraoxonase 1 (PON1) polymorphisms and the risk of acute coronary syndrome in a North African population., Pharmacogenet Genomics. 2011; 21 (12): 867-75.
7. Lu Y, Feskens EJ, Boer JM, et al. Exploring genetic determinants of plasma total cholesterol levels and their predictive value in a longitudinal study. Atherosclerosis 2010; 213 (1): 200-5.
8. Kutikhin AG, Yuzhalin AE, Brusina EB, et al. Genetic predisposition to calcific aortic stenosis and mitral annular calcification. Mol Biol Rep 2014; 41 (9): 5645-63.
9. Galderisi M, Henein MY, D'Hooge J, et al. Recommendations of the European Association of Echocardiography: how to use echo-Doppler in clinical trials: different modalities for different purposes. Eur J Echocardiogr 2011; 12 (5): 339-53.
10. Mooijaart SP, Berbée JF, van Heemst D, et al. ApoE plasma levels and risk of cardiovascular mortality in old age. PLoS Med 2006; 6: e176.
11. Van den Elzen P, Garg S, León L, et al. Apolipoprotein-mediated pathways of lipid antigen presentation. Nature 2005; 437 (7060): 906-10.
12. Ortlepp JR, Pillich M, Schmitz F, et al. Lower serum calcium levels are associated with greater calcium hydroxyapatite deposition in native aortic valves of male patients with severe calcific aortic stenosis. J Heart Valve Dis 2006; 15 (4): 502-8.
13. Rajkovic MG, Rumora L, Barisic K. The paraoxonase 1, 2 and 3 in humans. Biochimica Medica 2011; 21 (2): 122-30.
14. Cagirci G, Cay S, Karakurt O, et al. Paraoxonase activity might be predictive of the severity of aortic valve stenosis. J Heart Valve Dis 2010; 19 (4): 453-8.
15. Gaidukov L, Viji RI, Yacobson S, et al. ApoE induces serum paraoxonase PON1 activity and stability similar to ApoA-I. Biochemistry 2010; 49 (3): 532-40.

ПРОТОКОЛ: ВЛИЯНИЕ СОЧЕТАННОГО НОСИТЕЛЬСТВА СУР2С19*2 И *17 НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛЕЧЕНИЯ КЛОПИДОГРЕЛОМ

Зеленская Е. М.¹, Барбараш О. Л.², Ганюков В. И.², Кочергин Н. А.², Апарцин К. А.^{3,4}, Горохова А. В.³, Папешина С. А.³, Николаев К. Ю.^{5,6}, Батуева К. Ю.⁷, Янковская С. В.⁷, Тронин А. В.¹, Лифшиц Г. И.^{1,4,6}

Цель. Оценить ассоциацию конечных точек эффективности и безопасности с одновременным носительством полиморфных вариантов гена *CYP2C19*: rs4244285 (*2), и rs12248560 (*17) при лечении клопидогрелом.

Материал и методы. В исследование включено 289 пациентов крупных городов Сибири, подвергшихся стентированию коронарных сосудов по поводу острого коронарного синдрома. Всем участникам были определены аллели *CYP2C19**2, *3, *17 и клинические исходы в течение 30 дней (тромботические осложнения, кровотечения).

Результаты. Было установлено, что одновременное носительство *CYP2C19**2 и *CYP2C19**17 аллелей ассоциировано с увеличением развития как серьезных нежелательных явлений тромботического характера по сравнению с отсутствием носительства данных полиморфизмов ($p=0,016$), так и в целом нежелательных явлений, связанных со снижением эффективности клопидогрела ($p=0,046$).

Заключение. Согласно результатам исследования, субъектов с генотипом *2/*17 следует отнести в группу пациентов с замедленным метаболизмом клопидогрела, так как в данной группе достоверно чаще были выявлены определенный или вероятный тромбоз установленного стента.

Российский кардиологический журнал 2017, 10 (150): 113–117

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-113-117>

Ключевые слова: *CYP2C19*, клопидогрел, тромбоз стента.

¹ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск; ²ФГБУН Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, Кемерово; ³ГБУЗ Иркутская ордена "Знак Почета" областная клиническая больница, Иркутск; ⁴ФГБУН Иркутский научный центр Сибирского

отделения Российской академии наук, Иркутск; ⁵ФГБУН Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины, Новосибирск; ⁶ФГАОУ ВО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск; ⁷БУ ВО Сургутский государственный университет Минобрнауки России, Сургут, Россия.

Зеленская Е. М.* — м.н.с. лаборатории персонализированной медицины, Барбараш О. Л. — д.м.н., профессор, чл.корр. РАН, директор, Ганюков В. И. — д.м.н., зав. лабораторией интервенционных методов диагностики и лечения атеросклероза, Кочергин Н. А. — н.с. лаборатории интервенционных методов диагностики и лечения атеросклероза, Апарцин К. А. — д.м.н., профессор, зав. лабораторией клинических исследований, Горохова А. В. — н.с. лаборатории клинических исследований, Папешина С. А. — врач, Николаев К. Ю. — д.м.н., профессор, зав. лабораторией неотложной терапии, Батуева К. Ю. — врач, Янковская С. В. — студент, Тронин А. В. — сотрудник лаборатории персонализированной медицины, Лифшиц Г. И. — д.м.н., профессор, зав. лабораторией персонализированной медицины.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

helenzlnsk@gmail.com

ЛКА — левая коронарная артерия, ОВ — огибающая ветвь, ОКС — острый коронарный синдром, ПКА — правая коронарная артерия, ПНА — передняя нисходящая артерия, СНЯ — серьезное нежелательное явление, ССЗ — сердечно-сосудистое заболевание.

Рукопись получена 11.09.2017

Рецензия получена 12.09.2017

Принята к публикации 18.09.2017

THE PROTOCOL: INFLUENCE OF THE COMBINATION CARRIAGE *CYP2C19**2 AND *17 ON EFFICACY OF CLOPIDOGREL

Zelenskaya E. M.¹, Barbarash O. L.², Ganyukov V. I.², Kochergin N. A.², Apartsin K. A.^{3,4}, Gorokhova A. V.³, Papeshina S. A.³, Nikolaev K. Yu.^{5,6}, Batueva K. Yu.⁷, Yankovskaya S. V.⁷, Tronin A. V.¹, Lifshits G. I.^{1,4,6}

Aim. To assess the association of efficacy and safety endpoints with simultaneous carriage of polymorphic variants of the gene *CYP2C19*: rs4244285 (*2), and rs12248560 (*17) in treatment with clopidogrel.

Material and methods. In the study, 289 patients included, from large cities of Siberia, underwent coronary stenting for acute coronary syndrome. All participants were assessed for alleles *CYP2C19**2, *3, *17, and clinical outcomes were followed for 30 days (thrombotic complications, bleedings).

Results. It was found that simultaneous carriage of *CYP2C19**2 and *CYP2C19**17 alleles is associated with the risk of serious adverse events development of thrombotic origin comparing to the absence of such polymorphism carriage ($p=0,016$), and with general adverse events risk related to insufficiency of clopidogrel action ($p=0,046$).

Conclusion. According to the study results, subjects with the *2/*17 carriage should be classified to a delayed clopidogrel metabolism group, as in the group definite and probable stent thrombosis were found significantly more prevalent.

Russ J Cardiol 2017, 10 (150): 113–117

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-113-117>

Key words: *CYP2C19*, clopidogrel, stent thrombosis.

¹Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of SD RAS, Novosibirsk;

²Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo;

³Irkutskaya Oblast Clinical Hospital of the "Sign of Honour" Award, Irkutsk;

⁴Irkutsk Scientific Center of SD RAS, Irkutsk;

⁵SRI of Therapy and Prevention Medicine — branch of SD RAS, Novosibirsk;

⁶Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk;

⁷Surgut State University, Surgut, Russia.

В России для профилактики осложнений острого коронарного синдрома (ОКС) в состав комплексного лечения входит клопидогрел [1]. В настоящее время обсуждается длительная антиагрегантная терапия

после ОКС сроком до 3 лет. Широко известно влияние полиморфных аллелей гена *CYP2C19* (rs4244285 (*2), rs4986893 (*3), rs12248560 (*17)) на фармакодинамику этого препарата [2]. Показано, что носители

Таблица 1
Клинико-демографические данные

Параметры, единицы измерения	Пациенты
Возраст, годы	59,0±11,3
Число мужчин, n (%)	218 (75,1%)
Анамнез жизни и сопутствующие заболевания	
ИБС, ИМ, n (%)	50 (17,3%)
Артериальная гипертензия, n (%)	213 (73,7%)
Гиперхолестеринемия, n (%)	63 (21,8%)
ФВ ЛЖ <45%, n (%)	17 (5,9%)
Факторы риска	
Почечная недостаточность, n (%)	1 (0,3%)
Сахарный диабет, n (%)	38 (13,1%)
Отягощенная наследственность по ССЗ, n (%)	44 (15,2%)
Курение, n (%)	150 (51,9%)
Сопутствующее лечение в течение 14 дней до госпитализации	
Аспирин, n (%)	53 (18,3%)
Ингибиторы протонной помпы, n (%)	4 (1,4%)
Варфарин, n (%)	0
Тромболитическая терапия, n (%)	0

CYP2C19 *2 и CYP2C19*3 аллелей имели более высокий уровень активного метаболита, менее эффективное ингибирование тромбоцитов и более высокий риск тромбозов после чрескожного коронарного вмешательства [3]. На основании генотипирования по CYP2C19 можно выявить следующие варианты метаболизма клопидогрела: ультрабыстрый (*1/*17, *17/*17), экстенсивный (*1/*1), промежуточный (например, *1/*2, *1/*3, *2/*17), и медленные (например, *2/*2, *2/*3), что помогает подобрать оптимальную лечебную тактику [4].

Однако у пациентов с ОКС эффекты одновременного носительства CYP2C19*2 и CYP2C19*17 остаются практически не изученными и требуют дальнейшего уточнения [5].

Материал и методы

В исследование включено 289 жителей крупных городов Центральной (Новосибирск, Кемерово), Восточной (Иркутск), Северной (Сургут) Сибири, перенесших чрескожное коронарное вмешательство по поводу ОКС. От всех пациентов получено письменное добровольное информированное согласие на участие в исследовании, которое было одобрено локальными этическими комитетами вовлеченных в него организаций. У всех пациентов при включении в исследование проводили анализ жалоб, анамнестических данных. Оценку тяжести атеросклеротического поражения коронарных артерий производили на основании следующих критериев:

0 — нет гемодинамически значимого поражения (более 70%) проксимальных отделов трех магистральных сосудов (передняя нисходящая артерия (ПНА),

огибающая ветвь (ОВ) и правая коронарная артерия (ПКА)), а также в стволе левой коронарной артерии (ЛКА) (более 50%).

1 — есть гемодинамически значимое поражение (более 70%) в проксимальном отделе одного из сосудов: ПНА, ОВ и ПКА; в стволе ЛКА поражение менее 50%.

2 — есть гемодинамически значимое поражение (более 70%) в проксимальных отделах двух любых сосудов: ПНА, ОВ и ПКА; в стволе ЛКА поражение менее 50%.

3 — есть гемодинамически значимое поражение (более 70%) в проксимальных отделах всех трех сосудов: ПНА, ОВ и ПКА; в стволе ЛКА поражение более 50% [6].

Всем больным в составе комплексной медикаментозной терапии была назначена двойная антиагрегантная терапия. Пациенты получали клопидогрел в дозе 300 мг — нагрузочная, 75 мг — поддерживающая. Всем пациентам было проведено фармакогенетическое тестирование. Забор крови проводили на 3-5 сутки от начала госпитализации. Выделение ДНК из лейкоцитов цельной крови осуществляли фенол-хлороформным методом. Определение аллелей CYP2C19*2, CYP2C19*3 и CYP2C19*17 проводили методом ПЦР в режиме реального времени (Real-time PCR) с использованием TaqMan зондов.

В качестве конечной точки эффективности регистрировали определенный или вероятный тромбоз коронарного стента (по критериям Academic Research Consortium), конечными точками безопасности являлись большие и умеренные клинически значимые кровотечения (по критериям группы TIMI) [7].

При статистической обработке ассоциации между признаками оценивались с помощью коэффициента корреляции Спирмена (r). Межгрупповое сравнение по распределению качественных признаков проводилось с помощью критериев χ^2 Пирсона и Фишера. Для многофакторного анализа применялись бинарная логистическая регрессия. Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости для отклонения нулевой статистической гипотезы (p) принимался равным 0,05.

Результаты

В исследовании приняло участие 289 пациентов (71 женщина и 218 мужчин, средний возраст 59,0±11,3 лет), перенесших экстренное стентирование коронарных сосудов по поводу ОКС и получающих терапию клопидогрелем. Клинико-демографические данные приведены в таблице 1.

Было определена частота носительства полиморфных аллелей гена CYP2C19 (табл. 2), а также распределение аллелей по гаплотипам (табл. 3).

Среди пациентов была выделена и проверена на наличие ассоциации с увеличением развития

Таблица 2

Частота полиморфных вариантов CYP2C19 *2, *3 и *17

Аллель	Гомозигота дикого типа n, (%)	Гетерозигота n, (%)	Гомозигота по вариантному аллелю n, (%)	Частота аллеля (%)
CYP2C19*2	224 (77,5)	62 (21,5)	3 (1,0)	11,8
CYP2C19*3	283 (98,0)	5 (1,7)	1 (0,3)	1,2
CYP2C19*17	157 (54,3)	102 (35,3)	30 (10,4)	28,2

Таблица 3

Распределение по гаплотипам полиморфных аллелей CYP2C19 *2, *3 и *17

Носительство полиморфных вариантов CYP2C19	Количество пациентов, n, (%)
*2 (+)/*3(+)/*17(+)	0 (0)
*2 (+)/*3(+)/*17(-)	0 (0)
*2 (+)/*3(-)/*17(+)	15 (5,5)
*2 (-)/*3(+)/*17(+)	1 (0,3)
*2 (+)/*3(-)/*17(-)	51 (17,6)
*2 (-)/*3(-)/*17(+)	118 (40,8)
*2 (-)/*3(+)/*17(-)	5 (1,7)
*2 (-)/*3(-)/*17(-)	99 (34,1)

Таблица 4

Ассоциация одновременного носительства полиморфизмов CYP2C19*2 и CYP2C19*17 с увеличением частоты развития СНЯ тромботического характера по сравнению с отсутствием носительства данных полиморфизмов

		СНЯ		Всего	
		Нет	Есть		
Одновременное носительство CYP2C19*2 и CYP2C19*17	есть	количество	12	3	15
		% общего итога	80,0%	20,0%	100,0%
	нет	количество	95	4	99
		% общего итога	96,0%	4,0%	100,0%
Всего		количество	107	7	114
% общего итога			93,9%	6,1%	100,0%

Таблица 5

Доказательство ассоциации одновременного носительства полиморфизмов CYP2C19*2 и CYP2C19*17 с увеличением частоты развития СНЯ тромботического характера по сравнению с отсутствием носительства данных полиморфизмов

	Значение	df	Критерий Фишера (двусторонний)
Корреляция Пирсона	5,757(b)	1	0,016
Отношение правдоподобия	4,106	1	0,043
Линейно-линейная связь	5,706	1	0,017
N	114		

Таблица 6

Ассоциация одновременного носительства полиморфизмов CYP2C19*2 и CYP2C19*17 с увеличением частоты развития любых конечных точек эффективности по сравнению с отсутствием носительства данных полиморфизмов

		СНЯ+НЯ		Всего	
		нет	есть		
Одновременное носительство CYP2C19*2 и CYP2C19*17	есть	Количество	10	5	15
		% общего итога	66,7%	33,3%	100,0%
	нет	Количество	87	12	99
		% общего итога	86,9%	13,1%	100,0%
Всего		Количество	96	18	114
% общего итога			84,2%	15,8%	100,0%

Таблица 7

Доказательство ассоциации одновременного носительства полиморфизмов CYP2C19*2 и CYP2C19*17 с увеличением частоты развития любых конечных точек эффективности по сравнению с отсутствием носительства данных полиморфизмов

	Значение	df	Критерий Фишера (двусторонний)
Корреляция Пирсона	3,998(b)	1	0,046
Отношение правдоподобия	3,352	1	0,067
Линейно-линейная связь	3,963	1	0,047
N	114		

конечных точек эффективности и безопасности группа лиц с одновременным носительством полиморфизмов CYP2C19*2 и CYP2C19*17. Группой сравнения выступили пациенты, не имеющие ни одного

из исследуемых аллелей. Характеристика групп и проверка ассоциации представлена в таблицах ниже (табл. 4-7).

Было установлено, что одновременное носительство CYP2C19*2 и CYP2C19*17 аллелей ассоциировано с увеличением развития как серьезных нежелательных явлений тромботического характера по сравнению с отсутствием носительства данных полиморфизмов (p=0,016), так и в целом с частотой нежелательных явлений, связанных со снижением эффективности клопидогрела (p=0,046).

Также в группе носителей полиморфизмов CYP2C19*2 и CYP2C19*17 были выявлены следующие особенности.

По сравнению с контрольной группой, у этих пациентов нежелательные явления, связанные с приемом клопидогрела, достоверно чаще ассоциировались с бифуркационным поражением стентированного сосуда ($\chi^2=9,231$, $p=0,002$), чего не наблюдалось в контрольной группе ($\chi^2=0,398$, $p=0,528$).

Также среди этой группы пациентов нежелательные явления, связанные с приемом клопидогрела, достоверно ассоциировались с количеством гемодинамически значимых стенозов в коронарных сосудах (стеноз >70%) ($r=0,722$, $p=0,004$). В контрольной группе такой ассоциации не наблюдалось ($r=0,136$, $p=0,179$).

В группе пациентов, не являющихся носителями ни одного из исследуемых полиморфизмов (CYP2C19*2, CYP2C19*3 и CYP2C19*17) были обнаружены следующие особенности.

У молодых пациентов (возраст — менее 45 лет) чаще отмечались серьезные нежелательные явления, связанные с неэффективностью клопидогрела, чем у пациентов старше 45 лет ($\chi^2=8,510$, $p=0,004$).

Также наблюдалась ассоциация между серьезными нежелательными явлениями и анамнестическими данными о наличии сердечно-сосудистого заболевания (ССЗ) у родственников первой линии ($\chi^2=5,615$, $p=0,018$).

У группы пациентов, не являющихся носителями ни одного из исследуемых полиморфизмов, в результате корреляционного анализа методом Пирсона были обнаружены следующие ассоциации (достоверно). Ассоциация между фракцией выброса левого желудочка менее 45% и наличием любой конечной точки безопасности (как массивные кровотечения, так и незначительные) ($\chi^2=4,348$, $p=0,037$), любыми нежелательными явлениями, связанными с приемом клопидогрела (незначительные кровотечения и появление более ангинозного характера при умеренных и незначительных физических нагрузках) ($\chi^2=6,944$, $p=0,008$), а также отдельно нежелательными явлениями, связанными с безопасностью применения препарата ($\chi^2=5,174$, $p=0,023$).

Обсуждение

Наибольшую актуальность для пациентов с ОКС имеет определение аллельного варианта CYP2C19*2, так как наличие этого аллеля достоверно ассоциировано с более частым возникновением тромботических осложнений — это показано во многих крупных исследованиях [8, 9].

Аллель CYP2C19*17 у пациентов с данной патологией определяют намного реже, и в основном исследуют его частоту у здоровых добровольцев [5] или пациентов, принимающих ингибиторы протонной помпы по поводу язвенной болезни [10]. В нашем исследовании частота встречаемости пациентов с генотипом *2/*17 составила 5,5%, что больше, чем

у здоровых европеоидов по данным литературы (2,4–3,3%) [11, 12]. Аллельные варианты CYP2C19*2 и CYP2C19*17 изолированно встречались значительно чаще (в 17,6% и 40,8%, соответственно).

Согласно немногочисленным данным литературы, лиц с генотипом *2/*17 принято относить к группе пациентов с промежуточным метаболизмом клопидогрела [13] либо к пациентам с неизвестной активностью фермента [12].

Этот вывод был получен на основании данных о том, что каждый аллель в отдельности является независимым предиктором изменения остаточной агрегации тромбоцитов (конечные точки в этом исследовании не оценивались) [14]. Однако результаты нашего исследования позволяют предположить, что субъектов с генотипом *2/*17 следует отнести в группу пациентов с медленным метаболизмом клопидогрела, так как в этой группе достоверно чаще были выявлены определенный или вероятный тромбоз установленного стента.

Обращают на себя внимание результаты, полученные на группе пациентов, не являющихся носителями исследуемых полиморфных аллелей. Ассоциация серьезных нежелательных явлений и наличия семейной предрасположенности к ССЗ могут свидетельствовать о наличии других значимых наследственных факторов, влияющих на тяжесть ССЗ. Так, описано влияние полиморфизмов гена, кодирующего рецептор 2 типа к эндотелиальному фактору роста VEGFR2, на развитие неблагоприятных исходов после СКС по поводу ОКС. Таким образом, развитие эндотелиальной дисфункции играет важную роль в развитии сердечно-сосудистых событий [15].

Ассоциация низкой фракции выброса левого желудочка (менее 45%) с наличием различных осложнений в срок до 30 дней после стентирования может быть объяснена общим тяжелым состоянием этих пациентов. Таким образом, в развитии нежелательных явлений могли сыграть роль не генетические факторы, а тяжесть состояния пациента.

Заключение

Эффекты одновременного носительства CYP2C19*2 и CYP2C19*17 или CYP2C19*3 и CYP2C19*17 являются спорными и малоизученными и требуют дальнейшего изучения. Генотипирование по CYP2C19*2/*3/*17 позволяет отнести пациента к группе лиц с определенным уровнем метаболизма клопидогрела (EM/PM/IM/UM) и в дальнейшем помогает подобрать оптимальную лечебную тактику.

Результаты нашего исследования позволяют отнести пациентов с генотипом *2/*17 в группу лиц с медленным метаболизмом клопидогрела. Это определяет необходимость выбора для этих пациентов других антиагрегантных препаратов в схемах двойной антиагрегантной терапии.

Литература

1. Clinical guidelines of diagnostics and treatment of acute coronary syndrome in the system of medical support of population in emergency situations. All-Russian scientific society of cardiology. Moscow 2013, p.22 (In Russ.) Клинические рекомендации по диагностике и лечению острого коронарного синдрома в системе медицинского обеспечения населения в чрезвычайных ситуациях. Всероссийское научное общество кардиологов. Москва 2013; с. 22.
2. Zhang HZ, Kim MH, Guo LZ, et al. CYP2C19 but not CYP2B6, CYP3A4, CYP3A5, ABCB1, PON1 or P2Y12 genetic polymorphism impacts antiplatelet response after clopidogrel in Koreans. *Blood Coagul. Fibrinolysis* 2016; 34 (7): 325-31.
3. Gong Y, Crown N. Clarifying the importance of CYP2C19 and PON1 in the mechanism of clopidogrel bioactivation and in vivo antiplatelet response. *Eur Heart J.* 2012; 33: 2856-64.
4. Amin AM, Sheau Chin L, Azri Mohamed Noor D, et al. The Personalization of Clopidogrel Antiplatelet Therapy: The Role of Integrative Pharmacogenetics and Pharmacometabolomics *Cardiol Res Pract.* 2017; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28421156>.
5. Fricke-Galindo I, Céspedes-Garro C, Rodrigues-Soares F, et al. Interethnic variation of CYP2C19 alleles, 'predicted' phenotypes and 'measured' metabolic phenotypes across world populations. *Pharmacogenomics J.* 2016; 16 (2): 113-23.
6. Daoulah A, Elkhateeb OE, Nasser SA, et al. Socioeconomic Factors and Severity of Coronary Artery Disease in Patients Undergoing Coronary Angiography: A Multicentre Study of Arabian Gulf States. *Open Cardiovasc Med J.* 2017; 11: 47-57.
7. Lifshits GI, Aparsin KA. A prospective multicenter study "PROTOCOL: Personalized therapy by clopidogrel after coronary stenting for acute coronary syndromes, taking into account genetic polymorphisms. *Good clinical practice*, 2015; 1: 78-86 (In Russ.) Лифшиц Г.И., Апарсин К.А. Проспективное многоцентровое исследование "ПРОТОКОЛ: Персонализированная терапия клопидогрелем при стентировании по поводу Острого Коронарного синдрома с учетом генетических полиморфизмов". *Качественная клиническая практика* 2015; 1: 78-86.
8. Mega JL, Simon T, Collet JP, et al. Reduced-function CYP2C19 genotype and risk of adverse clinical outcomes among patients treated with clopidogrel predominantly for PCI: a meta-analysis. *JAMA* 2010; 304 (1): 1821-30.
9. Sibbing D, Stegheer J, Latz W, et al. Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism and stent thrombosis following percutaneous coronary intervention. *Eur. Heart J.* 2009; 30 (8): 916-22.
10. Sychev DA, Denisenko NP, Sizova ZM, et al. The frequency of CYP2C19 genetic polymorphisms in Russian patients with peptic ulcers treated with proton pump inhibitors. *Pharmacogenomics Pers Med.* 2015; 27 (8): 111-14.
11. Payan M, Tajik N, Rouini MR, et al. Genotype and allele frequency of CYP2C19*17 in a healthy Iranian population. *Med J Islam Repub Iran.* 2015; 29: 269.
12. Strom CM, Goos D, Crossley B, et al. Testing for variants in CYP2C19: population frequencies and testing experience in a clinical laboratory. *Genet Med.* 2012; 14 (1): 95-100.
13. Ahmad T, Vora D, Backer RC, et al. The pharmacogenetics of antiplatelet agents: towards personalized therapy? *Nat. Rev. Cardiology* 2011; 8 (10): 560-71.
14. Sibbing D, Gebhard D, Koch W. Isolated and interactive impact of common CYP2C19 genetic variants on the antiplatelet effect of chronic clopidogrel therapy. *J Thromb Haemost.* 2010; 8: 1685-93.
15. Kireeva VV, Koch NV, Lifschits GI, et al. Endothelial dysfunction as cornerstone of cardiovascular events: molecular and pharmaceutical aspects. *Russ J Cardiol* 2014; 10 (114): 64-8 DOI:10.15829/1560-4071-2014-10-64-68 (In Russ.) Киреева В.В., Кох Н.В., Лифшиц Г.И. и др. Дисфункция эндотелия как краеугольный камень сердечно-сосудистых событий: молекулярно- и фармакогенетические аспекты. *Российский кардиологический журнал.* 2014; 10 (114): 64-8. DOI:10.15829/1560-4071-2014-10-64-68

ГЕМОДИНАМИЧЕСКАЯ СТАБИЛЬНОСТЬ ПАЦИЕНТА С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ: НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ТРЕХКОМПОНЕНТНОЙ ТЕРАПИИ

Потешкина Н. Г.^{1,2}, Крылова Н. С.^{1,2}, Сванадзе А. М.^{1,2}, Трошина А. А.^{1,2}

Статья посвящена обзору современных эпидемиологических и клинических данных по распространенности артериальной гипертензии и ее влияния на исходы сердечно-сосудистых заболеваний. Обоснована эффективность, приверженность и безопасность антигипертензивной терапии комбинированным препаратом "single-pill" Трипликсам® ("Лаборатории Сервье", Франция) состоящего из периндоприла/индапамида/амлодипина. Обосновано использование данного препарата в предотвращении поражения органов мишеней и достижения сердечно-сосудистых исходов.

Российский кардиологический журнал 2017, 10 (150): 118–123
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-118-123>

Ключевые слова: артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца, сердечная недостаточность, инсульт, хроническая болезнь почек, Трипликсам.

¹ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России, Москва; ²ГБУЗ ГКБ № 52 Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва, Россия.

Потешкина Н. Г.* — профессор, д.м.н., зав. кафедрой общей терапии факультета дополнительного профессионального образования, консультант, Крылова Н. С. — к.м.н., доцент кафедры общей терапии факультета дополнительного профессионального образования, консультант, Сванадзе А. М. — к.м.н., доцент кафедры общей терапии факультета дополнительного профессиона-

льного образования, консультант, Трошина А. А. — к.м.н., доцент кафедры общей терапии факультета дополнительного профессионального образования, консультант.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): nat-pa@yandex.ru

АГ — артериальная гипертензия, АГТ — антигипертензивная терапия, АД — артериальное давление, АК — антагонисты кальция, БРА — блокаторы ангиотензиновых рецепторов, Д — диуретики, ДАД — диастолическое артериальное давление, ДИ — доверительный интервал, ИАПФ — ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, ИБС — ишемическая болезнь сердца, ИМ — инфаркт миокарда, ОКС — острый коронарный синдром, ОС — общая смертность, ОР — относительный риск, САД — систолическое артериальное давление, СД — сахарный диабет, СК — свободная комбинация, ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания, ССС — сердечно-сосудистая смертность, СН — сердечная недостаточность, ФК — фиксированная комбинация, ХБП — хроническая болезнь почек, ACCORD BP — the Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes blood pressure trial SPRINT — the Systolic Blood Pressure Intervention Trial, T/P ratio — Trough/Peak ratio.

Рукопись получена 21.09.2017

Рецензия получена 22.09.2017

Принята к публикации 25.09.2017

HEMODYNAMIC STABILITY OF HYPERTENSION PATIENT: TRIPLE THERAPY OPPORTUNITIES

Poteshkina N. G.^{1,2}, Krylova N. S.^{1,2}, Svanadze A. M.^{1,2}, Troshina A. A.^{1,2}

The article is focused on the review of recent epidemiological and clinical data on the prevalence of systemic hypertension and its influence on the outcomes of cardiovascular diseases. An efficacy is argued, as the adherence for and safety of antihypertension therapy by combinational drug "single-pill" Triplixam® ("Les Laboratoires Servier", France), containing perindopril/indapamide/amlodipine. The usage of the medication is grounded, aiming against target organ damage and development of cardiovascular outcomes.

Russ J Cardiol 2017, 10 (150): 118–123
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-118-123>

Key words: arterial hypertension, coronary heart disease, heart failure, stroke, chronic kidney disease, triplixam.

¹N. I. Pirogov Russian National Research Medical University (RNRMU), Moscow; ²CCH № 52 of the Department of Health, Moscow, Russia.

Глобальный анализ мировых данных за 1975–2015гг, включивший 1749 исследований с более чем 19,1 млн наблюдений лиц старше 18 лет показал, что в 2015г средний уровень артериального давления (АД) у мужчин составил 126,6/78,7 мм рт.ст., у женщин 127,7/76,7 мм рт.ст., существенно не изменившись с 1975г [1]. В РФ с 1975г по 2015г среди мужчин уровень АД снизился со 131,5/85,3 до 122,7/82,2 мм рт.ст., а у женщин со 131,5/85,3 до 122,7/78,4 мм рт.ст. [1].

Риск развития артериальной гипертензии (АГ) возрастает по мере увеличения возраста населения. В возрасте старше 55–65 лет АГ имеют от 80% до 90% [2, 3] лиц. Глобальная распространенность АГ составляет 40% [12, 6]. Более свежие данные показывают,

что за период 1975–2015гг глобальная распространенность АГ у мужчин снизилась на 5,4% (с 29,5% до 24,1%), у женщин на 6,0% (с 26,1% до 20,1%). В РФ за этот же период распространенность АГ снизилась у мужчин на 13,94% (с 46,54% до 32,60%), у женщин на 19,6% (с 41,89% до 22,29%) [1].

На 2015г как среди женщин, так и среди мужчин, РФ — лидер по снижению распространенности АГ среди стран центральной и восточной Европы, ранее относившихся к социалистическому лагерю (20 стран). При сопоставлении РФ с высокоразвитыми странами западного мира (27 стран) ситуация иная. У женщин распространенность АГ сильнее снизилась на Мальте и в Бельгии, меньше у другой группы стран в которую входит и РФ. Распространенность АГ

ТРИПЛИКСАМ®

АМЛОДИПИН+ИНДАПАМИД+ПЕРИНДОПРИЛА АРГИНИН

3-ЕДИНСТВО 3-Х КОМПОНЕНТОВ

ДЛЯ ЭФФЕКТИВНОГО
ЛЕЧЕНИЯ АГ



Краткая инструкция по медицинскому применению препарата Трипликсам®

СОСТАВ: Трипликсам 5 мг/0,625 мг/2,5 мг; 5,0 мг амлодипина/0,625 мг индапамид/2,5 мг периндоприла аргинина. Трипликсам 5 мг/1,25 мг/5 мг; 5,0 мг амлодипина/1,25 мг индапамид/5,0 мг периндоприла аргинина. Трипликсам 5 мг/2,5 мг/10 мг; 5,0 мг амлодипина/2,5 мг индапамид/10,0 мг периндоприла аргинина. Трипликсам 10 мг/2,5 мг/10 мг; 10,0 мг амлодипина/2,5 мг индапамид/10,0 мг периндоприла аргинина. **ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ:** В качестве терапии у пациентов с артериальной гипертензией при снижении АД на фоне приема амлодипина, индапамид и периндоприла в тех же дозах. **СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ И ДОЗЫ:** Внутрь, по 1 таблетке 1 раз в сутки предпочтительно утром перед приемом пищи. Доза препарата Трипликсам подбирается после ранее проведенного титрования до оптимальных компонентов. Пациенты детского возраста, не следует применять. **ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ:** Повышенная чувствительность к действующим и вспомогательным веществам, входящим в состав препарата, производным сульфонамида, производным дигидропиридина, другим ингибиторам АПФ, любым другим веществам, входящим в состав препарата. Пациенты, находящиеся на гемодиализе. Нелеченая сердечная недостаточность в стадии декомпенсации. Тяжелая почечная недостаточность (КК < 30 мл/мин). Почечная недостаточность умеренной степени (КК < 50 мл/мин) для дозировки комбинации периндоприл/индапамид 10 мг/2,5 мг (т.е. Трипликсам 5 мг/2,5 мг/10 мг и Трипликсам 10 мг/2,5 мг/10 мг). Ангионевротический отек (отек Квинке) на фоне приема ингибиторов АПФ в анамнезе (см. раздел «Особые указания»). Наследственный/идиопатический ангионевротический отек. **Беременность (см. раздел «Применение при беременности и в период грудного вскармливания»):** Период грудного вскармливания (см. раздел «Применение при беременности и в период грудного вскармливания»). Печеночная энцефалопатия. Тяжелая печеночная недостаточность. Гипокальциемия. Тяжелая артериальная гипотензия. Шок (включая кардиогенный). Обструкция выносящего тракта левого желудочка (например, клинически значимый стеноз устья аорты). Гемодинамически нестабильная сердечная недостаточность после острого инфаркта миокарда. Одновременное применение с литием. Одновременное применение с препаратами, удлиняющими интервал QT. Одновременное применение с калийсберегающими диуретиками, препаратами калия и лития, у пациентов с повышенным содержанием калия в плазме крови. **Возраст до 18 лет, СОСБЛЕ УКАЗАНИЯ:** Двойная блокада ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС). Ингибиторы АПФ и АРА II не следует применять одновременно у пациентов с диабетической нефропатией. Нейтропения/гранулоцитоз/тромбоцитопения/анемия. С осторожностью — у пациентов с системными заболеваниями соединительной ткани, на фоне приема иммунодепрессантов, аллопуринола и прокаинамида, или при их сочетании, особенно у пациентов с нарушенной функцией почек. Контроль лейкоцитов в крови. Повышенная чувствительность/ангионевротический отек. Прекратить прием, пациент должен наблюдаться, пока признаки отека не исчезнут полностью. Ангионевротический отек, сопровождающийся отеком гортани, может привести к летальному исходу. Анафилактические реакции при проведении десенсибилизации. С осторожностью — у пациентов со склонностью к аллергическим реакциям, проходящим процедуры десенсибилизации, избегать применения пациентам, получающим иммуноглобулин эдом перлопаточных насекомых. Временно отменить ингибитор АПФ не менее чем за 24 часа до начала процедуры десенсибилизации. Анафилактические реакции при проведении афереза ЛПНП. Временно прекращать терапию ингибитором АПФ перед каждой процедурой афереза. Тем не менее, желательно использовать мембрану другого типа или применять антигипертензивное средство другой фармакологической группы. **Беременность, Прекратить прием и заменить альтернативную гипотензивную терапию.** Печеночная энцефалопатия. Прекратить прием. **Отсутствительность:** Прекратить лечение. С **ОСТОРОЖНОСТЬЮ:** Нарушение функции почек. У некоторых пациентов с артериальной гипертензией без предшествующего очевидного нарушения функции почек могут появиться лабораторные признаки функциональной почечной недостаточности. Лечение прекратить. Возобновить терапию, используя низкие дозы, либо использовать компоненты препарата в режиме монотерапии. Контроль содержания ионов калия и креатинина — через 2 недели после начала терапии, затем каждые 2 месяца. Трипликсам не рекомендован пациентам с двусторонним стенозом почечных артерий или стенозом артерии единственной функционирующей почки. Риск артериальной гипотензии и/или почечной недостаточности (при наличии хронической сердечной недостаточности, обезвоживания и снижении содержания электролитов в плазме крови, у пациентов с исходно низким АД, стенозом почечной артерии и циррозом печени с отеками и асцитом); терапия начинать с низких доз, постепенно их увеличивая. Артериальная гипотензия и нарушение водно-электролитного баланса. Наличие исходной гипотензии связано с риском вазогенного развития артериальной гипотензии (особенно у пациентов со стенозом почечной артерии); регулярный контроль содержания электролитов плазмы крови. После восстановления ОЦК АД возобновить терапию, используя низкие дозы, либо компоненты препарата в режиме монотерапии. Гипотензия: более частый контроль содержания ионов натрия у пациентов пожилого возраста и пациентов с циррозом печени. Содержание ионов калия в плазме крови. Гиперкалиемия: контроль содержания ионов калия в сыворотке крови у пациентов с почечной недостаточностью, нарушением функции почек, пожилого возраста (>70 лет), с сахарным диабетом, некоторыми сопутствующими состояниями (детритация, острая декомпенсация сердечной деятельности, метаболический ацидоз), односторонний прием калийсберегающих диуретиков (таких как спиронолактон, эплеренон, трамандол, амилорид), препаратов калия или калийсодержащих заменителей пищевой соли, а также приемом других средств, способствующих повышению содержания ионов калия в плазме крови. Гипокальциемия. Группы высокого риска: пациенты пожилого возраста и/или истощенные пациенты, пациенты с циррозом печени с отеками и асцитом, пациенты с ишемической болезнью сердца, хронической сердечной недостаточностью, пациенты с удлиненным интервалом QT. Контроль содержания ионов калия в плазме крови. Возможно развитие полиморфной желудочковой тахикардии типа «пируэт», которая может быть фатальной. Содержание ионов кальция в плазме крови. Гиперкалиемия: отменить прием диуретических средств и провести исследование функции паращитовидных желез. Реноваскулярная гипертензия. У пациентов со стенозом почечной артерии лечение начинать в условиях стационара с низких доз при постоянном контроле состояния почек и уровня калия в крови. Сухой кашель. Атеросклероз. У пациентов с ишемической болезнью сердца и недостаточностью мозгового кровообращения лечение начинать с низких доз препарата. Гипертонический криз. Хроническая сердечная недостаточность. У пациентов с хронической сердечной недостаточностью — с осторожностью. У пациентов с тяжелой хронической сердечной недостаточностью (IV функциональный класс по классификации NYHA) лечение начинать с более низкой дозы и под контролем врача. Митральный стеноз/аортальный стеноз/гипертрофическая обструктивная кардиомиопатия. С осторожностью — пациентам

с обструкцией выносящего тракта левого желудочка. Пациенты с сахарным диабетом. У пациентов с сахарным диабетом I типа лечение начинать с более низкой дозы и под медицинским контролем. В течение первого месяца терапии регулярный контроль концентрации глюкозы в плазме крови и/или при наличии гипогликемии. Этническое различия. Меньше выраженное гипотензивное действие у пациентов негроидной расы, более высокая частота ангионевротического отека. Хирургическое вмешательство/общая анестезия. Прекратить прием за один сутки до хирургического вмешательства. Печеночная недостаточность. Соблюдать меры предосторожности. Редко на фоне приема ингибиторов АПФ возникает холестатическая желтуха. При прогрессировании синдрома развивается фульминантный некроз печени, иногда с летальным исходом. При появлении желтухи или значительном повышении активности «печеночных» ферментов прекратить прием. Мочевая кислота. При повышенной концентрации мочевой кислоты в плазме крови может увеличиваться частота возникновения приступов подагры. Пациенты пожилого возраста. Перед началом приема препарата оценить функциональную активность почек и содержание ионов калия в плазме крови. Увеличение дозы проводить с осторожностью. **ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С ДРУГИМИ ЛЕКАРСТВЕННЫМИ ПРЕПАРАТАМИ:** Противопоказанные сочетания. Аликисрен у пациентов с сахарным диабетом или почечной недостаточностью. Нерекондичные сочетания. Препараты лития. Аликисрен у пациентов, не имеющих сахарного диабета или нарушения функции почек. Совместная терапия с ингибиторами АПФ и блокаторами рецепторов ангиотензина. Эстрамустин. Калийсберегающие диуретики (такие как триамтерен, амилорид), соли калия. Дартролен (внутреннее введение). Грейфурут или грейфурутовый сок. Сочетания, требующие особого внимания. Бисфосфонаты. Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), включая ацетилсалициловую кислоту в дозе < 3 г в сутки. Гипогликемические средства (инсулины, гипогликемические средства для приема внутрь). Калийсберегающие диуретики. Калийсберегающие диуретики (эплеренон, спиронолактон). Препараты, способные вызвать полиморфную желудочковую тахикардию типа «пируэт». Анафотерины B (в/в), глюко- и минералокортикостероиды (при системном назначении), тетраэозиды, слабительные средства, стимулирующие моторику кишечника. Сердечные гликозиды. Аллопуринол. Индукторы изофермента цитохрома CYP3A4. Ингибиторы изофермента цитохрома CYP3A4. Сочетание препаратов, требующее внимания. Трициклические антидепрессанты, нейротетики. Антигипертензивные средства и вазодилаторы. Кортикостероиды, тетраэозиды, Аллопуринол, цитостатические и иммуносупрессивные средства, кортикостероиды (при системном применении) и прокаинамида. Средства для общей анестезии. Диуретики (тиазидные и «петлевые»). Глицины (лигналитин, сасгалитин, ситалитин, валдилитин). Симпатомиметики. Препараты золота. Метформин. Идосодержащие контрастные вещества. Соли кальция. Циклоспорин. Аторвастатин, дигоксин, варфарин или циклоsporин. Симвастатин. Противовирусные средства (ритонавир). Прочие взаимодействия. Силденафил. Циклоспорин. Алюминий/магнийсодержащие антациды. **ПРИМЕНЕНИЕ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ И В ПЕРИОД КОРМЛЕНИЯ ГРУДЬЮ:** Применение препарата Трипликсам при беременности противопоказано. **ФЕРТИЛЬНОСТЬ:** У некоторых пациентов, получающих лечение блокаторами «медленных» кальциевых каналов, было отмечено обратимое снижение подвижности сперматозоидов. **ВЛИЯНИЕ НА СПОСОБНОСТЬ УПРАВЛЯТЬ ТРАНСПОРТНЫМИ СРЕДСТВАМИ, МЕХАНИЗМАМИ:** Возможно возникновение слабости, головокружения, особенно в начале лечения. **ПОБОЧНОЕ ДЕЙСТВИЕ:** Часто: головокружение, головная боль, парестезия, вертиго, сонливость, стеснение, нарушения зрения, звон в ушах, ощущение сурдизации, «приливы» крови к коже лица, артериальная гипотензия и симптомы, связанные с этим, кашель, одышка, боль в животе, запор, диарея, диспепсия, тошнота, рвота, кожный зуд, кожная сыпь, макулопупулезная сыпь, спазмы мышц, периферические отеки, астения, повышенная утомляемость, отек. Нечасто: ринит, зосинфилия, реакции повышенной чувствительности, гипогликемия, гиперазотемия, обратимые после отмены препарата, гипонатриемия, анорексия, бессонница, лабильность настроения (включая тревожность), депрессия, нарушение сна, необычные сновидения, повышенная возбудимость, гипестезия, тремор, обморок, дислиполия, нарушение accommodation, кератопатия, конъюнктивит, боль в глазах, тахикардия, васкулит, бронхоспазм, носовое кровотечение, сухость слизистой оболочки полости рта, изменение ритма дефекации, метеоризм, крапивница, ангионевротический отек, отек Квинке, алоpecia, пупурия, изменение цвета кожи, экзема, повышенное потоотделение, реакции фоточувствительности, лемфитид, артрит, артралгия, миалгия, боль в спине, нарушение мочеиспускания, нистагм, поливалгурия, болезненное мочеиспускание, почечная недостаточность, зрительная дисфункция, гипоксемия, боль, боль в грудной клетке, недомогание, онемб, жажда, лихорадка, повышение концентрации мочевины в крови, повышение концентрации креатинина в крови, повышение/снижение массы тела, падение. Редко: повышение аппетита, спутанность сознания, дерматит, изменение, повышение активности печеночных трансаминаз, гипербилирубинемия. Очень редко: артериальное апноэ, апноэ, гипонатриемия, лейкопения, нейтропения, гематологическая анемия, тромбоцитопения, тромбоцитотенузия, гипертония, гипертоническая пароксизмальная кризиса, гиперкалиемия, периферическая нейропатия, инсульт, возможно, вследствие чрезмерного снижения АД у пациентов из группы высокого риска, мигрень, Апатия, акватика, атаксия, амнезия, стенокардия, нарушение ритма сердца (в том числе брадикардия, желудочковая тахикардия и фибрилляция предсердий), инфаркт миокарда, возможно, вследствие избыточного снижения АД у пациентов из группы высокого риска, развитие или усугубление течения хронической сердечной недостаточности, ортостатическая гипотензия, эозинофильная пневмония, гипертензия десен, паростит, гастрит, ангионевротический отек кишечника, гелатит, холестатическая желтуха, нарушение функции печени, мультиформная эритема, синдром Стивенса-Джонсона, эксфолиативный дерматит, токсический эпидермальный некролиз, кератолитический синдром, острый почечный недостаток, снижение гемоглобина и гематокрита. Негрупповые частоты: гипонатриемия, снижение содержания калия и развитие гипогликемии, особенно значимое для пациентов, относящихся к высокой категории, обморок, экстрапирамидные нарушения, миопия, нечеткость зрения, полиморфная желудочковая тахикардия типа «пируэт» (возможно, со смертельным исходом), возможно развитие печеночной энцефалопатии в случае печеночной недостаточности, возможно обострение уже имеющейся системной волчанки, удлинение интервала QT на ЭКГ, повышение концентрации мочевины в крови. **ПЕРИОДИЧНОСТЬ, ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА:** Периндоприл — ингибитор фермента, превращающего ангиотензин I в ангиотензин II (ингибитор ангиотензинпревращающего фермента (АПФ)). Индапамид относится к производным сульфонамида с индольным кольцом и по фармакологическим свойствам близок к тиазидным диуретикам. Амлодипин — БМК, производное дигидропиридина. Амлодипин ингибирует трансмембранный переход ионов кальция в кардиомиоцитах и гладкомышечных клетках соседней стенки. **ФОРМА ВЫПУСКА:** Таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 5 мг + 0,625 мг + 2,5 мг; 5 мг + 1,25 мг + 5 мг; 10 мг + 2,5 мг + 10 мг; 10 мг + 2,5 мг + 10 мг. По 29 или 30 таблеток в блистерной упаковке, снабженной датчиком и пробой, содержащей влагопоглощающий гель (силкагель). По 1 флакону с инструкцией для медицинского применения в пакете картонный с контролем первого вскрытия.

АО «Сервье»
125047, РФ, Москва, ул. Лесная, д. 7
Тел.: +7 (495) 937-07-00, факс: +7 (495) 937-07-01
www.servier.ru



у мужчин больше снизилась в большинстве стран Западной Европы, в Северной Америке, Австралии, Новой Зеландии, по сравнению с РФ [1].

Снижение распространенности АГ в мире относительно, так как происходит на фоне роста населения земного шара. Абсолютное число лиц с АГ в мире увеличилось с 594 млн в 1975г до 1,13 млрд в 2015г, из них: 597 млн мужчин и 529 млн женщин. Статистика в РФ на 2015г: АГ у 17 764 795 мужчин и у 18 632 211 женщин [1]. Встречаемость изолированной систолической АГ увеличивается с возрастом: в 30-59 лет 35%, в 60-79 лет 60%, в возрасте ≥ 80 лет 65%. Встречаемость диастолической АГ уменьшается с возрастом: 10%, 1,4% и 0,06%, соответственно тем же возрастным группам [4].

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) ответственны за 57% смертности в РФ [5] и за 30% в мире [6]. Значимой составляющей ССЗ является АГ, определяемая при АД $\geq 140/\geq 90$ мм рт.ст. [1]. При наличии АГ, даже в возрасте 30 лет, относительный риск (ОР) развития ССЗ увеличивается на 63,3% (доверительный интервал (ДИ) 62,9-63,8%) в сравнении с 46,1% (ДИ 45,5-46,8%) у лиц без АГ. При АГ сопутствующие ССЗ начинаются раньше на 5 лет (ДИ 4,8-5,2%) [4].

В череде “связанных смертей” АГ относится к самому важному фактору и ответственна за 12,8% ежегодной смертности в мире, что в абсолютном выражении соответствует 7,5 млн преждевременных смертей в год [6]. В 4,5% случаев АГ относится к заболеваниям, отягощающим течение жизни, что соответствует 64 000 000 лет жизни на инвалидности (disability-adjusted life years, DALYs) [7]. АГ — основной фактор риска развития ишемической болезни сердца (ИБС), периферических сосудистых заболеваний, церебральных сосудистых заболеваний, сердечной недостаточности (СН) [4-6, 8, 9] и хронической болезни почек (ХБП) [1, 10, 11].

АГ ответственна за смертность при ИБС в 43-45% [4, 12], а при инсульте в 51% [12] случаев. Рост систолического АД (САД) на каждые 20 мм рт.ст. связан с ростом риска развития геморрагического инсульта (ОР 1,44; ДИ 1,32-1,58), субарахноидального кровоизлияния (ОР 1,43; ДИ 1,25-1,63), хронической ИБС (ОР 1,41; ДИ 1,36-1,46). Рост диастолического АД (ДАД) на каждые 10 мм рт.ст. связан с ростом риска разрыва аневризмы абдоминальной аорты (ОР 1,45; ДИ 1,34-1,56) [4].

В настоящее время в мире реализуются две основные стратегии контроля АД: стратегия “меньше-лучше” [13] и стратегия “J-образной связи” [14]. Стратегия “меньше-лучше” реализует принцип прямой причинности: ниже АД — ниже риск развития и прогрессирования ССЗ. Стратегия “J-образной связи” реализует принцип обратной причинности: излишне низкое АД увеличивает риск прогрессирования ССЗ. Этот принцип во многом справедлив для

пациентов с коморбидной патологией [15]. Обе стратегии имеют своих сторонников [15] и противников [4] и, скорее всего, могут реализовываться у различных групп пациентов с АГ в зависимости от их возраста, наличия и выраженности сопутствующей патологии и иных клинических нюансов. В целом, достижение целевых цифр АД среди больных АГ варьирует в пределах 42-82% [16].

В последнее время завершилось исследование The Systolic Blood Pressure Intervention Trial (SPRINT) клинически подтвердившее концепцию “меньше-лучше” при достижении целевого уровня САД < 120 мм рт.ст. [17]. В сравнении с САД 140 мм рт.ст. выявлено снижение риска общей смертности (ОС) на 27% (ОР 0,73; ДИ 0,60-0,90, $p=0,003$), снижение риска развития кардиоваскулярной патологии (инфаркт миокарда (ИМ), острый коронарный синдром (ОКС), инсульт, СН и сердечно-сосудистая смертность (ССС)) на 25% (ОР 0,75; ДИ 0,64-0,89, $p<0,001$). Отдельно риски развития ИМ, ОКС, инсульта снизились недостоверно, тогда как риск развития СН уменьшился на 48% (ОР 0,62; ДИ 0,45-0,84, $p=0,002$), риск СССР на 43% (ОР 0,57; ДИ 0,38-0,85, $p=0,005$).

В среднем, в исследовании SPRINT, для достижения целевого САД < 120 мм рт.ст. использовалось 2,8 препарата [17]. В группе интенсивной АГТ исследования The Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes) blood pressure trial (ACCORD BP), где также тестировался уровень САД < 120 мм рт.ст., использовалось в среднем 3,4 препарата [18]. По исследованию Thoenes M, et al. показано, что 30% пациентов АГ применяют 1 препарат, 40% — 2 препарата и 30% — 3 препарата [19].

Таким образом, для достижения уровня САД 120 мм рт.ст. требуется проведение более интенсивного, многокомпонентного фармакологического режима АГТ [20-25].

Одним из аспектов многокомпонентной АГТ является снижение частоты побочных явлений. В исследовании SPRINT среди пациентов, получавших интенсивную АГТ, развитие ХБП наблюдалось у 3,8% лиц (в большей степени при исходно не скомпromетированной функции почек). В мета-анализе Lv JC, et al. отмечено, что интенсивный контроль АД позволяет снизить появление терминальной ХБП на 11% (ОР 0,89; ДИ 0,824-0,97, $p<0,009$) и снизить прогрессирование протеинурии на 10% (ОР 0,90; ДИ 0,84-0,94, $p<0,004$) [15]. Позитивное место в профилактике развития ХБП занимает равноэффективное применение ИАПФ/БРА (I, A) [11]. Современными рекомендациями закреплено, что контроль функции почек с применением скрининга скорости клубочковой фильтрации с динамической оценкой альбуминурии/протеинурии является наилучшей мерой выявления потенциальных осложнений с стороны

почек при реализации любой из стратегий контроля АД [10, 11].

Один из путей снижения риска развития побочных эффектов — использование половинных доз препаратов. В исследовании Law MR [26] на большом материале (354 исследования, 56 000 пациентов) показано, что при монотерапии в режиме половины стандартной дозы различных препаратов происходит снижение как САД, так и ДАД на 80%. Увеличение до полной дозы позволяет снизить САД дополнительно лишь на 20%, а ДАД на 22%. Увеличение до двойной стандартной дозы даст дополнительный гипотензивный эффект в еще более скромном размере — для САД на 16,5%, для ДАД на 13,4% [26].

По данным Wald DS, et al. установлено, что добавление второго препарата другой группы в 5 раз более эффективно, чем удвоение (от стандартной) дозы одного препарата [27]. При удвоении дозы одного препарата снижение частоты развития ИБС наблюдалось в 4%, а частоты развития инсульта в 5%, в то время как добавление второго препарата другой группы, снизило риск развития ИБС и инсульта на 15% и 19%, соответственно [27].

Комбинированная терапия имеет существенные преимущества. При комбинации двух или трех препаратов происходит суммирование гипотензивного эффекта. Клиническая эффективность трех препаратов в половинной дозе близка к клинической эффективности одного препарата ИАПФ в полной дозе с уменьшением частоты побочных эффектов. В среднем один препарат вызывает побочные эффекты в 5,4% случаев. Применение двух препаратов увеличивает число побочных эффектов лишь до 7,5% ($p=0,03$), не приводя к их удвоению (до 10,8%) [26]. При использовании фиксированных комбинаций (ФК) частота побочных явлений на 20% ниже (ОР 0,80; ДИ 0,58-1,11), чем при использовании свободных комбинаций СК [28].

В настоящее время 74,2% пациентов используют монотерапию, 17,2% СК и только 8,6% ФК [29]. С комбинации антигипертензивных препаратов начинают лечение лишь 25,8% пациентов АГ [29]. В сравнении с монотерапией, инициация АГТ в режиме СК позволяет лучше контролировать АД на 34% (ОР 1,34; ДИ 1,31-1,37), а в режиме ФК на 53% (ОР 1,53; ДИ 1,47-1,58) [29]. ФК на 4,1/3,1 мм рт.ст. эффективнее снижает САД/ДАД, чем СК [28].

Существенным является вопрос приверженности больных АГ к лечению. Необходимость длительно, неоднократно в день принимать препараты может быть обременительна для пациентов [30, 31]. Больные, получающие комбинированную терапию имеют на 21% лучшую приверженность (ОР 1,21; ДИ 1,03-1,43) и дольше сохраняют выбранный режим АГТ на 54% (ОР 1,54; 0,95-2,49, $p=0,08$) [28]. Приверженность к лечению зависит от кратности приема препа-

рата в сутки: однократный прием дает 79% приверженности, двукратный 69%, трехкратный 65%, а четырехкратный только 51% [32]. Через 60 дней от начала АГТ, в сравнении с приемом 1 таблетки (“single-pill”) при приеме трёх таблеток “triple-pill” в СК риск отмены лечения составляет 149% (ОР 2,49; ДИ 2,14-2,88), при приеме 2-х таблеток “double-pill” в СК 89% (ОР 1,89; ДИ 1,74-2,806) [33]. Кроме того, нужно принимать во внимание, что пожилые больные, больные с ментальными расстройствами, после перенесенных мозговых сосудистых катастроф объективно могут быть неспособны педантично поддерживать многокомпонентный фармакологический режим СК.

По данным мета-анализа Wu Hon-Yen комбинация ИАПФ+АК предпочтительна в предотвращении ОС: снижала ОР развития ОС в сравнении с плацебо на 49% (ОР 0,51; ДИ 0,15-1,35). Комбинация ИАПФ+Д снижала ОР развития ОС только на 14% (ОР 0,86; ДИ 0,59-1,26). Монотерапия ИАПФ, АК и БРА мало влияла на риск ОС (0,99; 1,02 и 1,08, соответственно) [34].

Клинически значимыми преимуществами ФК являются: потенциальный синергический эффект в достижении прогностически значимых конечных точек; эффективность в отношении резистентной АГ [16, 31]; эффективность в условиях коморбидной патологии: СД [29, 30], ХПБ [10] и меньшее число побочных эффектов [20]. У лиц с высоким АД или с высоким сердечно-сосудистым риском использование ФК выгодно ввиду исходно низкой приверженности этих лиц к лечению [20, 31, 35] и высокой эффективности АГТ уже в первый месяц лечения [29]. Приверженность к терапии ФК сохраняется на высоком уровне (86%) после года лечения [29].

Фактическую обоснованность эффективности перехода на трехкомпонентную АГТ продемонстрировали Chalmers J, et al. (ADVANCE) показавшие, что в отношении снижения ОС комбинация ИАПФ+Д+АК эффективнее ИАПФ+АК на 36% (ОР 1,36; ДИ 1,2-1,48, $p<0,0001$), а в отношении снижения ССС на 32% (ОР 1,32; ДИ 1,08-1,50, $p=0,01$). Комбинация ИАПФ+Д+АК эффективнее ИАПФ+Д на 28% в отношении снижения ОС (ОР 1,28; ДИ 1,10-1,43, $p=0,02$), но недостоверно лучше в отношении ССС [36].

Комбинация ИАПФ+Д+АК рекомендуется американским и международным обществами АГ при любой степени АГ [20, 21, 23, 24], включая резистентную [25].

Относительно недавно появилась первая [37] фиксированная трехкомпонентная комбинация “polypill”, “single-pill” Трипликсам® (“Лаборатории Сервь”, Франция) в составе АК+Д+ИАПФ (амлодипин+индапамид+периндоприла аргинин) в дозировках 5/1,25/5 мг; 10/1,25/5 мг; 5/2,5/10 мг; 10/2,5/10 мг, которая удобна в подборе терапии АГ и позволяет

избежать необходимости АГТ в режиме “второй таблетки” [30, 31].

Исследования показали эффективность перехода с двухкомпонентной на трехкомпонентную терапию. В течение 4 месяцев наблюдалось снижение САД/ДАД на $26,7 \pm 13,3/12,9 \pm 9,4$ мм рт.ст. ($p < 0,001$) с достижением целевого АД $< 130/80$ мм рт.ст. у 74-80% [38]. Суточное мониторирование АД показало, что гемодинамический эффект стабилен в течение 24 часов, а показатель отношения среднего снижения АД в течение суток к максимальному снижению АД в течение суток Trough/Peak ratio: (T/P ratio) составляет для САД 75%, а для ДАД 70% [38] (рекомендованное значение $> 50\%$) [32]. Для отдельных компонентов Трипликсама® показатели T/P ratio составляют: периндоприл (5-10 мг) 75-100%; амлодипин (5-10 мг) 50-100%; индапамид SR (1,25-2,5 мг) 85-89%. Во многом, этот показатель определяет устойчивость снижения АД в вечерние и ночные часы, предотвращая развитие излишней вариабельности АД и связанных с ней неблагоприятных явлений [32].

Применение Трипликсама® в создании гемодинамической стабильности больных АГ высокого и очень высокого кардиоваскулярного риска исследовано Tóth K. (PIANIST). Терапия Трипликсамом® через 4 месяца позволила снизить САД на $28,3 \pm 13,5/13,8 \pm 9,4$ мм рт.ст. ($p < 0,0001$) с достижением целевого уровня АД $132,2 \pm 8,6/80,0 \pm 6,6$ мм рт.ст. [39].

Эффективность Трипликсама® оценена при различной степени АГ. Целевые цифры АД достигли 85,7% пациентов с 1-й степенью АГ, 69,5% пациентов со 2-й степенью АГ и 46,3% пациентов с 3-й степенью АГ. Многие пациенты, включенные в исследование, ранее уже применяли различные режимы АГТ. При переводе на Трипликсам® с комбинации ИАПФ/гидрохлоротиазид целевое АД достигнуто у 81%, с комбинации БРА/гидрохлоротиазид — у 92%, с комбинации ИАПФ/АК — у 71% и с комбинации БРА/АК — у 76%. При переводе пациентов с монотерапии на фиксированную трехкомпонентную комбинацию Трипликсам® эффективность была высокой: при переводе с БРА целевое АД достигнуто у 66%, при переводе с ИАПФ у 77% и при переводе с АК у 74%. Терапия Трипликсамом® позволила достичь целевых значений АД у 68,2% ранее не леченых пациентов, у 73,8% пациентов, ранее получавших монотерапию, у 73,3% получавших двойную АГТ и у 71,2% получавших тройную АГТ [39].

Дополнительный интерес представляет достоверное снижение микроальбуминурии (-28% , $p < 0,0001$) и креатинина ($-2,3\%$, $p < 0,0001$) [39]. Снижение исходного уровня протеинурии/альбуминурии в 1,5 раза через 3-6 месяцев от старта АГТ является качественным ориентиром в тактике АГТ [10].

Особенности перехода с режимов АГТ “single-pill” периндоприл/индапамид на “single-pill” амлодипин/

индапамид/периндоприла аргинин у больных АГ без коморбидной патологии в виде СД и ХБП оценены в работе Mourad JJ, et al. [37]. После первого месяца АГТ больные, получавшие ФК амлодипин/индапамид/периндоприла аргинин, в сравнении с группой применявших ФК периндоприл/индапамид нормализовали АД на старте АГТ (72% против 53%; ОР 2,7, $p < 0,0001$) и имели большее число лиц, достигших целевого АД (32% против 25%; ОР 1,6, $p < 0,005$). На втором месяце целевое АД достигли 58% против 46% и на третьем — 69% против 59%. К окончанию исследования (четвёртый месяц) целевые значения АД имели 82% пациентов [37].

В РФ завершено исследование (Nedogoda SV, et al.) по применению Трипликсама® при резистентной АГ. Сравнялось два режима терапии: “single-pill” (ФК амлодипин/индапамид/периндоприла аргинин) и режим “double-pill” (ФК периндоприл/индапамид с отдельным добавлением амлодипина как “второй” таблетки) [31]. К 4 неделе АГТ обе группы достигли целевого АД $< 130/80$ мм рт.ст.: в группе “single-pill” 88%, группе “double-pill” 79%. Эффект сохранился до 12 недели (окончание исследования). Приверженность к терапии была на высоком уровне: 89,2% и 87,1%, соответственно [31].

В описанных выше исследованиях применение Трипликсама® сопровождалось незначительным количеством побочных эффектов (0,7%), связанных с этим режимом АГТ, в том числе отек голеностопной области 0,6%, головокружение, головная боль, кашель $< 0,1\%$ [38]. В другом исследовании отек голеностопной области встречался в 0,2% наблюдений, головокружение и кашель в 0,08%, гипотензия в 0,1% наблюдений [39]. В исследовании Nedogoda SV, et al. в 2,7% случаев наблюдался назофарингит, тогда как гипотензия/ортостатическая гипотензия не наблюдались [31]. В исследовании Mourad JJ кашель встречался у 1,1% пациентов, гипотензия у 0,9% и ортостатический коллапс у 0,7% пациентов, независимо от дозы [37]. Все описанные побочные эффекты крайне редко приводили к отмене ФК.

Таким образом, разнородная фиксированная комбинация “single-pill” (АК+Д+ИАПФ: амлодипин/индапамид/периндоприла аргинин) Трипликсама® (“Лаборатории Сервье”, Франция) эффективна как у больных с неосложненной АГ любой степени, так и у пациентов АГ с коморбидной патологией, а также при резистентной АГ. Терапия Трипликсамом® с первого месяца обеспечивает внутрисуточную гемодинамическую стабильность в ближайшие дни, а также в отдаленной перспективе. Эффективность терапии Трипликсамом® достигается высокой первоначальной и отдаленной приверженностью пациента к лечению и малым числом осложнений. Терапевтическая и клиническая инерция со стороны врачей существенно замедляет внедрение доступных

фармакологических средств для формирования гемодинамической стабильности больных АГ. Современные национальные, зарубежные, международные клинические руководства рекомендуют рассмат-

ривать практическую инициацию/продолгацию/трансформацию фармакологической терапии АГ в сторону эффективного и комплаентного режима для больного.

Литература

- Worldwide trends in blood pressure from 1975 to 2015: a pooled analysis of 1479 population-based measurement studies with 19.1 million participants. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). *Lancet* 2017; 389: 37-55. (on-line данные доступны на: <http://www.ncdrisc.org/data-visualisations-blood-pressure.html>).
- He FJ, MacGregor GA. Blood pressure is the most important cause of death and disability in the world. *European Heart Journal Supplements* 2007; 9 (Supplement B): B23-B28.
- Vasan RS, Beiser A, Seshadri S, et al. Residual lifetime risk for developing hypertension in middle-aged women and men: the Framingham heart study. *JAMA* 2002; 287: 1003-10.
- Rapsomaniki E, Timmis A, George J, et al. Blood pressure and incidence of twelve cardiovascular diseases: lifetime risks, healthy life-years lost, and age-specific associations in 1.25 million people. *Lancet* 2014; 383: 1899-11.
- Cardiovascular Therapy and Prevention. The national recommendations. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2011; 10 (6), Suppl 2: 3-64. (In Russ.) Кардиоваскулярная терапия и профилактика. Национальные рекомендации. Разработаны Комитетом экспертов ВНОК, М. 2011. Кардиоваскулярная терапия и профилактика 2011; 10 (6), Приложение 2: 3-64.
- Mendis S, Puska P, Norrving B. Global Atlas on cardiovascular disease prevention and control. Published by the World Health Organization in collaboration with the World Heart Federation and the World Stroke Organization. World Health Organization, Geneva 2011. Available on the WHO web site (www.who.int). World Health Organization, 20 Avenue Appia, 1211 Geneva 27, Switzerland.
- Prevention of Cardiovascular Disease Guidelines for assessment and management of cardiovascular risk. World Health Organization, 2007.
- Go AS, Mozaffarian D, Roger VL, et al. AHA Statistical Update. Heart Disease and Stroke Statistics—2013 Update. A Report From the American Heart Association. *Circulation* 2013; 127: e6-e245.
- Appel LJ, Frohlich ED, Hall JE, et al. AHA Presidential Advisory. The Importance of Population-Wide Sodium Reduction as a Means to Prevent Cardiovascular Disease and Stroke. A Call to Action From the American Heart Association. *Circulation* 2011; 123: 1138-43.
- Smirnov AV, Shilov EAT, Dobronravov VA, et al. The national recommendations. Chronic kidney disease: basic principles of screening, diagnosis, prevention and treatment approaches. *Clin nephrol* 2012; 4: 4-26. (In Russ.) Смирнов А.В., Шилов Е.М., Добронравов В.А., и др. Национальные рекомендации. Хроническая болезнь почек: основные принципы скрининга, диагностики, профилактики и подходы к лечению. *Клиническая нефрология* 2012; 4: 4-26.
- Moiseev BC, Mukhin NA, Smirnov AV. The National recommendations. Cardiovascular risk and chronic kidney disease: strategies cardio-nephroprotection. *Clin Pharm and Ther*. 2014; 23 (3): 1-24. (In Russ.) Моисеев ВС, Мухин НА, Смирнов АВ. Национальные рекомендации. Сердечно-сосудистый риск и хроническая болезнь почек: стратегии кардио-нефропротекции. *Клиническая фармакология и терапия* 2014, 23 (3): 1-24.
- A global brief on Hypertension. Silent killer, global public health crisis. © World Health Organization 2013. Are available on the WHO web site (www.who.int) World Health Organization, 20 Avenue Appia, 1211 Geneva 27, Switzerland. Document number: WHO/DCO/WHO/2013.2.
- Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, et al. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet* 2002; 360: 1903-13.
- Aronow WS, Fleg JL, Pepine CJ, et al. ACCF/AHA 2011 Expert Consensus Document on Hypertension in the Elderly: A Report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on Clinical Expert Consensus Documents. *Circulation* 2011; 123: 2434-506.
- Lv JC, Neal B, Ehteshami P, et al. Effects of intensive blood pressure lowering on cardiovascular and renal outcomes: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Med* 2012; 9: e1001293-e1001293.
- Sarafidis PA, Bakris GL. Resistant Hypertension. An Overview of Evaluation and Treatment. *J Am Coll Cardiol* 2008; 52 (22): 1749-57.
- The SPRINT Research Group. A Randomized Trial of Intensive versus Standard Blood-Pressure Control. *N Engl J Med* 2015; 373: 2103-16.
- Cushman WC, Evans GW, Byington RP, et al. Effects of intensive blood-pressure control in type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med* 2010; 362: 1575-85.
- Thoenes M, Neuberger HR, Volpe M, et al. Antihypertensive drug therapy and blood pressure control in men and women: an international perspective. *J Hum Hypertens* 2010; 24 (5): 336-44.
- Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, et al. 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension. The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal* 2013; 34: 2159-219.
- Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, et al. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts) Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *European Heart Journal* 2016; 37: 2315-81.
- Liu L. 2010 Chinese guidelines for the management of hypertension. *Chin J Cardiol* 2011; 39: 579-616.
- Diagnosis and treatment of arterial hypertension. Russian Society on Hypertension. All-Russian Scientific Society of Cardiologists (VNOK). *Systemnyye Hypertensii* 2010; 3: 5-26. (In Russ.) Диагностика и лечение артериальной гипертензии (Рекомендации Российского медицинского общества по артериальной гипертензии и Всероссийского научного общества кардиологов). *Системные гипертензии*, 2010; 3: 5-26.
- James PA, Oparil S, Carter BL, et al. 2014 Evidence-Based Guideline for the Management of High Blood Pressure in Adults. Report From the Panel Members Appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8). *JAMA* 2014; 311 (5): 507-20.
- Weber MA, Schiffrin EL, White WB, et al. Clinical practice guidelines for the management of hypertension in the community a statement by the American Society of Hypertension and the International Society of Hypertension. *J Hypertens* 2014; 32: 3-15.
- Law MR, Wald NJ, Morris JK, et al. Value of low dose combination treatment with blood pressure lowering drugs: analysis of 354 randomised trials. *BMJ* 2003; 326: 1427-34.
- Wald DS, Law M, Morris JK, et al. Combination Therapy Versus Monotherapy in Reducing Blood Pressure: Meta-analysis on 11,000 Participants from 42 Trials. *Am J Med* 2009; 122 (3): 290-300.
- Gupta AK, Arshad S, Poulter NR. Compliance, Safety, and Effectiveness of Fixed-Dose Combinations of Antihypertensive Agents: A Meta-Analysis. *Hypertension* 2010; 55: 399-407.
- Egan BM, Bandyopadhyay D, Shaftman SR, et al. Initial Monotherapy and Combination Therapy and Hypertension Control the First Year. *Hypertension* 2012; 59: 1124-31.
- Poteshkina NG. Combined preparation of perindopril and amlodipine in the treatment of hypertension: efficiently, safely, and optimally. *Consilium Medicum* 2014; 5: 10-4. (In Russ.) Потешкина Н.Г. Комбинированный препарат периндоприла и амлодипина в лечении артериальной гипертензии: эффективно, безопасно, оптимально. *Consilium Medicum* 2014, 5: 10-4.
- Nedogoda SV, Stojanov VJ. Single-Pill Combination of Perindopril/Indapamide/Amlodipine in Patients with Uncontrolled Hypertension: A Randomized Controlled Trial. *Cardiol Ther* 2017; 6(1): 91-104.
- Flack JM, Nasser SA. Benefits of once-daily therapies in the treatment of hypertension. *Vascular Health and Risk Management* 2011; 7: 777-87.
- Xie L, Frech-Tamas F, Marret E, et al. A medication adherence and persistence comparison of hypertensive patients treated with single-, double- and triple-pill combination therapy. *Curr Med Res Opin* 2014; 30 (12): 2415-22.
- Wu Hon-Yen, et al. Comparative effectiveness of renin-angiotensin system blockers and other antihypertensive drugs in patients with diabetes: systematic review and bayesian network meta-analysis. *BMJ* 2013; 347: 1-5.
- Karpov YuA. European guidelines for the diagnosis and treatment of arterial hypertension 2013: a new target level of blood pressure and how to achieve it in actual practice. *Atmosphere. News of cardiology* 2013; 3: 2-8. (In Russ.) Карпов Ю.А. Европейские рекомендации по диагностике и лечению артериальной гипертензии 2013 г.: новый целевой уровень артериального давления и как его достичь в реальной практике. *Атмосфера. Новости кардиологии* 2013, 3: 2-8.
- Chalmers J, Arima H, Woodward M, et al. Clinical Trial: ADVANCE Trial. Effects of Combination of Perindopril, Indapamide, and Calcium Channel Blockers in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus. Results From the Action in Diabetes and Vascular Disease: Preterax and Diamicon Controlled Evaluation (ADVANCE) Trial. *Hypertension* 2014; 63: 259-64.
- Mourad JJ, Amodio C, de Champvallins M, et al. Blood pressure-lowering efficacy and safety of perindopril/indapamide/amlodipine single-pill combination in patients with uncontrolled essential hypertension: a multicenter, randomized, double-blind, controlled trial. *J Hypertens* 2017; 35 (7): 1481-95.
- Páll D, Szántó I, Szabó Z. Triple combination therapy in hypertension: the antihypertensive efficacy of treatment with perindopril, amlodipine, and indapamide SR. *Clin Drug Investig* 2014; 34: 701-8.
- Tóth K. PIANIST Investigators. Antihypertensive efficacy of triple combination perindopril/indapamide plus amlodipine in high-risk hypertensives: results of the PIANIST study (Perindopril-Indapamide plus Amlodipine in high risk hypertensive patients). *Am J Cardiovasc Drugs* 2014; 14: 137-45.

КАК СНИЗИТЬ РИСК ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫХ КРОВОТЕЧЕНИЙ НА ФОНЕ ТЕРАПИИ АНТИКОАГУЛЯНТАМИ У БОЛЬНЫХ С НЕКЛАПАННОЙ ФИБРИЛЛЯЦИЕЙ ПРЕДСЕРДИЙ?

Баранова Е. И.^{1,2}, Филатова А. Г.¹, Ионин В. А.¹

Фибрилляция предсердий (ФП) — значимый фактор риска развития инсульта и системных эмболий. Для предупреждения этих осложнений большинству пациентов с ФП показана терапия антикоагулянтами, которые снижают риск кардиоэмболических инсультов, но повышают риск кровотечений, наиболее частые из которых — желудочно-кишечные (ЖК).

Цель. Определить частоту патологических изменений пищевода, желудка и 12-перстной кишки, предрасполагающих к развитию ЖК кровотечений, у больных с ФП и высоким риском инсульта и абсолютными показаниями для терапии антикоагулянтами.

Материал и методы. Проведен анализ историй болезней пациентов, госпитализированных в терапевтическую клинику университета в 2016 году, среди которых 263 — с клапанной ФП. Из 222 больных с ФП и высоким риском инсульта, которым показана терапия антикоагулянтами, скрининговая фиброзофагогастроуденоскопия (ФЭГДС) выполнена 103 пациентам.

Результаты. ФЭГДС, выполненная 103 пациентам с клапанной ФП и высоким риском инсульта у 45,6% больных выявила заболевания, предрасполагающие к развитию ЖК кровотечений, в том числе рак пищевода — 1 (2,1%), язва желудка — 4 (8,5%), язва 12-перстной кишки — 2 (4,3%), эрозивный эзофагит на фоне гастроэзофагеальной рефлюксной болезни — 5 (10,6%), варикозное расширение вен пищевода — 4 (8,5%), эрозивный гастрит — 31 (66,0%), эрозивный дуоденит — 3 (6,4%). Сочетанная патология обнаружена у 10 пациентов (21,3%).

Заключение. Пациентам с клапанной ФП и высоким риском инсульта до начала терапии антикоагулянтами целесообразно выполнять ФЭГДС для своевременного выявления патологии пищевода, желудка и 12-перстной кишки, предрасполагающей к развитию ЖК кровотечений.

Российский кардиологический журнал 2017, 10 (150): 124–132

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-124-132>

Ключевые слова: фибрилляция предсердий, антикоагулянты, риск желудочно-кишечных кровотечений, фиброзофагогастроуденоскопия.

¹ФГБОУ высшего образования "Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова" Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург; ²ФГБУ Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия.

Баранова Е. И.* — д.м.н., профессор кафедры терапии факультетской с курсом эндокринологии, кардиологии и функциональной диагностики с клиникой им. Г. Ф. Ланга, зав. НИЛ метаболического синдрома института эндокринологии Филатова А. Г. — студентка 4 курса лечебного факультета, Ионин В. А. — к.м.н., ассистент кафедры терапии факультетской с курсом эндокринологии, кардиологии и функциональной диагностики с клиникой им. Г. Ф. Ланга.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

baranova.grant2015@yandex.ru

АВК — антагонисты витамина К, ЖК — желудочно-кишечные, ЖКТ — желудочно-кишечный тракт, НОАК — оральные антикоагулянты, НПВП — нестероидные противовоспалительные препараты, РКИ — рандомизированные клинические исследования, ФП — фибрилляция предсердий, ФЭГДС — фиброзофагогастроуденоскопия.

Рукопись получена 21.09.2017

Рецензия получена 22.09.2017

Принята к публикации 25.09.2017

HOW TO REDUCE GASTROINTESTINAL BLEEDING RISK ON ANTICOAGULATION THERAPY IN NON-VALVULAR ATRIAL FIBRILLATION?

Baranova E. I.^{1,2}, Filatova A. G.¹, Ionin V. A.¹

Atrial fibrillation (AF) is a significant risk factor for stroke and systemic embolism. For prevention of these complications, most AF patients are indicated to take anticoagulants, that reduce the risk cardioembolic strokes, but increase the risk of bleedings, and the most prevalent are gastrointestinal (GIB).

Aim. To assess the rate of pathological changes in esophagus, stomach and duodenum, predisposing for GiD, in AF patient with higher risk of stroke and absolute indications for anticoagulation therapy.

Material and methods. The analysis done, of case histories of hospitalized patients in the therapeutical university clinics, in the year 2016; of those — 263 with non-valvular AF. Among 222 patients with AF and higher risk of stroke, who had indications for anticoagulants, 103 underwent screening fibroesophagogastrroduodenoscopy (FEGDS).

Results. The FEGDS, performed in 103 patients with non-valvular AF and high risk of stroke, in 45,6% revealed diseases predisposing to GIB, including esophageal cancer — 1 (2,1%), gastric ulcer — 4 (8,5%), duodenal ulcer — 2 (4,3%), erosive esophagitis and reflux disease — 5 (10,6%), varicose veins of esophagus — 4

(8,5%), erosive gastritis — 31 (66,0%) and erosive duodenitis — 3 (6,4%). Combination of diseases was found in 10 (21,3%) patients.

Conclusion. Patients with non-valvular AF and high stroke risk, before starting therapy with anticoagulants, it is aimworthy to perform FEGDS for on-time screening for esophageal, gastric, duodenal pathologies predisposing to GIB.

Russ J Cardiol 2017, 10 (150): 124–132

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-124-132>

Key words: atrial fibrillation, anticoagulants, gastrointestinal bleeding risk, fibroesophagogastrroduodenoscopy.

¹I. P. Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, Saint-Petersburg;

²Federal Almazov North-West Medical Research Centre of the Ministry of Health, Saint-Petersburg, Russia.

Фибрилляция предсердий (ФП) — наиболее часто встречающееся устойчивое нарушение ритма сердца, диагностируемое ежегодно у 120–215 тысяч новых пациентов. ФП нередко приводит к серьезным

осложнениям (инсульт, системные тромбоэмболии, сердечная недостаточность) и является независимым фактором риска утраты трудоспособности и смертности [1, 2]. В соответствии с Европейскими рекомен-

дациями по ведению пациентов с неклапанной ФП для предупреждения инсульта и системных эмболий большинству пациентов с данной аритмией (мужчинам с числом баллов по шкале CHA₂DS₂-VASC ≥ 2 ; женщинам с числом баллов ≥ 3), несомненно, показана терапия антикоагулянтами — не-антагонистами витамина К оральными антикоагулянтами (НОАК) либо антагонистами витамина К (АВК) [2]. При сопоставлении с варфарином НОАК характеризуются более предсказуемым антикоагулянтным эффектом, быстрым началом и окончанием действия, фиксированными дозами препаратов, меньшей частотой взаимодействий между НОАК, пищевыми продуктами и другими лекарствами, а также предсказуемой фармакодинамикой, что позволяет не проводить регулярное мониторирование терапевтической эффективности. НОАК имеют не меньшую эффективность по предупреждению инсульта и системных эмболий в сравнении с варфарином, а терапия дабигатраном в дозе 150 мг 2 раза в сутки и апиксабаном сопровождается меньшим риском этих осложнений ФП, чем лечение варфарином. Безопасность терапии НОАК не уступает варфарину, число геморрагических инсультов на фоне лечения НОАК ниже, чем при использовании варфарина. Как показал анализ базы данных исследования RE-LY, назначение дабигатрана в соответствии с Европейской инструкцией и сравнение эффективности и безопасности этого препарата с варфарином показало, что частота больших кровотечений и угрожающих жизни кровотечений на фоне применения дабигатрана была ниже, чем на фоне лечения варфарином [3]. В рандомизированных клинических исследованиях на фоне лечения апиксабаном частота кровотечений была ниже, чем при терапии варфарином, а на фоне лечения ривароксабаном частота больших кровотечений сопоставима с эффектом варфарина [2].

Вместе с тем, данные рандомизированных клинических исследований свидетельствуют о том, что риск кровотечений из желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) на фоне лечения НОАК несколько выше, чем при лечении варфарином, особенно, у пациентов высокого риска [2]. Для оценки риска кровотечений у больных ФП предложено использовать различные шкалы, из которых наибольшее распространение получила шкала HAS-BLED: при наличии 3 и более баллов по этой шкале риск кровотечений считается высоким. Однако, констатация высокого риска геморрагии не является основанием для не назначения терапии антикоагулянтами, предупреждающими инсульт и системные эмболии, а служит поводом для коррекции модифицируемых факторов риска кровотечений (АДс >160 мм рт.ст., применение антиагрегантов и нестероидных противовоспалительных препаратов, употребление 8 и более доз алкоголя в неделю). Кроме того, следует выявлять и по воз-

можности корректировать другие потенциально модифицируемые факторы риска кровотечений, к которым относятся: анемия, тромбоцитопения, сниженная функция почек и нарушенная функция печени. В реальной клинической практике желудочно-кишечные (ЖК) кровотечения относятся к числу наиболее часто встречающихся кровотечений на фоне терапии АВК и НОАК у больных с ФП [4]. Большие ЖК кровотечения представляют серьезное осложнение антикоагулянтной терапии и встречаются с частотой примерно 1-4% в год, из которых 10% заканчиваются летальным исходом [5]. Среди пациентов, у которых развивается острое ЖК кровотечение из верхних отделов ЖКТ, до 15% больных принимают антикоагулянты, а при кровотечении из нижнего сегмента ЖКТ таких пациентов до 32% [6, 7]. Чаше всего ЖК кровотечения развиваются в первые месяцы после начала терапии антикоагулянтами, что может свидетельствовать о наличии предшествующей патологии, которая проявляется на фоне терапии препаратами, влияющими на гемостаз.

Цель исследования: определить частоту патологических изменений пищевода, желудка и двенадцатиперстной кишки, которые могут осложняться ЖК кровотечениями, у больных с неклапанной формой ФП и высоким риском инсульта при наличии показаний к терапии антикоагулянтами.

Материал и методы

Проведен анализ 1682 историй болезней пациентов, госпитализированных в 2016 году в отделения кардиологии и терапии клиники терапии факультетской “Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И. П. Павлова” Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В 2016г в клинику госпитализировано 263 больных с неклапанной формой ФП. У этих пациентов проведен анализ риска развития инсульта и системных эмболий по шкале CHA₂DS₂-VASC и риск развития кровотечения на фоне терапии антикоагулянтами по шкале HAS-BLED.

Ста трём пациентам с наличием абсолютных показаний для назначения терапии антикоагулянтами выполнена фиброэзофагогастродуоденоскопия (ФЭГДС) по стандартному протоколу для выявления патологии пищевода, желудка и 12-перстной кишки, которая может потенциально осложниться развитием ЖК кровотечения. ФЭГДС была выполнена не всем пациентам, так как это исследование не входит в стандарт обследования больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями, в том числе пациентов с ФП.

Статистический анализ полученных данных выполнен с помощью программного обеспечения StatPlus (macOS). Статистический анализ проводился с применением параметрического критерия, группы

Таблица 1

Характеристика пациентов с неклапанной ФП

Показатель	n (%)
Число пациентов с неклапанной ФП	263
Женщины/мужчины	146 (55%) / 117(45%)
Возраст больных (среднее)	68,9±0,7 лет
Число баллов по шкале CHA ₂ DS ₂ -VASc (среднее)	4,0±0,1
Число больных с количеством баллов ≥2 (м) и ≥3 (ж) по шкале CHA ₂ DS ₂ -VASc	222 (84%)
Число больных с количеством баллов ≥1 (м) и ≥2 (ж) по шкале CHA ₂ DS ₂ -VASc	28 (11%)
Число больных с 0 баллов или 1 баллом у женщин по шкале CHA ₂ DS ₂ -VASc	13 (5%)
ХСН	78 (30%)
АГ	247 (94%)
Возраст ≥75 лет	95 (36%)
Возраст 65-74 года	79 (30%)
Возраст менее 65 лет	89 (34%)
Сахарный диабет	74 (28%)
Инсульт в анамнезе	32 (12%)
Заболевания, обусловленные атеросклерозом (ИБС, атеросклероз периферических артерий)	129 (49%)
Число баллов по шкале HAS-BLED (среднее)	2,21±0,06
АД >160 мм рт.ст.	225 (85%)
Нарушение функции почек (хронический диализ, трансплантация почки, креатинин крови ≥200 мкмоль/л)	6 (2%)
Нарушение функции печени (хроническое заболевание печени, например, цирроз и/или уровень билирубина >2 верхних границ нормы и/или уровень АСТ/АЛТ >3 верхних границ нормы)	9 (3%)
Инсульт в анамнезе (геморрагический)	1 (0,4%)
Кровотечение в анамнезе, которое потребовало госпитализации и/или гемотрансфузии и/или снижение гемоглобина ≥2 г/л	6 (2%)
Лабильное МНО у пациентов, получающих варфарин (в целевом диапазоне менее 60% определений)	29 (43%)
Возраст >65 лет	174 (66%)
Применение НПВС и/или ГКС	5 (2%)
Применение антиагрегантов (совместно с антикоагулянтами)	15 (6%)
Злоупотребление алкоголем ≥8 доз в неделю	7 (3%)
Анемия	58 (22%)
Патология, предрасполагающая к кровотечению (геморрой, язвенная болезнь, эрозивный гастрит в анамнезе)	70 (27%)

сравнения анализировались методом χ^2 . Достоверными считались различия при $p < 0,05$.

Результаты

Большинство больных с ФП, госпитализированных в терапевтическую клинику университета, имели неклапанную форму аритмии — 263 пациента, в том числе 146 (55%) женщин и 117 (45%) мужчин. Характеристика пациентов с неклапанной ФП представлена в таблице 1.

В соответствии с Европейскими рекомендациями по ведению больных с фибрилляцией предсердий (2016) предупреждение инсульта — одно из приоритетных направлений лечения пациентов с этой аритмией. Риск инсульта и системных эмболий принято оценивать по шкале CHA₂DS₂-VASc. При наличии 2 и более баллов (для мужчин) или 3 и более баллов (у женщин) по шкале CHA₂DS₂-VASc у больных с неклапанной ФП имелись несомненные показания для терапии антикоагулянтами, таких пациентов в нашем исследовании было 222 (84,4%), в том числе

132 женщины и 90 мужчин. При наличии 1 и более баллов (у мужчин) или 2 баллов (у женщин) по шкале CHA₂DS₂-VASc терапия антикоагулянтами обсуждалась — таких больных в нашем исследовании было 28 (10,7%), в том числе 11 женщин и 17 мужчин. Не имели факторов риска инсульта, то есть, имели 0 баллов по шкале CHA₂DS₂-VASc или 1 балл (обусловлен женским полом) лишь 13 пациентов с ФП (4,9%).

Наиболее часто встречающимися факторами риска инсульта и системных эмболий в обследуемой группе пациентов были артериальная гипертензия — у 247 (94%) больных и возраст 75 лет и старше — у 184 (70%). Реже наблюдались другие факторы риска инсульта: возраст 65-74 года, заболевания, ассоциированные с атеросклерозом, хроническая сердечная недостаточность, сахарный диабет, инсульт в анамнезе. Среднее значение суммы баллов по шкале CHA₂DS₂-VASc у больных с неклапанной ФП было равно 4,0±0,1, а у больных с наличием несомненных показаний для антикоагулянтной терапии — 4,6±0,2 баллов. Следовательно, большинству пациентов

Таблица 2

Патология пищевода, желудка и 12-перстной кишки, выявленная при ФЭГДС и характеристика пациентов с ФП, у которых выявлена и не выявлена патология ЖКТ

Показатель	Патология при ФГДС (n=47)	Без патологии при ФГДС (n= 56)	Достоверность различий (p)
Рак пищевода	1 (2,1%)	-	-
Варикозное расширение вен пищевода	4 (8,5%)	-	-
ГЭРБ, эрозивный эзофагит	5 (10,6%)	-	-
Язва желудка	4 (8,5%)	-	-
Язва 12-перстной кишки	2 (4,3%)	-	-
Эрозивный гастрит	31 (66,0%)	-	-
Эрозивный дуоденит	3 (6,4%)	-	-
Сочетанная ЖК патология	10 (21,3%)	-	-
Возраст	71,2±1,2	72,8±1,3	0,429
Число баллов по шкале HAS-BLED (среднее)	3,1±0,1	2,3±0,1	0,0001
АД >160 мм рт.ст.	45 (95,7%)	50 (89,3%)	0,107
Нарушение функции почек	2 (4,3%)	0 (0%)	0,399
Нарушение функции печени	3 (6,4%)	1 (1,8%)	0,489
Инсульт в анамнезе	1 (2,1%)	0 (0%)	0,876
Кровотечение в анамнезе	2 (4,3%)	1 (1,8%)	0,877
Лабильное МНО	4 (50,0%)	10 (55,5%)	0,795
Возраст >65 лет	37 (78,7%)	46 (82,1%)	0,852
НПВС и/или ГКС	1 (2,1%)	1 (1,8%)	0,9
Злоупотребление алкоголем (≥8 доз в неделю)	1 (2,1%)	2 (3,6%)	0,664
Анемия	16 (34,0%)	16 (28,6%)	0,701
Антиагреганты, в том числе двойная антиагрегантная терапия	9 (19,1%)	19 (33,9%)	0,145
Варфарин	8 (17,0%)	18 (32,1%)	0,125
НОАК	8 (17,0%)	11 (19,6%)	0,939
Дабигатран	4 (8,5%)	2 (3,6%)	0,519
Ривароксабан	4 (8,5%)	6 (10,6%)	0,966
Апиксабан	0 (0%)	3 (5,4%)	0,307
Жалобы, характерные для патологии пищевода, желудка и 12-перстной кишки	3 (6,4%)	7 (12,5%)	0,477

антикоагулянты были показаны, риск инсульта у них был высокий.

Риск кровотечения оценивали по шкале HAS-BLED, также принимали во внимание и другие факторы риска кровотечений (анемия, тромбоцитопения, и др.). У 102 (46,0%) из 222 пациентов, имевших абсолютные показания к антикоагулянтной терапии, число баллов по шкале HAS-BLED было 3 и более, то есть, риск кровотечений у них был высоким. Самыми частыми факторами риска кровотечений у обследованных пациентов были артериальная гипертензия — у 102 пациентов (100%), возраст старше 65 лет — у 97 (95,1%). Такие факторы, как использование антиагрегантов, нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), кровотечение в анамнезе, хроническая патология почек и печени встречались значительно реже. Среднее значение суммы баллов по шкале HAS-BLED у больных с неклапанной ФП составило 2,21±0,06, а у 222 пациентов с ФП, которым была показана терапия антикоагулянтами, составило 2,42±0,06 баллов.

Из 222 пациентов с ФП, имевших несомненные показания к терапии антикоагулянтами, ФЭГДС выполнена 103 пациентам (46,4%). Патология пищевода, желудка и 12-перстной кишки, предрасполагающая к кровотечениям, выявлена у 47 (45,6%) больных, а у 56 (54,4%) пациентов с ФП такая патология отсутствовала.

У 47 больных с верифицированной при ФЭГДС патологией выявлены: рак пищевода — 1 (2,1%), язва желудка — 4 (8,5%), язва 12-перстной кишки — 2 (4,3%), гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, осложнившаяся эрозивным эзофагитом — 5 (10,6%), варикозное расширение вен пищевода — 4 (8,5%), эрозивный гастрит — 31 (66,0%), эрозивный дуоденит — 3 (6,4%). Среди этих пациентов 10 (21,3%) имели сочетанную патологию (табл. 2).

Сравнительный анализ больных с ФП — у которых при ФЭГДС были выявлены заболевания, предрасполагающие к развитию желудочно-кишечных кровотечений, и у которых при ФЭГДС не обнаружено патологии, выявил следующее. Пациенты,

у которых выявлена патология, имели больше баллов по шкале HAS-BLED ($3,1 \pm 0,1$ и $2,3 \pm 0,1$, соответственно, $p < 0,0001$), то есть имели более высокий риск кровотечений. По другим клиническим признакам различий между группами не выявлено. Анализ проводимой антикоагулянтной терапии не выявил влияния различных антикоагулянтов на возникновение патологии пищевода, желудка и 12-перстной кишки.

Следует отметить, что частота жалоб, характерных для патологии пищевода, желудка и 12-перстной кишки, не различалась у больных с ФП, у которых была выявлена патология при ФЭГДС и у которых не было обнаружено патологических изменений при эндоскопическом исследовании. Частота жалоб была проанализирована исходно и после получения результатов гастроскопии.

Всем больным, у которых при ФЭГДС были обнаружены патологические изменения, назначена фармакотерапия соответствующих заболеваний, после чего повторно выполнена ФЭГДС и, при отсутствии изменений, назначена (или возобновлена) терапия антикоагулянтами. Всем больным с кислото-зависимыми заболеваниями пищевода, желудка и 12-перстной кишки назначены ингибиторы протонной помпы или блокаторы H_2 -рецепторов для постоянного применения. Пациентам с варикозным расширением вен пищевода и диагностированным циррозом печени антикоагулянты не назначались. Пациент с раком пищевода был госпитализирован в отделение онкологии для решения вопроса о дальнейшей тактике лечения.

Обсуждение

Большинство пациентов (84,4%) с неклапанной ФП, госпитализированных в кардиологическое и терапевтическое отделения университетской клиники, имели высокий риск развития инсульта и системных эмболий и несомненные показания для назначения антикоагулянтов. В настоящее время доказано, что применение варфарина в сравнении с плацебо снижает риск инсульта на 64%, а риск смерти на 26% [8]. Новые прямые антикоагулянты, не относящиеся к АВК, характеризуются не меньшей эффективностью, чем варфарин. Следует отметить, что лишь дабигатран в дозе 150 мг 2 раза в день более эффективно, чем варфарин, предупреждает развитие ишемического инсульта (RE-LY). Европейские рекомендации по ведению пациентов с ФП 2016г постулируют, что при отсутствии противопоказаний всем больным с неклапанной ФП и высоким риском инсульта следует проводить терапию антикоагулянтами, отдавая предпочтение НОАК (1А) [2].

В то же время, назначая антикоагулянты на длительное время (как правило, пожизненно), следует учитывать факт, что на фоне применения этих препаратов увеличивается риск кровотечений. Мета-ана-

лиз 47 исследований показал, что на фоне применения антагонистов витамина К частота больших кровотечений составляет 2,1 (от 0,9 до 3,4) на 100 пациенто-лет в контролируемых исследованиях и 2,0 (от 0,2 до 7,6) на 100 пациенто-лет в наблюдательных исследованиях [9]. На фоне применения НОАК риск больших кровотечений, как показали рандомизированные исследования, не выше, чем на фоне использования варфарина. Назначение дабигатрана в соответствии с Европейской инструкцией, как показал анализ базы данных исследования RE-LY, сопровождалось меньшей частотой больших кровотечений, чем лечение варфарином [3].

Среди обследованных нами 222 пациентов с неклапанной ФП, имевших несомненные показания для терапии антикоагулянтами, у 46,0% отмечался высокий риск кровотечений — они имели 3 и более баллов по шкале HAS-BLED.

Вместе с тем, высокий риск кровотечений — не повод отказываться от терапии антикоагулянтами, а основание для коррекции модифицируемых факторов риска: следует контролировать артериальную гипертонию, при нестабильном МНО переходить на НОАК, исключить сочетание антикоагулянтов с антиагрегантами или назначать их сочетание только по абсолютным показаниям, свести к минимуму применение НПВП, исключить употребление алкоголя, установить причину анемии, тромбоцитопении и скорректировать их [10]. Именно воздействие на факторы риска кровотечений считается наиболее эффективным способом снижения риска кровотечений на фоне лечения антикоагулянтами.

Большинство кровотечений, возникающих на фоне лечения антикоагулянтами, — ЖК. Назначение дабигатрана в дозах 150 мг и 110 мг 2 раза в день в соответствии с Европейской инструкцией (110 мг 2 раза в день больным 80 лет и старше, принимающим верапамил, имеющим высокий риск кровотечений — ≥ 3 баллов по шкале HAS-BLED, остальным — 150 мг 2 раза в день), как показал анализ базы данных исследования RE-LY, сопровождалось в сравнении с варфарином сопоставимой частотой ЖК кровотечений [3]. Рандомизированные клинические исследования (РКИ) показали, что лечение апиксабаном также сопровождалось сопоставимой частотой ЖК кровотечений. В то же время, терапия ривароксабаном в дозе 20 мг 1 раз в день и эдоксабаном в дозе 60 мг 1 раз в день характеризовалась большим числом ЖК кровотечений, чем лечение варфарином.

Данные реальной клинической практики, в том числе результаты наблюдательных исследований, свидетельствуют о меньшей частоте ЖК кровотечений на фоне применения НОАК, чем было установлено ранее в РКИ [11]. В частности, последующий анализ клинических данных и результаты реальной клинической практики свидетельствуют о большей

безопасности дабигатрана. Мета-анализ данных 26 клинических исследований, в которых сравнивались результаты терапии дабигатраном и варфарином, показал, что частота ЖК кровотечений на фоне терапии дабигатраном и варфарином не различались [12]. К сожалению, прямые “head-to-head” сравнения НОАК в рандомизированных исследованиях в настоящее время отсутствуют и не предвидятся в ближайшем будущем. В недавно проведенном наблюдательном сравнительном “head-to-head” исследовании, в которое был включен 118891 пациент с клапанной ФП в возрасте 65 лет и старше, терапия ривароксабаном сопровождалась более высоким риском больших ЖК кровотечений в сравнении с дабигатраном в дозе 150 мг 2 раза в день (отношений риска 1,40) [13]. В мета-анализе, проведенном Bai Y, et al., при сравнительном исследовании дабигатрана и ривароксабана установлено, что ЖК кровотечения чаще возникают на фоне применения ривароксабана, причем это различие было характерно как для высоких, так и для низких доз сравниваемых препаратов [14]. В проведенном нами исследовании не установлено различий в частоте применения НОАК у больных с наличием и отсутствием патологии пищевода, желудка и 12-перстной кишки (17,0% и 19,6%, соответственно). При оценке безопасности НОАК большое значение следует придавать крупным регистрам больных с ФП [15]. Именно информация, полученная в ходе анализа этих регистров, позволит получить новые данные о частоте кровотечений на фоне применения различных НОАК и сделать вывод о рациональном выборе среди этих препаратов.

Существует мнение, что терапия антикоагулянтами — своеобразный тест, который может выявлять существующий рак ЖКТ [16, 17]. Как правило, ЖК кровотечения у пациентов с ФП возникали в первые 6 месяцев после начала терапии варфарином и НОАК [17]. В субанализе исследования RE-LY было установлено, что часть (8,1%) больших ЖК кровотечений на фоне терапии антикоагулянтами обусловлена существовавшими ранее злокачественными образованиями, в частности, колоректальными раками [18]. Для пациентов, получающих терапию клопидогрелом или варфарином, у которых развивалось ЖК кровотечение, шансы диагностировать рак на ранней стадии были в 6 раз выше, чем у больных, не получавших препараты, влияющие на гемостаз и агрегацию тромбоцитов [16].

Для предупреждения больших ЖК кровотечений следует тщательно оценить риск развития кровотечений перед началом терапии антикоагулянтами. В частности, целесообразно проводить скрининг злокачественных новообразований ЖКТ до начала терапии и периодически (1 раз в год) на фоне лечения с помощью неинвазивных методов — с этой целью следует выполнять клинический анализ крови для

диагностики анемии и анализ кала на скрытую кровь [18, 19]. Clemens A, et al. считают, что анализ кала на скрытую кровь следует проводить через 2-4 недели после начала терапии антикоагулянтами, что может способствовать ранней диагностике рака [17]. Раннее выявление злокачественных новообразований позволит снизить частоту осложнений и смертность этих больных.

Можно согласиться с существующим мнением, что у большинства пациентов с ЖК кровотечениями на фоне терапии антикоагулянтами ранее существовала онкологическая или другая патология, которая проявляется на фоне лечения антикоагулянтами [20]. В нашем исследовании при ФЭГДС, выполненной по стандартному протоколу 103 больным с ФП, которые получали терапию антикоагулянтами или эта терапия им была показана в связи с высоким риском инсульта или системной эмболии, лишь у 1 больного выявлен рак пищевода, но у 46 пациентов обнаружена другая патология, которая может осложняться ЖК кровотечением. Чаще всего выявлялся эрозивный гастрит (66,0%), эрозивный эзофагит на фоне ГЭРБ (10,6%), реже встречался эрозивный дуоденит (6,4%). У 8,5% пациентов была выявлена язва желудка и у 4,3% — язва 12-перстной кишки. У 8,5% диагностировано варикозное расширение вен пищевода. У 21,2% больных имелась сочетанная патология. Следует подчеркнуть, что частота жалоб, характерных для заболеваний пищевода, желудка и 12-перстной кишки у больных с выявленной при ФЭГДС патологией не отличалась от подгруппы больных без патологии. Это отсутствие различий сохранялось даже при повторном опросе пациентов после получения результатов ФЭГДС. У пациентов с выявленной при ФЭГДС патологией был выше риск кровотечений, о чем свидетельствует большее число баллов по шкале HAS-BLED, других достоверных отличий между подгруппами с выявленной при ФЭГДС патологией и без патологии не было.

Обнаруженные изменения слизистой пищевода, желудка и 12-перстной кишки имеют большое значение для тактики ведения пациентов, которым планируется антикоагулянтная терапия. По мнению Desai JC, et al., у больных пожилого возраста, принимающих НОАК, местная антикоагулянтная активность может привести к кровотечениям у пациентов с такими часто встречающимися, бессимптомными повреждениями слизистой, как эрозии [21].

Для снижения риска кровотечений у больных старше 65 лет, в том числе, у имеющих патологию пищевода, желудка или 12-перстной кишки, целесообразно антикоагулянты принимать в сочетании с гастропротекторами (ингибиторами протонной помпы или антагонистами H₂-рецепторов), что ассоциируется с 50% снижением риска ЖК кровотечений [22]. Этот протективный эффект доказан в отноше-

нии патологии верхнего сегмента ЖКТ для пациентов, у которых в анамнезе было указание на язвенную болезнь или ЖК кровотечение.

В нашем исследовании всем больным с кислото-зависимыми заболеваниями пищевода, желудка и 12-перстной кишки назначены ингибиторы протонной помпы или блокаторы H_2 -рецепторов для постоянного применения и после нормализации состояния слизистой начата/возобновлена терапия антикоагулянтами.

Особое внимание следует обратить на пациентов с анемией, особенно железодефицитной — до начала терапии антикоагулянтами следует уточнить причину этого состояния и, при возможности, устранить. В нашем исследовании анемия была обнаружена у 34,0% больных с патологией при ФЭГДС и у 28,6% пациентов без патологии. В дальнейшем эти больные были обследованы для уточнения причины анемии, у части из них выявлена анемия хронического заболевания, у части — геморрой и у нескольких пациентов рак толстой кишки и полипоз толстого кишечника.

Таким образом, следует согласиться с K-S. Cheung и W.K. Leung (2017), что для предупреждения ЖК кровотечений на фоне терапии антикоагулянтами целесообразно:

— точно определить показания к антикоагулянтам и не назначать эти препараты без достаточных оснований (не назначать пациентам с 0 баллов по шкале CHA_2DS_2-VASc);

— избегать применения антикоагулянтов при наличии противопоказаний (CrCl ниже 30 мл/мин для дабигатрана и ниже 15 мл/мин для других НОАК; тяжелых нарушений функции печени с коагулопатией; тромбоцитопении менее 50×10^6 /л);

— использовать дозу НОАК с учетом функции почек и риском кровотечений;

— избегать (при отсутствии несомненных показаний) сочетанного применения антикоагулянтов с антиагрегантами, НПВП;

— пациентам с высоким риском ЖК кровотечения (3 и более баллов по шкале HAS-BLED) или ЖК

кровотечением в анамнезе — назначать гастропротекторы;

— выбирать НОАК с наиболее низким риском ЖК кровотечений [11].

Учитывая результаты данного исследования, считаем целесообразным выполнять ФЭГДС до начала терапии антикоагулянтами у больных ФП для своевременного выявления патологии пищевода, желудка и 12-перстной кишки, предрасполагающей к развитию ЖК кровотечения. В том случае, если источник кровотечения установлен и устранен хирургическим методом или консервативно, терапию антикоагулянтами у больных ФП высокого риска инсульта следует возобновить.

Несмотря на то, что ЖК кровотечения могут представлять серьезную клиническую проблему и иногда заканчиваются летальным исходом, следует учитывать тот факт, что это осложнение антикоагулянтной терапии не сопоставимо с последствиями инсульта, который могут предупредить эти препараты. Существуют доказательства того, что пациенты с фибрилляцией предсердий согласны перенести 4 и более больших ЖК кровотечений для того, чтобы избежать инсульта, приводящего к утрате трудоспособности и способности к самообслуживанию, что пациенты считают “судьбой худшей, чем смерть” [23].

Заключение

1. Большинство пациентов (84,4%) с неклапанной ФП, госпитализированных в клинику университета, имели высокий риск инсульта и системных эмболий и абсолютные показания к терапии антикоагулянтами.

2. ФЭГДС выявила заболевания пищевода, желудка и 12-перстной кишки, предрасполагающие к развитию ЖК кровотечений, у 45,6% больных с неклапанной ФП, высоким риском инсульта и абсолютными показаниями для назначения антикоагулянтов.

3. До начала терапии антикоагулянтами больным с неклапанной ФП с высоким риском инсульта целесообразно проводить ФЭГДС для своевременной диагностики заболеваний, предрасполагающих к развитию ЖК кровотечений.

Литература

- Yoshida T, Fujii T, Uchino S, Takinami M. Epidemiology, prevention, and treatment of new-onset atrial fibrillation in critically ill: a systematic review. *J. Intensive Care*. 2015; 3 (11): 1-11.
- 2016 ESC guidelines for the management of atrial fibrillation: The task force for the management of atrial fibrillation of the European society of cardiology (ESC). *Eur. Heart J*. 2016; DOI:10.1093/eurheartj/ehw210.
- Lip GYH, Clemens A, Noack H, et al. Patient outcomes using European label for dabigatran. A post-hoc analysis from the RE-LY database. *Thromb Haemost*. 2014; 111 (5): 933-42.
- Raiman L, Antbring H, Abu-Sitta A, Al-Refaie FN. A district general hospital experience of patients receiving apixaban, dabigatran, rivaroxaban or warfarin for anticoagulation. *Blood*. 2016; 128: 4733.
- Guerrouij M, Uppal CS, Alklabi A, Douketis JD. The clinical impact of bleeding during oral anticoagulant therapy: assessment of morbidity, mortality and post-bleed anticoagulant management. *J Thromb Thrombolysis* 2011; 31: 419-23.
- Marmo R, Koch M, Cipolletta L, et al. Italian registry on upper gastrointestinal bleeding. Predicting mortality in non-variceal upper gastrointestinal bleeders: validation of the Italian PNED score and prospective comparison with the Rockall score. *Am J Gastroenterol*. 2010; 105: 1284-91.
- Strate LL, Gralnek IM. ACG clinical guideline: management of patients with acute lower gastrointestinal bleeding. *Am J Gastroenterol*. 2016; 111: 459-74.
- Hart RG, Pearce LA, Aguilar MI. Meta-analysis: antithrombotic therapy to prevent stroke in patients who have nonvalvular atrial fibrillation. *Ann Intern Med* 2007; 146: 857-67.
- Roskell NS, Samuel M, Noack H, Monz BU. Major bleeding in patients with atrial fibrillation receiving vitamin K antagonists: a systematic review of randomized and observational studies. *Europace*. 2013; 15: 787-97.
- Lip GYH, Lane DA. Assessing bleeding risk in atrial fibrillation with the HAS-BLED and ORBIT scores: clinical application requires focus. *European Heart J*. 2015; 36: 3265-7.
- Cheung K-S, Leung WK. Gastrointestinal bleeding in patients on novel oral anticoagulants: risk, prevention and management. *World J Gastroenterol*. 2017; 23 (11): 1954-63.
- Di Minno MND, Ambrosino P, Di Minno A, et al. The risk of gastrointestinal bleeding in patients receiving dabigatran etexilate: a systemic review and meta-analysis of the literature. *Ann Med*. 2017; 49 (4): 329-42.

13. Graham D, Reichman ME, Wernecke M, et al. Stroke, bleeding and mortality risks in elderly Medicare beneficiaries treated with dabigatran or rivaroxaban for non-valvular atrial fibrillation. *JAMA Intern Med.* 2016; 176 (11): 1662-71.
14. Bai Y, Deng H, Shantsila A, Lip GYH. Rivaroxaban versus dabigatran or warfarin in real-world studies of stroke prevention in atrial fibrillation. *Stroke.* 2017; 48: 970-6.
15. Mazurek M, Lip GYH. Editorials. *Gastroenterology.* 2017; 152: 932-4.
16. Asimwe A, Li JJ, Weerakkody G, et al. Diagnoses of gastrointestinal cancers after gastrointestinal bleeding in patients receiving clopidogrel or warfarin. *Curr Drug Saf.* 2013; 8: 261-9.
17. Clemens A, Stack A, Noack H, et al. Anticoagulant-related gastrointestinal bleeding — could this facilitate early detection of benign or malignant gastrointestinal lesions? *Annals of medicine* 2014; DOI: 10.3109/07853890.2014.952327.
18. Flack KF, Desai J, Kolb JM, et al. Major gastrointestinal bleeding often is caused by occult malignancy in patients receiving warfarin or dabigatran to prevent stroke and systemic embolism from atrial fibrillation. *Clinical Gastroenterol Hepatol.* 2017; 15: 682-90.
19. Huisman MV, Lip GY, Diener HC, et al. Dabigatran etexilate for stroke prevention in patients with atrial fibrillation: resolving uncertainties in routine practice. *Thromb Haemost.* 2012; 107: 838-47.
20. Norton SA, Armstrong CP. Lower gastrointestinal bleeding during anticoagulant therapy: a life-saving complication? *Ann R Coll Surg Engl.* 1997; 79: 38-9.
21. Desai JC, Chatterjee P, Friedman K, Aisenberg J. Incidence and clinical presentation of gastrointestinal bleeding in atrial fibrillation patients taking direct oral anticoagulants. *Am J Gastroenterol.* 2016; 3, suppl.: 13-21.
22. Chan EW, Lau WC, Leung WK, et al. Prevention of dabigatran-related gastrointestinal bleeding with gastroprotective agents: a population-based study. *Gastroenterology* 2015; 149: 586-95.
23. LaHaye S, Reggala S, Lacombe S, et al. Evaluation of patients' attitudes towards stroke prevention and bleeding risk in atrial fibrillation. *Thromb Haemost.* 2014; 111: 456-73.

ГИПЕРТОНИЧЕСКАЯ БОЛЕЗНЬ: ГЕНЕТИКА, КЛИНИКА, ЭКСПЕРИМЕНТ

Маркель А. Л.^{1,2}

Материал лекции посвящен рассмотрению генетико-физиологических механизмов гипертонической болезни (ГБ). Дается очень краткая историческая справка о первоначальном формировании клинических представлений о ГБ. Приводятся рассуждения об этиологии ГБ, рассмотрены ее эволюционно-генетические корни в связи с формированием основных систем регуляции АД. Более подробно излагаются сведения о генетической основе гипертонических состояний и ГБ. Отдельно говорится о моногенных формах артериальной гипертонии и о полигенной основе ГБ, которой представлено подавляющее число случаев гипертонических состояний человека. Рассмотрены современные методы выявления генетических основ ГБ и подчеркивается важность установления основных этиологических факторов — генетических, эпигенетических и средовых — и их взаимодействия для разработки рациональных методов терапии и профилактики ГБ.

Российский кардиологический журнал 2017, 10 (150): 133–139
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-133-139>

Ключевые слова: гипертоническая болезнь, клинические сведения, эволюционное происхождение, генетическая детерминация.

¹ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск; ²Новосибирский Государственный университет, Новосибирск, Россия.

Маркель А. Л. — зав. лабораторией эволюционной генетики.

Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): markel@bionet.nsc.ru

ГБ — гипертоническая болезнь, АД — артериальное давление, АГ — артериальная гипертония, SNP — single nucleotide polymorphisms.

Рукопись получена 13.05.2017

Рецензия получена 19.05.2017

Принята к публикации 04.09.2017

ESSENTIAL SYSTEMIC HYPERTENSION: GENETICS, CLINICS, EXPERIMENT

Markel A. L.^{1,2}

The lecture is focused on the exploration of genetic and physiological mechanisms of essential systemic hypertension (ESH). A very brief historic review is provided on the first clinical meanings of the ESH. Then some speculation provided, on its etiology, evolutionary-genetic roots regarding the formation of the main BP regulation systems. More detailed, the data is shown on genetic base of hypertensive conditions and ESH. Also, some discussion given on the monogenic forms of arterial hypertension and polygenic fundamentals of ESH, which is the most among hypertension conditions of human. Modern methods considered for genetic origins of ESH evaluation, and a necessity is underlined for the main etiological factors revealing — as of their interrelation for development of rational treatment and prevention methods against ESH.

Russ J Cardiol 2017, 10 (150): 133–139

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-133-139>

Key words: essential hypertension, clinical data, evolution origin, genetic determination.

¹FRC Institute of Cytology and Genetics SD RAS, Novosibirsk; ²Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia.

Гипертоническая болезнь (ГБ) — это комплексное мультифакториальное заболевание, основным симптомом которого является стойкое повышение артериального давления (АД). Практически все статьи, посвященные ГБ, начинаются с описаний чрезвычайной распространенности данного заболевания и его губительных последствий для здоровья, поэтому я ограничусь только подтверждением этого неоспоримого факта. Несмотря на то, что ГБ имеет тысячелетнюю историю (она является спутником цивилизации), достоверные сведения о ней появились после того, как врачами Сципионом Рива-Роччи (Scipione Riva-Rocci) и Николаем Сергеевичем Коротковым были разработаны надежные методы измерения АД. Впервые термин “эссенциальная гипертония” (Essentielle Hypertonie) упоминается в работе немецкого врача-нефролога Эриха Франка [1]. Со времен выдающегося английского врача-терапевта Ричарда Брайта (Richard Bright), описавшего в 1827г тяжелое заболевание почек — гломерулонефрит, и экспериментов Гарри Гольдблатта (Harry Goldblatt), создав-

шего в 1934г первую экспериментальную модель артериальной гипертонии у собак путем сужения почечных артерий, утвердилось мнение о тесной связи ГБ с патологией почек. Отсюда крылатые слова: “Blood pressure follows the kidney” (артериальное давление следует за почкой) [2]. Главным апологетом почечного происхождения ГБ был выдающийся физиолог Артур Гайтон (Artur Guyton). Однако уже Эрихом Франком [1] было установлено, что подавляющее число случаев ГБ не обязано своим появлением почечной патологии, отсюда и появилось в его статье название — эссенциальная гипертония (Essentielle Hypertonie). Гипертонии, развивающиеся по причине почечных или некоторых других патологий, таких как болезни эндокринной системы, получили название вторичных, в отличие от первичной или эссенциальной ГБ. До настоящего времени существует единое мнение, что этиология (исходная причина) ГБ неизвестна. Есть много так называемых факторов риска, но они не рассматриваются в качестве первоначальных причин. “Отсутствие” видимой

причины может объясняться двумя обстоятельствами. Во-первых, причина может быть столь естественной (натуральной), что говорить о ней как о причине болезни просто не приходит в голову, да и сама болезнь тогда предстает в образе некоторого естественного процесса. Можно провести аналогию со старостью — можно ли говорить о старости как о болезни и можно ли вылечиться от нее? Конечно, на скорость старения влияет множество факторов и ее наступление может замедляться или ускоряться и протекать совершенно в разных формах, но по сути она является естественным и неизбежным итогом жизни, предваряющим ее завершение. Кстати, развитие ГБ также связано с естественным старением. Во-вторых, допустима такая ситуация, когда у ГБ нет единой причины, а их несколько. Причем, каждая из них в одиночку не приводит к заболеванию, но сочетаясь разными способами у разных людей они могут приводить к единому результату — повышению АД. Хотя пути достижения этого результата могут быть различными, конечные звенья патогенеза — повышение сосудистого сопротивления и/или массы циркулирующей крови и сердечной производительности — будут едины для всех случаев и вариантов ГБ. Но можно ли на основании общности конечных звеньев развития ГБ, при наличии различных патогенетических путей повышения АД, объединять их под названием единой нозологической формы — ГБ? Ведь если лечение адресовать к начальным звеньям патогенеза, которые могут различаться у разных больных, то и лечение должно быть разным (что на самом деле и происходит). Попыткой ответа на этот и связанные с ним вопросы является предлагаемая лекция.

В 1933г Эдгар Хайнс [3] представил первую довольно полную клиническую классификацию гипертензивных состояний, согласно которой они разделяются на две главные формы: первичную или эссенциальную и вторичную, включающую несколько видов патологий способных вызвать повышение АД (заболевания почек, атеросклероз, коарктация аорты, некоторые сердечные пороки, эндокринные заболевания и повреждения мозга). Эта классификация с рядом уточнений и дополнений используется и в настоящее время [4].

Основываясь на широких популяционных и клинических исследованиях, международное врачебное сообщество пришло к заключению, что нормальными величинами АД следует признать 120/80 (систолическое/диастолическое) мм рт.ст. Повышение этих величин до 140/90 мм рт.ст. — еще не гипертензия, но уже предгипертензивное состояние. Если же АД поднимается выше уровня 140/90 до 160/100 мм рт.ст. — это первая степень ГБ, а выше 160/100 — вторая степень [5]. Правда, в недавно опубликованной работе Qaseem A, et al. [6] для людей старше 60 лет даются другие границы повышения АД, достижение которых

является показанием для начала терапии. У таких пациентов лекарственное лечение целесообразно начинать при достижении систолическим АД 150 мм рт.ст. и выше. Однако, если в анамнезе таких пациентов имеется перенесенный мозговой инсульт или коронарная болезнь, а также при наличии высокого риска возможных осложнений целевой уровень для снижения систолического АД должен опускаться ниже 140 мм рт.ст. Выдающийся эпидемиолог Джеффри Роуз [7] считал, что терапию ГБ следует начинать при таких уровнях АД, при которых препараты и вызванное ими снижение АД приносят больше пользы, чем вреда. Тем не менее, границу 140/90 принято считать (и это подтверждается клинической практикой) красной линией между нормо- и гипертензией.

Итак, широкое распространение ГБ и отсутствие для этого видимых причин, создают впечатление, что развитие ГБ является неким фатальным событием, для которого характерна природная предопределенность, составляющая как бы сущность человека. Недаром ГБ дано определение эссенциальная (*essentia* — сущность, лат.). А наша исходная сущность — это наш геном. Конечно, формирование фенотипа происходит при взаимодействии генотипа со средой, и изменяя среду, образ жизни, диету, род занятий, социальное окружение, меняя вредные привычки и т.д., можно как способствовать, так и препятствовать проявлению генетически предопределенных свойств. Но успех или неуспех средовых модификаций также зависит от силы генетических влияний на проявления признака. В прошлом у меня состоялся короткий, но знаменательный разговор с одним из ведущих ученых, занимающихся проблемой гипертонии, профессором Детлефом Гантеном (Detlev Ganten), в то время Президентом Всемирной Лиги Гипертонии (President of the World Hypertension League — *Charité Universitätsmedizin and the Max Delbrück Center, Berlin-Buch*). Я спросил: “Уважаемый профессор, сколько генов, по вашему мнению ответственны за формирование ГБ?” Д. Гантен ответил коротко, но исчерпывающе: “Все гены!”. Конечно, не все в равной степени, но тем не менее — весь геном. Отчего же наш геном так невзлюбил нас (или, скорее, мы его), что обрек нас на гипертонию? Отвечая на этот вопрос, позвольте мне сослаться на некоторые положения моей статьи из журнала Генетика [8].

Прежде всего хотелось бы начать, как и в этой статье, со знаменитой фразы выдающегося американского генетика русского происхождения Феодосия Григорьевича Добжанского: “Nothing in biology makes sense except in the light of evolution” (Смысл в биологии раскрывается только в свете эволюции). Эта рекомендация дает ключ к пониманию природы ГБ, так как именно рассмотрение эволюционных корней помогает объяснить широкое распростране-

ние ГБ в мире и ее генетическую сущность. Дело в том, что человеческий род (род *Homo*) эволюционировал на протяжении миллионов лет. От момента появления *Homo habilis* (человек умелый) до начала неолитической революции и нашей цивилизации прошло более 2 млн лет. На это “доисторическое” время приходится 99,5% от общего числа сменившихся поколений рода *Homo* и лишь 0,5% приходится на период от неолита до наших дней [9]. Отсюда следует, что эволюционное формирование генома человека происходило задолго до наступления эпохи цивилизации, которая насчитывает около 10-15 тыс. лет — период в эволюционном масштабе ничтожный. Таким образом, основные генетико-физиологические системы адаптации человека сформировались в соответствии с условиями среды в которой жили наши доисторические предки. Древние люди жили в жарком африканском климате и в их диете преобладала бедная солью растительная пища. Жаркий климат требовал усиленной отдачи тепла главным образом путем повышенного потоотделения, которое по расчетам днем должно было составлять около 2 л/час. Это приводило к значительным потерям соли и воды, что компенсировалось благодаря повышенному солевому аппетиту и созданию мощной системы задержки натрия и воды почками [10]. Повышенная способность сохранять соль в организме стала важнейшим адаптивным механизмом. Усиленное потоотделение в дневные часы приводит к значительным суточным колебаниям массы внеклеточной жидкости и циркулирующей крови. Поэтому для поддержания стабильного АД необходимо было в широких пределах осуществлять регуляцию сосудистого тонуса. Далее, сон и бодрствование древних людей согласовывались с естественным циклом ночь-день. Стрессы, как правило, носили острый, но не хронический характер. Практически все занятия древних людей — добывание пищи и воды, избегание хищников, постройка жилья и социальные взаимодействия — были связаны с физической активностью. Человек питался свежими, зачастую сырыми продуктами. Именно к таким условиям жизни был приспособлен древний человек, и он передал это наследство современным людям практически в неизменном виде. Развитие цивилизации резко изменило среду обитания человека — изменилась психосоциальная организация, питание — свободный доступ к соли, обилие сахара и других углеводов, жирная и высокообработанная пища. Получили распространение малоподвижный образ жизни, урбанизация и хронический стресс. Эволюция генома не поспевает за эволюцией цивилизации, и это противоречие приводит к развитию так называемых болезней цивилизации, таких как ГБ, диабет, ожирение. В этом отношении интересны сведения, приведенные в обзоре Carrera Bastos P, et al. [9] об индейцах Амазонии и жителях

островов Тихого океана и некоторых областей Африки, живущих в примитивных условиях, добывающих пропитание охотой и собирательством и практически изолированных от “благ” современной цивилизации. У этих людей АД на протяжении практически всей их жизни (исследованы люди от первых лет жизни и до возраста старше 50 лет, мужчины и женщины) не превышает 120/80 мм рт.ст. Эти цифры АД, несмотря на использование всех новейших медицинских технологий, являются недостижимой целью для современных людей старше 50 лет, живущих в развитых цивилизованных странах. Конечно, со времени выхода людей из Африки (60-70 тыс. лет назад) и их расселения на Евро-Азиатских просторах в разных популяциях могли измениться частоты аллелей, в том числе генов, регулирующих АД и имеющих адаптивную ценность. Наличие или отсутствие этих мутаций вносит, очевидно, вклад в индивидуальные, популяционные и этнические различия по предрасположенности к ГБ [11]. Так, афро-американцы имеют повышенную вероятность заболеть ГБ, так как время их адаптации с момента перемещения из Африки на Американский континент около 300-350 лет. Много также зависит от того, как человек способен избегать действия неблагоприятных средовых факторов. Показано, что уменьшение потребления соли приводит к снижению АД на 7 мм рт.ст. у здоровых людей и на 11 мм рт.ст. у больных ГБ [12].

Итак, очевидно, мы имеем дело с единой высокоинтегрированной генетико-физиологической системой, включающей множество взаимодействующих генов, детерминирующих функцию общеорганизменных систем, участвующих в регуляции функции сердечно-сосудистой системы и АД. Можно выделить как минимум четыре основных регуляторных системы, определяющих величину АД:

1) Нервная регуляция со стороны симпатического и парасимпатического отделов нервной системы, функция которых, в свою очередь, интегрируется высшими нервными центрами;

2) Почечный контроль, осуществляющий регуляцию водно-электролитного баланса организма и, следовательно, таких важных констант как масса циркулирующей плазмы и концентрация натрия и калия, что оказывает непосредственное влияние на систему кровообращения и АД;

3) Контроль со стороны эндокринной системы. Такие гормоны как адреналин, вазопрессин, тироксин, натриуретический пептид, ангиотензин, альдостерон, кортизол, адреномедуллин и др. играют как самостоятельную роль, так и участвуют в осуществлении нервной и почечной регуляции АД;

4) Наконец, большой вклад делают локальные регуляторы сосудистого тонуса: оксид азота и один из самых эффективных вазоконстрикторов — эндоте-

лин, и множество других тканевых метаболитов и локально синтезируемых факторов.

Такая сложная и многоуровневая система контроля АД, действительно, предполагает наличие обширной генетической базы, определяющей функцию всех регуляторных систем, и утверждение о том, что практически все гены принимают участие в регуляции АД, наверное, отражает действительную картину. Однако, дело в том, что влияние разных генов далеко не равнозначно. Есть гены, влияние которых на АД столь ничтожно, что обнаружить его практически невозможно, но с другой стороны имеется ряд генов, мутации которых приводят к резко выраженным изменениям АД и эти случаи фактически являются моногенными патологиями. Правда, частота таких мутаций очень мала и число моногенных форм АГ составляет доли процента от всех случаев ГБ. Но эти варианты гипертонии чрезвычайно показательны, так как мутации генов, обуславливающие моногенные формы АГ, изменяют функцию почек и/или надпочечников, что подчеркивает особое значение этих органов в формировании ГБ. Более подробное и полное описание этих и других моногенных гипертоний можно найти в обзорах [13, 14]. Хотя сами мутации, приводящие к развитию моногенных форм гипертонии, не имеют прямого отношения к патогенезу эссенциальной гипертонии, они все-таки представляют значительный интерес, так как они маркируют гены, имеющие ряд полиморфных аллелей, которые скорее всего не оказывают самостоятельного выраженного эффекта, но в сочетании с аллельными вариантами других генов могут участвовать в формировании сложной полигенной структуры, лежащей в основе эссенциальной гипертонии [15].

Что касается раскрытия генетической базы собственно эссенциальной гипертонии, то в настоящее время проводятся интенсивные исследования с использованием полногеномного поиска ассоциаций маркированных локусов генома с АД. Именно такой подход, позволяющий оценить вклад множества генов в детерминацию ГБ, рассматривается в качестве метода выбора при изучении генетики ГБ. Два исследования по полногеномному анализу ассоциаций, сделанные в 2009г, каждое из которых охватило примерно по 25 тыс. европейцев, помогли выявить ассоциации 13-и генетических локусов с систолическим и диастолическим давлением и с гипертонией как таковой [16, 17]. Обширное исследование, сделанное Международным консорциумом в 2011г [18], охватило в общей сложности 203056 человек европейского происхождения, которые были генотипированы с помощью 2,5 млн однонуклеотидных полиморфных маркеров (SNP — single nucleotide polymorphisms). Обнаружено 29 SNP достоверно ассоциированных с АД (систолическим, диа-

столическим или с тем и другим). Из них ассоциацию 16-и SNP авторы обнаружили впервые. Два маркера были расположены рядом с генами *FURIN* (кодирует про-протеин конвертазу) и *GOSR2* (кодирует транспортный белок аппарата Гольджи, имеются сведения, что он связан с семейными случаями ГБ), которые ранее были охарактеризованы как ассоциированные с гипертонией [19, 20]. Также выявлен ряд генов (*NPR3*, *GUCY1A3-GUCY1B3*, *ADM*, *GNAS-EDN3*, *NPPA-NPPB* и *CYP17A1*), которые включены в метаболические пути, связанные с регуляцией АД. В то же время, 22 локуса, ассоциированные с АД, ранее не значились в таком качестве и не считались генами-кандидатами. Авторы пишут, что, как и ожидалось, на основании опыта предыдущих исследований, вклад обнаруженных локусов в дисперсию уровней АД оказался очень небольшим. Единственным геном, который мог существенно повлиять на величину АД, был ген цитохрома *CYP17A1*, принимающего участие в стероидогенезе. Этот ген причастен к формированию наследственной гиперплазии надпочечника, а его мутантный аллель является редким вариантом и оказывает сильное влияние на АД [21]. Авторы проделали такое же, как на европейцах, исследование небольших популяций из Восточной Азии (n=29719), Южной Азии (n=23977) и Африки (n=19775). Ассоциации использованных SNP с АД были обнаружены для 9 локусов в Восточной Азии, для 6 — в популяции из Южной Азии, и практически не было найдено достоверных ассоциаций в африканской популяции. Авторы объясняют отсутствие согласования европейских данных с азиатскими и африканскими очевидной генетической гетерогенностью сравниваемых популяций и небольшими выборками.

Необходимо остановиться на опубликованном в этом году исследовании Warren HR, et al. [22], которое значительно расширило представления о генетической базе ГБ. Этому в значительной мере помогла интегральная оценка сведений, полученных при проведении полногеномного анализа ассоциаций, с представлениями о физиологических и биохимических путях регуляции АД. Исследование проведено на более чем 140 тысячах не состоящих в родстве европейцах. В результате выявлено 107 локусов, из которых 24 были ассоциированы с систолическим АД, 41 — с диастолическим, и 42 — с пульсовым АД. Многие из этих локусов были ассоциированы более чем с одним показателем величины АД.

Некоторые SNP оказались в составе или вблизи генов, участие которых в регуляции АД хорошо известно, например, это ген *ACE* (ангиотензин конвертирующий фермент), *CACNA2D2* (ген субъединицы потенциал-зависимого кальциевого канала), *MMM* (ген металло-эндопептидазы/нейтральной эндопептидазы), *ADRA2B* (ген адренорецептора бета-2В) и *PDE5* (ген фосфодиэстеразы 5а). Кроме того,

27 локусов оказались связанными в качестве факторов риска с другими сердечно-сосудистыми заболеваниями, включая коронарную болезнь и инфаркт миокарда. Наконец, анализ метаболических путей, вовлеченных в заболевания сердечно-сосудистой системы, выявил их обогащение за счет альфа-адренергической, хемокиновой, эндотелиновой и ангиотензиновой рецепторных систем. В дополнение к анализу ассоциаций были получены данные по транскрипции и функциональным характеристикам обнаруженных генов. Показано, что гены, ассоциированные с выявленными локусами, экспрессируются в разных тканях, но преимущественно в стенках артерий. Дальнейший анализ экспрессии 76-и выявленных генов обнаружил у ряда из них наличие их совместной коэкспрессии в гладкомышечных клетках сосудистой стенки, в фибробластах аорты и клетках эндотелия, что свидетельствует о том, что функция идентифицированных генов существенна прежде всего для тканей, включенных в регуляцию сердечно-сосудистой системы. Таким образом, полногеномный анализ локусов, ассоциированных с ГБ, вкпе с анализом метаболических путей, в которых эти гены участвуют, выявил те из них, которые причастны к развитию ГБ и патологии сердечно-сосудистой системы. Было найдено сходство полученных данных по участию некоторых генетических систем в регуляции АД с известными ранее результатами.

Что интересно, исследователи создали весьма информативную шкалу генетического риска с учетом возможных комбинаций из обнаруженных 107 генетических локусов для оценки вероятности развития ГБ. Оценка состояния здоровья в отдельной группе пациентов старше 50 лет с помощью созданной авторами шкалы риска показала, что систолическое АД в группе пациентов, расположенной в нижней части шкалы риска, на 9-10 мм рт.ст. ниже, чем в группе, расположенной в верхней части. Ранее было показано, что изменения диеты сами по себе также могут приводить к снижению систолического АД на 10 мм рт.ст., что значительно снижает заболеваемость ГБ и смертность по причине сердечно-сосудистых болезней [23]. Таким образом, применение разработанной авторами шкалы генетического риска наряду с учетом других данных можно использовать для оценки вероятности заболеть ГБ, что дает возможность принять превентивные меры, например, изменить диету уже в раннем возрасте. Также шкала генетического риска может быть использована для оценки возможного развития коронарной болезни, мозгового инсульта и других сердечно-сосудистых осложнений.

Таким образом, применение метода полногеномного анализа ассоциаций, действительно, открывает новые возможности для раскрытия генетической базы комплексных, полигенных заболеваний, к которым относится не только ГБ, но и другие широко

распространенные неинфекционные заболевания [24]. Главное достоинство метода заключается в том, что благодаря высокой плотности распределения многочисленных SNP маркеров удается с высокой степенью разрешения просканировать весь геном. Тем не менее, и на этом пути обнаружен ряд “подводных камней”. Выяснилось, что суммарный (аддитивный) эффект на величину АД всех выявляемых с помощью полногеномного анализа генетических локусов не превышает 2-3% от общей величины генетической изменчивости признака в популяции, в то время как показатель наследуемости уровня АД приближается к 50%. Этот феномен обозначается как “потерянная наследуемость” (missing heritability) [25, 26]. Возникает вопрос, где “прячутся” и что представляют собой локусы, которые отвечают за основную долю изменчивости величин АД и как они взаимодействуют между собой и со средой? Принято считать, что такой количественный признак, каковым является уровень АД, определяется действием большого числа аддитивно действующих генов (локусов) [27], что нашло выражение в концепции о суммировании минимальных генетических вкладов (cumulative-miniature effect) [28]. Из этой концепции следует, что, во-первых, вклад каждого локуса (гена) в определение величины признака столь незначителен, что для обнаружения заметного генетического эффекта необходимо суммировать действия многих локусов. Во-вторых, каждый ген влияет на признак аддитивным способом и последовательное суммирование эффектов многих локусов образует линейную корреляцию с признаком [29]. На самом деле, реальность сложнее простой аддитивной модели. Феномен “потерянной наследуемости” можно понять, хотя бы отчасти, при учете действия таких факторов, как межгенные взаимодействия (эпистаз) и действие внутригеномных в том числе, эпигенетических регуляций. В связи с этим, участие отдельных локусов в детерминации признака при оценке их изолированного влияния может становиться “невидимым”, но некая совокупность генов благодаря их неаддитивным взаимодействиям может оказать такое влияние на АД, которое значительно превышает эффект простого суммирования. Кроме того, полногеномный анализ ассоциаций зачастую не может обнаружить эффекты редко встречающихся аллелей, влияние которых может быть довольно значительным. Наконец, встает вопрос о возможном вкладе эпигенетических влияний на величину признака.

К настоящему времени получено много доказательств того, что значительную роль в детерминации ГБ играет эпигенетическая модификация функций генов, непосредственно участвующих в регуляции АД [30]. Под эпигенетической регуляцией понимают формирование митотически и/или мейотически наследуемых изменений экспрессии генов, которые

не сопровождаются изменениями их нуклеотидной последовательности [31]. Эпигенетические изменения связаны с несколькими процессами, в том числе с метилированием ДНК, модификацией гистонов и нуклеосом, с посттранскрипционным контролем с помощью некодирующих РНК и РНК-связывающих белков. Таким образом, экспрессия генов может меняться без изменений их первичной последовательности. Эпигенетические изменения могут формироваться при взаимодействии организма со средой. В отличие от наследуемых генных мутаций они потенциально обратимы.

Особое место в формировании эпигенетических изменений, приводящих к возникновению патологических состояний, включая ГБ, отводится периоду раннего пре- и постнатального развития [32]. Хотя ГБ проявляется у людей зрелого и пожилого возраста, развитие заболевания может начинаться гораздо раньше, вполне возможно начиная с внутриутробного периода [33]. Особую роль играют условия, нарушающие питание плода. При этом, плод приспособляется к жизни в условиях ограниченных ресурсов, сохраняя витальные органы и функции ценой торможения других, например, за счет задержки развития почек, что впоследствии окажется важным для возникновения ГБ [34]. В популяционных исследованиях отмечено, что повышение АД с наибольшей вероятностью встречается у взрослых людей, у которых матери во время беременности получали низкокалорийное питание с пониженным содержанием белка. Ретроспективная оценка условий внутриутробного развития 10636 взрослых жителей Англии и Уэльса, родившихся в промежутке между 1911 и 1930 гг, по их весу и длине тела при рождении и в первый год жизни выявила обратное соотношение между весом при рождении и развитием во взрослом возрасте сердечно-сосудистой патологии и смертности от нее [35]. Показана связь между недостаточным питанием матери, низким весом новорожденных и последующим развитием у них патологии почек и АГ [36]. У таких детей обнаружено уменьшение размеров почек и снижение числа нефронов, что может предопределять развитие ГБ [37, 38].

Процессы де- и реметилирования генома происходят во время эмбрионального и раннего постнатального развития. Именно поэтому эти периоды считаются “чувствительными” или “критическими”

для модификации путей развития организма под влиянием среды. Низкобелковая диета беременной крысы ассоциирована с общим снижением метилирования генома, что связывают с дефицитом некоторых аминокислот — доноров метильных групп [39]. В список деметилированных генов попадают гены ренин-ангиотензиновой системы, в том числе, ген рецептора ангиотензина *AT1b*, экспрессия которого при этом повышается. Это приводит к усилению эффектов ангиотензина-II и повышению секреции альдостерона, что направляет систему регуляции АД на путь формирования стойкой АГ. Есть все основания полагать, что такой же механизм формирования ГБ может действовать в эмбриональном периоде развития человека [40].

В качестве краткого резюме необходимо отметить следующее:

1. ГБ — это заболевание, имеющее глубокие эволюционные корни, что обуславливает ее широкое распространение. С этим же связано то, что генетическая база ГБ весьма обширна и включает множество генов, оказывающих комплексное влияние на функцию всех организменных систем, участвующих в регуляции АД.

2. Генетическая база ГБ характеризуется как индивидуальной, так и популяционной гетерогенностью, что препятствует установлению универсальной причины формирования ГБ и делает это заболевание действительно мультифакториальным (многопричинным).

3. Формирование ГБ контролируется как аддитивными, так и неаддитивными эффектами генов, а также взаимодействиями генотипа со средой, причем средовые влияния могут реализоваться через систему эпигенетических регуляций.

4. Желательной целью дальнейшего развития генетико-физиологических исследований ГБ представляется разработка системы генетических и метаболических маркеров, которая позволила бы индивидуализировать картину ГБ у пациентов, и не на словах, а на деле перейти к персонализированной терапии ГБ, а также к составлению прогноза возможного развития заболевания и к выработке рациональных способов профилактики.

Благодарности. Работа выполнена при поддержке бюджетного проекта № 0324-2016-0002 и гранта РФФИ № 16-04-00763.

Литература

1. Frank E. Essentielle Hypertonie. *Deutsches Archiv für Klinische Medizin* 1911; 103: 397-412.
2. Koeners MP, Braam B, Joles JA. Blood pressure follows the kidney: Perinatal influences on hereditary hypertension. *Organogenesis* 2008; 4: 153-7.
3. Hines EA Jr. Some recent concepts concerning essential hypertension. *J South Carolina* 1933; 29: 186-91.
4. Schiffrin EL, Touyz RM (Editors). *Hypertension*. Published by Future Medicine Ltd. London, 2013, 273 pp.
5. JNC7-The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA* 2003; 289: 2560-72.
6. Qaseem A, Wilt TJ, Rich R, et al. Pharmacologic Treatment of Hypertension in Adults Aged 60 Years or Older to Higher Versus Lower Blood Pressure Targets: A Clinical Practice Guideline From the American College of Physicians and the American Academy of Family Physicians. *Annals of Internal Medicine* 2017; 166: 430-7.
7. Rose G. Strategy of prevention: lessons from cardiovascular disease. *British Medical Journal* 1981; 282: 1847.
8. Markel AL. Evolutionary and Genetic Roots of Hypertensive Disease. *Russian Journal of Genetics* 2015; 51: 545-57 (In Russ.) Маркель АЛ. Эволюционно-генетические корни гипертонической болезни. *Генетика* 2015; 51: 545-57).
9. Carrera-Bastos P, O'Keefe JH, Cordain L, Lindeberg S. The western diet and lifestyle and diseases of civilization. *Research Reports in Clinical Cardiology* 2011; 2: 15-35.
10. Newman RW. Why man is such a sweaty and thirsty naked animal: A speculative review. *Hum Biol* 1970; 42: 12-27.
11. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Worldwide trends in blood pressure from 1975 to 2015: a pooled analysis of 1479 population-based measurement studies with 19.1 million participants. *Lancet* 2017; 389: 37-55.
12. Williams B, Lacy PS, Thom SM and the CAFE Investigators, and the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial Investigators, and the CAFE Steering Committee and Writing Committee. Differential impact of blood pressure-lowering drugs on central aortic pressure and clinical outcomes: principal results of the Conduit Artery Function Evaluation (CAFE) study. *Circulation* 2006; 113: 1213-25.
13. Roskopf D, Schürks M, Rimmbach C, Schäfers R. Genetics of arterial hypertension and hypotension. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology* 2007; 374: 429-69.
14. Simonetti GD, Mohaupt MG, Bianchetti MG. Monogenic forms of hypertension. *European Journal of Pediatrics* 2012; 171: 1433-9.
15. Tobin MD, Tomaszewski M, Braund PS, et al. Common variants in genes underlying monogenic hypertension and hypotension and blood pressure in the general population. *Hypertension* 2008; 51: 1658-64.
16. Newton-Cheh C, Johnson T, Gateva V, et al. Genome-wide association study identifies eight loci associated with blood pressure. *Nature Genetics* 2009; 41: 666-76.
17. Levy D, Ehret GB, Rice K, et al. Genome-wide association study of blood pressure and hypertension. *Nature Genetics* 2009; 41: 677-87.
18. International Consortium for Blood Pressure Genome-Wide Association Studies. Genetic variants in novel pathways influence blood pressure and cardiovascular disease risk. *Nature* 2011; 478: 103-9.
19. Meyer TE, Shiffman D, Morrison AC, et al. GOSR2 Lys67Arg is associated with hypertension in whites. *American Journal of Hypertension* 2009; 22: 163-8.
20. Li N, Luo W, Juhong Z, et al. Associations between genetic variations in the *FURIN* gene and hypertension. *BMC Medical Genetics* 2010; 11: 124.
21. Mussig K, Kaltenbach S, Machicao F, et al. 17 α -Hydroxylase/17, 20-lyase deficiency caused by a novel homozygous mutation (Y27Stop) in the cytochrome *CYP17* Gene. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2005; 90: 4362-5.
22. Warren HR, Evangelou E, Cabrera CP, et al. Genome-wide association analysis identifies novel blood pressure loci and offers biological insights into cardiovascular risk. *Nature Genetics* 2017; 49: 403-15.
23. The SPRINT Research Group. A randomized trial of intensive versus standard blood-pressure control. *New Engl J Med* 2015; 373: 2103-16.
24. Favorova OO, Bashinskaya VV, Kulakova OG, et al. Genome wide association study as a method for genetic architecture analysis in polygenic diseases (by the example of multiple sclerosis). *Molecular Biology* 2014; 48 (4): 573-86. (In Russ.) Фаворова О.О., Башинская В.В., Кулакова О.Г., и др. Полногеномный поиск ассоциаций как метод анализа генетической архитектуры полигенных заболеваний (на примере рассеянного склероза). *Молекулярная биология* 2014; 48 (4): 573-86).
25. Zuk O, Hechter E, Sunyaev SR, Lander ES. The mystery of missing heritability: genetic interactions create phantom heritability. *Proc Natl Acad Sci U SA* 2012; 109: 1193-8.
26. Deng AY. Genetic mechanisms of polygenic hypertension: fundamental insights from experimental models. *Journal of Hypertension* 2015; 33: 669-80.
27. The International Consortium for blood pressure. Genetic variants in novel pathways influence blood pressure and cardiovascular disease risk. *Nature* 2011; 478: 103-9.
28. Ehret GB, Caulfield MJ. Genes for blood pressure: an opportunity to understand hypertension. *Eur Heart J* 2013; 34: 951-61.
29. Chauvet C, Crespo K, Menard A, et al. Modularization and epistatic hierarchy determine homeostatic actions of multiple blood pressure quantitative trait loci. *Hum Mol Genet* 2013; 22: 4451-9.
30. Scherer U, Rimoldi SF, Sartori C, et al. Fetal programming and epigenetic mechanisms in arterial hypertension. *Curr Opin Cardiol*. 2015; 30: 393-7.
31. Dupont C, Armant DR, Brenner CA. Epigenetics: definition, mechanisms and clinical perspective. *Semin Reprod Med* 2009; 27: 351-7.
32. Mizuno M, Siddique K, Baum M, Smith SA. Prenatal programming of hypertension induces sympathetic overactivity in response to physical stress. *Hypertension* 2013; 61: 180-6.
33. Kunes J, Zicha J. The interaction of genetic and environmental factors in the etiology of hypertension. *Physiol Res* 2009; 58, Suppl. 2: S33-S41.
34. Gluckman PD, Hanson MA. Developmental origins of disease paradigm: a mechanistic and evolutionary perspective. *Pediatr Res* 2004; 56: 311-7.
35. Barker DJ, Osmond C, Golding J, et al. Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease. *BMJ* 1989; 298: 564-7.
36. Ritz E, Amann K, Koleganova N, Benz K. Prenatal programming-effects on blood pressure and renal function. *Nat Rev Nephrol* 2011; 7: 137-44.
37. Zandi-Nejad K, Luyckx VA, Brenner BM. Adult hypertension and kidney disease: the role of fetal programming. *Hypertension* 2006; 47: 502-8.
38. Franco MC, Casarini DE, Carneiro-Ramos MS, et al. Circulating renin-angiotensin system and catecholamines in childhood: is there a role for birthweight? *Clin Sci (Lond.)* 2008; 114: 375-80.
39. Jackson AA, Dunn RL, Marchand MC, Langley-Evans SC. Increased systolic blood pressure in rats induced by a maternal low-protein diet is reversed by dietary supplementation with glycine. *Clin Sci (Lond.)* 2002; 103: 633-9.
40. Bogdarina I, Welham S, King PJ, et al. Epigenetic modification of the renin-angiotensin system in the fetal programming of hypertension. *Circ Res* 2007; 100: 520-6.

СТРУКТУРНАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ГЕНОМА ЛЕЙКОЦИТОВ И КЛЕТОК АРТЕРИЙ ПРИ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ У ЧЕЛОВЕКА

Слепцов А. А.¹, Назаренко М. С.^{1,2,3}, Пузырев В. П.^{1,3}

В обзоре рассмотрены существующие представления о структурной изменчивости генома соматических клеток как компоненты, связанной с атеросклерозом. Приведены результаты собственного исследования о спектре вариаций числа копий участков ДНК в лейкоцитах периферической крови и клетках артерий при их атеросклеротическом поражении у человека. Обозначены перспективы исследования структурной вариабельности генома соматических клеток для понимания патогенетики многофакторных заболеваний человека.

Российский кардиологический журнал 2017, 10 (150): 140–146
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-140-146>

Ключевые слова: атеросклероз, CNV, вариации числа копий участков ДНК, микрочипы, биомаркеры, диагностика.

¹Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск; ²ФГБНУ Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, Томск; ³ФГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет* Минздрава России, Томск, Россия.

Слепцов А. А. — м.н.с. лаборатории популяционной генетики, Назаренко М. С.* — к.м.н., руководитель лаборатории популяционной генетики, Пузырев В. П. — д.м.н., академик РАМН, профессор, научный руководитель, научный руководитель.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
maria.nazarenko@medgenetics.ru

aCGH — англ. array-based Comparative Genomic Hybridization, матричная сравнительная геномная гибридизация, CNV — англ. Copy Number Variation, вариабельность числа копий участков ДНК, DGV — англ. Database of Genomic Variants, база данных геномных вариаций человека, HMGR — 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА-редуктаза, iPSCs — англ. induced Pluripotent Stem Cells, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, pFDR — достигнутый уровень значимости статистического теста, скорректированный методом Benjamini-Hochberg, ГМК — гладкомышечные клетки, ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота.

Рукопись получена 21.06.2017
 Рецензия получена 09.08.2017
 Принята к публикации 04.09.2017

STRUCTURAL VARIABILITY OF LEUCOCYTE GENOME AND ARTERIAL CELLS IN HUMAN ATHEROSCLEROSIS

Sleptsov A. A.¹, Nazarenko M. S.^{1,2,3}, Puzyrev V. P.^{1,3}

The review is focused on current views on the structural variation of genome of somatic cells as components related to atherosclerosis. The original data presented on the variation spectrum of DNA areas copies in peripheral blood leucocytes and arterial cells in human atherosclerosis. The future directions sketched for the research on somatic cells genome variation with the aim for pathogenetics of multifactorial diseases.

Russ J Cardiol 2017, 10 (150): 140–146
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-140-146>

Key words: atherosclerosis, CNV, DNA areas copies variation, microchips, biomarkers, diagnostics.

¹SRI of Medical Genetics, Tomsk National Research Center of RAS, Tomsk; ²SRI of Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Tomsk; ³Siberian State Medical University (SSMU), Tomsk, Russia.

Хорошо известно, что патогенез атеросклеротического поражения артерий представляет собой многофакторный и многостадийный процесс, в развитие которого существенный вклад вносит генетическая компонента [1, 2]. Несмотря на активное проведение исследований в области генетики атеросклероза и его клинических осложнений, список генов, изменчивость которых может быть фактором риска развития и прогрессии данных заболеваний, относительно небольшой, а однонуклеотидный полиморфизм объясняет лишь малую долю наследуемости данных заболеваний. Исследования ассоциаций выявляют генетическую детерминированность факторов риска атеросклероза (дислипидемия и артериальная гипертензия) и, следовательно, ранних этапов атерогенеза, но не проясняют всего спектра молекулярных меха-

низмов патологических изменений, происходящих в стенке артерий при развитии сосудистых осложнений [3, 4].

Можно предположить, что одна из причин такого состояния дел в данной области знаний связана с исключительным вниманием к наследуемым полиморфным генетическим вариантам. В то же время, вне фокуса внимания исследователей находятся изменения нуклеотидной последовательности ДНК, возникающие в соматических клетках в ходе онтогенеза или, по крайней мере, на этапах, предшествующих развитию заболевания. Недавние работы показывают, что приобретенные человеком в течение жизни (постзиготические) и ненаследуемые изменения генома соматических клеток представляют собой недооцененный источник вариабельности в развитии

и прогрессии различных заболеваний, в том числе, многофакторной природы [5-8]. Не исключено, что генетическая вариабельность клеток артерий может модифицировать развитие и течение их атеросклеротического поражения у индивидов, предрасположенных к данному заболеванию [2].

Теоретические предпосылки существования соматической вариабельности генома в клетках сосудов

В рамках разрабатываемых теорий мутационной изменчивости соматических клеток особое внимание уделяется особой форме неменделевского наследования — “парадоминантному наследованию” [9-11]. Сущность парадоминантного наследования заключается в комбинации унаследованных генетических изменений с возникшими *de novo* соматическими мутациями в том же локусе (рис. 1). Гетерозиготные по парадоминантной мутации индивидуумы имеют нормальный фенотип и передают мутантный аллель через поколения без проявления, а гомозиготы являются летальными. Патологический признак (фенотип, болезнь) проявляется только в том в случае, если соматическая мутация возникает на очень ранних стадиях эмбриогенеза, что приводит к потере гетерозиготности и формированию гомозиготных или гомизиготных популяций клеток. В результате эмбрион становится мозаичным. Такие мозаичные генотипы могут обнаруживаться у нескольких членов одной родословной, формируясь у каждого из родственников независимо в ходе онтогенеза, но на общей генетической основе. Это симулирует аутосомно-доминантный тип наследования, что и отражено в названии механизма “парадоминантность”. Парадоминантное наследование напоминает, но не соответствует двухударной модели Кнудсена, согласно которой, вторая мутация происходит в любой момент в постнатальном онтогенезе [2].

Первоначально предполагалось, что концепция парадоминантного наследования может выступать в качестве объяснения этиологии ряда наследственных синдромов, проявляющихся патологией кожных покровов — синдром МакКьюна-Олбрайта, пигментные невусы Беккера [9, 10]. Однако последующие исследования показали, что данный феномен наблюдался и при локальных структурных нарушениях, которые возникают в ходе васкулогенеза [12]. Например, в клетках вен при их мультифокальных аномалиях на коже и слизистых у одного и того же человека идентифицированы как унаследованные, так и мутации *de novo* в гене эндотелиальной тирозиновой киназы (*TEK*) [12]. Мутации *de novo* выявлены также в тканях сосудов у больных при аневризме абдоминальной части аорты [13] и легочной артериальной гипертензии [14]. Данные примеры подчеркивают важность анализа вариабельности нуклеотидной последовательности ДНК не только в лейкоцитах периферической крови

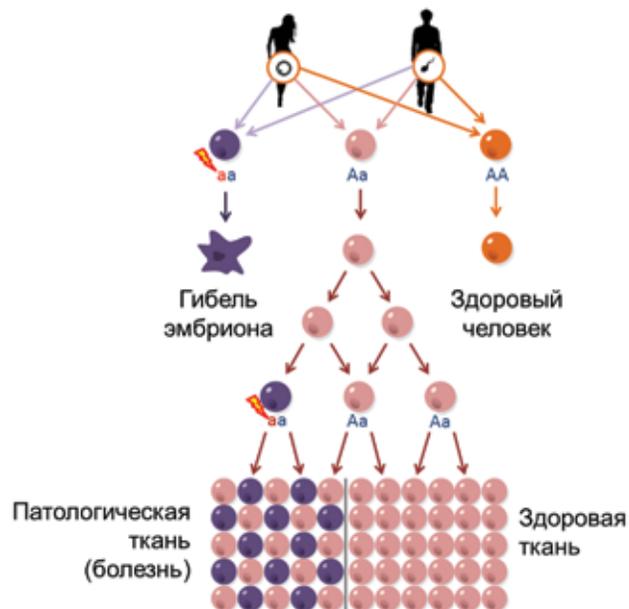


Рис. 1. Схематичное представление гипотезы “парадоминантного наследования”. Аллель “А” — норма; аллель “а” — мутация [цитируется по 2].

индивидов, но и в других клетках, особенно, в органах-мишенях заболеваний.

Сосуществование мажорных и минорных генетических вариантов, как в нормальных, так и в пораженных заболеванием тканях, позволило сформулировать гипотезу о предсуществующей внутритканевой генетической гетерогенности как высокоспециализированной форме соматического мозаицизма [15, 16]. Предполагается, что во время раннего эмбрионального развития существует краткий период времени, когда в определенных тканях временно инактивированы механизмы репарации ДНК, что приводит к аккумуляции нескольких генетических вариантов. Мутации не являются результатом процесса *de novo*, а предсуществуют, хотя и в очень небольшом количестве клеток определенной ткани. Основное отличие данной гипотезы от “парадоминантного наследования” заключается в том, что отбор мутаций будет являться более критичным событием в патогенезе заболевания, чем собственно спонтанный мутагенез.

Экспериментальные работы по изучению вариабельности генома при атеросклерозе

События, которые инициируют атерогенез в артериях, активно обсуждаются на протяжении нескольких десятилетий. Открытие моноклональности гладкомышечных клеток (ГМК) в стенке артерий послужило причиной рассмотрения формирования атеросклеротических бляшек с позиций неопластического процесса. В этом случае, мутация в одной из ГМК приводит к ее трансформации в клетку-предшественника пролиферативного клона [17]. В пользу соматической мутационной концепции атерогенеза

свидетельствует большое количество экспериментальных исследований [17-19]. Повреждение ДНК, характерное для клеток атеросклеротических бляшек на ранних стадиях заболевания, возрастает с увеличением степени тяжести патологии и почти универсально обнаруживается в клетках на поздних стадиях атеросклероза [20].

Одной из первых соматических мутаций, обнаруженных в ГМК атеросклеротических бляшек коронарных и сонных артерий человека, является мутация в полиадениновом тракте гена рецептора трансформирующего ростового фактора β , II типа (*TGFBR2*) [21]. В связи с тем, что данная мутация выявлена в единичных первичных и рестенозирующих атеросклеротических бляшках артерий, полагают, что она не принимает участие в патогенезе заболевания [22, 23]. Мутации в гене *TGFBR2* часто выявляются при микросателлитной нестабильности в опухолевых клетках. Неудивительно, что в ГМК артерий, пораженных атеросклерозом, по сравнению с интактными сосудами, также описаны феномены микросателлитной нестабильности и потери гетерозиготности по целому ряду локусов [24-28].

Потеря гетерозиготности выявлена в генах мисматч-репарации ДНК в атеросклеротических бляшках аорты, что может приводить к нарушению репарации и прогрессирующему накоплению мутаций в геноме клеток [25]. В другой работе показано, что потеря гетерозиготности является частым событием в клетках сонных артерий, и она обнаружена в динуклеотидном повторе гена *NOS3* [27]. Фермент *NOS3* участвует в образовании оксида азота, который обладает сосудорасширяющим эффектом, и задействован в патогенезе атеросклероза, ингибируя пролиферацию ГМК, адгезию лейкоцитов, агрегацию тромбоцитов.

Кроме того, в макрофагах и ГМК атеросклеротических бляшек зарегистрированы другие варианты повреждений ДНК в виде разрывов, модификаций оснований (окисление) и ДНК-аддуктов [18, 21]. В данных клетках обнаружены маркеры повреждения ДНК и активации системы репарации, и фосфорилированные формы белков АТМ и γ H2AX, которые связаны с тяжестью атеросклероза.

С другой стороны, имеются свидетельства о "макроповреждениях" ДНК, которые представлены числовыми и структурными перестройками хромосом в ГМК артерий с атеросклеротическими изменениями, полученные в результате использования методов классической цитогенетики и флуоресцентной *in situ* гибридизации. Наиболее частые перестройки включают моносомию по Y- и трисомию по 7 хромосомам. Трисомия по 7 хромосоме связана с увеличением экспрессии генов *PDGFA*, *MET* и *EGFR*, локализованных на данной хромосоме. Белковые продукты данных генов могут стимулировать пролиферацию ГМК, что

косвенно подтверждает моноклональную гипотезу атерогенеза. Хромосомные аномалии в ГМК обнаруживались только в нестабильных атеросклеротических бляшках сонных артерий [29, 30]. Кроме ГМК, высокий уровень анеуплоидии выявлен в мультиядерных эндотелиальных клетках аорты из области атеросклеротических бляшек. Причем, данные клетки отличались повышенным уровнем поглощения холестерина ЛПНП и, в последующем, его скоплением в субэндотелиальном слое интимы [31].

Таким образом, повреждение ДНК, выявленное в макрофагах, эндотелиальных и гладкомышечных клетках артерий, тесно связано с патогенезом атеросклероза. При атеросклеротическом поражении артерий повреждение ДНК происходит в клетках при репликации, а также под влиянием окислительного стресса и различных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний (курение, дислипидемия, артериальная гипертензия, сахарный диабет 2 типа, ожирение, хронические инфекции, гипергомоцистеинемия, лекарственная терапия и др.). Уменьшение уровня антиоксидантов и снижение эффективности репарации ДНК, которое увеличивается с возрастом, также вносит вклад в повреждение ДНК при атерогенезе. В результате, клетки замедляют или останавливают процесс деления и в них активируется система репарации ДНК. В том случае, если повреждение ДНК нельзя исправить, клетки подвергаются преждевременному старению, которое проявляется укорочением теломера, и апоптозу.

Функциональные последствия повреждения ДНК в клетках артерий при атеросклерозе изучены не в полной мере. Полагают, что уменьшение пролиферации и преждевременное старение ГМК может ингибировать рост атеросклеротических бляшек, в то же время, секреция провоспалительных цитокинов при старении клеток способствует развитию атеросклероза. Апоптоз ГМК увеличивает атерогенез, прогрессию и нестабильность атеросклеротических бляшек [32]. Следует отметить, что кроме клеток артерий маркеры повреждения и репарации ДНК идентифицированы в лейкоцитах периферической крови больных атеросклерозом и они коррелируют с факторами риска и степенью тяжести атеросклероза, а также развитием острых сосудистых событий [33, 34].

На данный момент времени, ни одна из выявленных генетических аномалий в клетках атеросклеротически измененных артерий не была специфичной, а также достаточно частой и подтвержденной в нескольких работах, чтобы предположить патогенетический механизм или потенциальный маркер заболевания. Отчасти это связано с тем, что методические подходы, которые использовались при изучении повреждений ДНК в клетках атеросклеротических бляшек, обладали рядом ограничений. В частности, стандартный цитогенетический анализ выполнен

с использованием культивирования клеток, что может приводить к ошибочным результатам за счет селективного роста отдельных клонов клеток в культуре. Оценка хромосомных aberrаций в клетках сосудов проводилась с помощью анализа на препаратах метафазных хромосом с низким разрешением [29].

В последнее время широкое распространение получил метод сравнительной геномной гибридизации, основанный на использовании высокоразрешающих микрочиповых технологий array-CGH (англ. array Comparative Genomic Hybridisation). Данная технология одновременно в образце выявляет такие микроструктурные хромосомные перестройки, как делеции, амплификации и вариации числа копий участков ДНК или CNV (англ. copy number variation). Кроме того, array-CGH позволяет избежать этапа культивирования клеток. В результате использования данного метода показано, что у здоровых индивидов с возрастом увеличивается доля лейкоцитов периферической крови, содержащих CNV [5, 35]. Кроме того, в клетках различных тканей и органов идентифицировано большое количество CNV, затрагивающих гены, белковые продукты которых вовлечены в регуляцию различных процессов [36].

Работы, описывающие вклад CNV в риск развития атеросклероза и его осложнений, немногочисленны и противоречивы [37–41]. В данных исследованиях проводилось тестирование только одной ткани — лейкоцитов периферической крови. Тем самым, не была учтена вариабельность генома клеток артерий, которая может вносить вклад в формирование локальной предрасположенности к атеросклеротическому процессу. Не исключено, что накопленный груз и спектр мутаций может различаться в лейкоцитах и клетках артерий, внося вклад в подверженность и особенности течения атеросклероза и его клинических проявлений. В связи с этим, мы предположили, что методика матричной сравнительной геномной гибридизации может оказаться ценной в доказательстве участия мутаций соматических клеток при формировании атеросклеротической бляшки через сравнительный анализ гибридизационных профилей ДНК из клеток артерий, пораженных атеросклерозом, а также лейкоцитов периферической крови у тех же самых индивидов. При этом изменения, выявленные во всех обследованных тканях, с высокой степенью вероятности имеют герминативное происхождение, тогда как варианты, идентифицированные только в одной из тканей, особенно пораженной патологическим процессом, могут быть расценены как соматические.

Характеристика спектра вариаций числа копий участков ДНК в лейкоцитах периферической крови и клетках артерий при их атеросклеротическом поражении

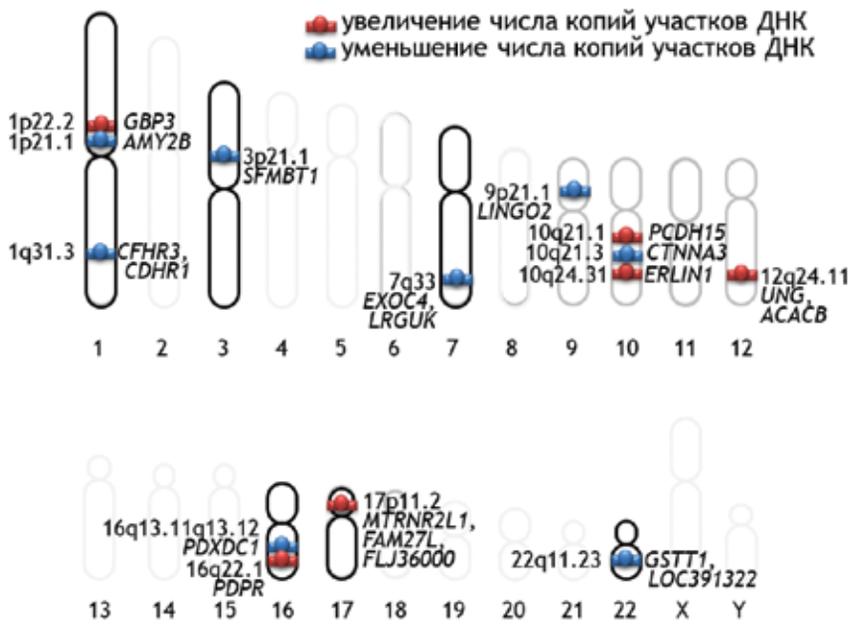
Для исследования использованы образцы ДНК, выделенные из правых коронарных артерий с атеро-

склеротическими бляшками и лейкоцитов периферической крови. Образцы тканей получены от десяти одних и тех же больных с ишемической болезнью сердца. Матричная сравнительная геномная гибридизация выполнена с помощью микрочипов SurePrint G3 Human CGH+SNP Microarray 2x400 K (Agilent Technologies, США). Подробное описание условий эксперимента приведено в опубликованной ранее статье [42].

Всего в анализируемых тканях идентифицировано 90 вариаций числа копий участков ДНК. Все выявленные CNV, кроме одной в хромосомном регионе 10q24.31 (*ERLIN1*), реферируются в базе данных геномных вариаций человека — DGV (Database of Genomic Variants) и, скорее всего, представляют собой полиморфизмы. При сравнении образцов атеросклеротически измененных правых коронарных артерий и лейкоцитов периферической крови, взятых у одного и того же индивида, специфических для какой-либо ткани изменений числа копий участков ДНК не выявлено. Не исключено, что соматические структурные вариации генома могли быть пропущены из-за малого объема выборок, существующих ограничений дизайна микрочипов, а также использованных строгих критериев при биоинформационном анализе данных.

Семьдесят две CNV содержат гены. При функциональной аннотации данных генов, согласно базам данных KEGG и Gene Ontology, наиболее представленными оказались категории, связанные с иммунновоспалительным ответом (семейство генов *DEFB*, *APOBEC* pFDR <0,05), функционированием obligatory рецепторов и передачей сигналов (*OR2*, *OR4* и *OR11*, pFDR <0,05). Кроме того, белковые продукты генов, подверженных вариациям числа копий участков ДНК, вовлечены в метаболизм различных веществ (*AMY2B*, *CELA2A*, *CELA2B*, *UGT2B17*, *UGT2B28*, *GSTT1*, pFDR <0,05). Это согласуется с другими работами, что наиболее часто CNV выявляются в регионах генома, содержащих гены, продукты которых отвечают за взаимодействие с факторами внешней среды [43].

Четырнадцать хромосомных регионов содержали CNV, в которых локализовались гены, ранее ассоциированные с атеросклеротическим поражением артерий или его факторами риска (рис. 2). Размер данных CNV варьировал от 4,4 кб до 418,3 кб. Лишь 5 из 14 CNV выявлены у более чем одного больного, остальные 9 CNV зарегистрированы в единичных случаях. Уменьшение числа копий участков ДНК выявлено в восьми хромосомных регионах: 1p21.1 (*AMY2B*), 1q31.3 (*CFHR3*, *CDHR1*), 3p21.1 (*SFMBT1*), 7q33 (*LRGUK*), 9p21.1 (*LINGO2*), 10q21.3 (*CTNNA3*), 16q13.11-q13.12 (*PDXDC1*), 22q11.23 (*GSTT1*, *LOC391322*), а увеличение числа копий участков ДНК — в шести регионах: 1p22.2 (*GBP3*), 10q21.1



Ассоциация однонуклеотидного полиморфизма генов с атеросклеротическим поражением артерий или его факторами риска в ранее проведенных исследованиях:

- кальцификация коронарных артерий и утолщение комплекса интима-медия сонных артерий - *GBP3*, *PCDH15*;
- ишемическая болезнь сердца - *GSTT1*, *PDP1*;
- гипертензия - *CFHR3*, *CFHR1*, *SFMBT1*, *GSTT1*;
- индекс массы тела - *LINGO2*;
- неалкогольная болезнь печени - *ERLIN1*;
- сахарный диабет 2 типа - *AMY2B*;
- метаболический синдром - *EXOC4*, *LRGUK*, *ACACB*, *PDXDC1*, *MTRNR2L1*;
- аритмогенная кардиомиопатия правого желудочка - *CTNNA3*.

Рис. 2. Связь генов, картированных в области вариаций числа копий участков ДНК (CNV) в клетках артерий и лейкоцитах, с атеросклерозом или его факторами риска.

(*PCDH15*), 10q24.31 (*ERLIN1*), 12q24.11 (*UNG*, *ACACB*), 16q22.1 (*PDP1*), 17p11.2 (*MTRNR2L1*, *FAM27L*, *FLJ36000*).

У одного больного во всех анализируемых тканях выявлено увеличение числа копий участков ДНК, в хромосомном регионе 10q24.31, размером 33 кб. Данная aberrация не представлена в базе данных DGV и содержит ген — *ERLIN1* (endoplasmic reticulum lipid raft associated 1). Однонуклеотидный полиморфизм в области гена *ERLIN1* показал ассоциацию с неалкогольной жировой болезнью печени и ее маркером — уровнем аланин-аминотрансферазы в плазме крови, а также с геморрагическим инсультом [44, 45]. Механизм связи полиморфизма в данном гене с патологией неизвестен. Белковый продукт гена *ERLIN1* является холестерол-связывающим белком, который взаимодействует с комплексом SREBP–Scap–Insig и ингибирует продукцию холестерола при условии его достаточного содержания в клетке [46, 47]. Кроме того, данный белок входит в состав липидных рафтов эндоплазматического ретикулума, которые представляют собой микродомены плазматической мембраны, обогащенные сфинголипидами и холестеролом. Они служат платформой для передачи различных сигналов, в том числе, иммунновоспалительного ответа — важного звена в патогенезе атеросклероза. Белок *ERLIN1* взаимодействует с *ERLIN2*, формируя функциональный комплекс, который способствует ER-

ассоциированной деградации белков, в том числе мишени для статинов — 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА-редуктазы (HMGCR) [47]. Учитывая эти данные, не исключено, что изменение числа копий участков ДНК может быть связано с риском атеросклеротического поражения артерий либо непосредственно, модулируя функциональную активность гена в клетках артерий и вызывая нарушение гомеостаза липидов, либо опосредованно, влияя на предрасположенность к его фактору риска — неалкогольной жировой болезни печени. Кроме того, поскольку *ERLIN1* способствует деградации HMGCR, увеличение копийности в хромосомном субсегменте 10q24.31 (*ERLIN1*), может быть связано с измененным ответом пациентов на лечение статинами.

Мы провели подтверждающее исследование CNV в хромосомном регионе 10q24.31 (*ERLIN1*) в образцах ДНК из правых коронарных артерий с атеросклеротическими бляшками и лейкоцитов периферической крови с помощью количественной ПЦР в режиме реального времени с применением TaqMan проб [48]. В хромосомном субсегменте 10q24.31 (*ERLIN1*) в образцах ДНК лейкоцитов периферической крови у 3-х из 315 больных атеросклерозом, что составило 1%, обнаружено увеличение числа копий участка ДНК. В то время как в образцах ДНК лейкоцитов крови индивидов контрольной группы, напротив, установлено уменьшение числа копий в анализируе-

мом хромосомном субсегменте у 3 (1%) индивидов. У одного больного увеличение числа копий участков ДНК в хромосомном субсегменте 10q24.31 (*ERLIN1*) выявлялось во всех исследуемых образцах ДНК тканей артерий и лейкоцитов крови, в то же самое время у двух больных увеличение копиности данного участка ДНК наблюдалось лишь в образцах ДНК лейкоцитов крови. Таким образом, уровень детекции увеличения числа копий участка ДНК в хромосомном регионе 10q24.31 (*ERLIN1*) различался для парных образцов тканей (лейкоциты и артерии). Возможно, что у некоторых больных атеросклерозом в лейкоцитах данные CNV унаследованы, а у других увеличение копиности анализируемых участков ДНК произошло в результате постзиготических событий.

Заключение

Работы, связанные с исследованием структурной варибельности генома соматических клеток, важны не только для понимания патогенеза многофакторных заболеваний, но и для использования полученных знаний при создании линий индуцированных плюрипотентных стволовых клеток — iPSCs (induced Pluripotent Stem Cells). Данные клетки могут быть дифференцированы в различные типы клеток и даже в отдельные органы. В настоящее время iPSCs применяются для моделирования заболеваний, а также их лечения в регенеративной медицине, а в перспективе и в прецизионной медицине [49].

В большинстве случаев, iPSCs, полученные из клеток конкретного больного, уже содержат повреждения ДНК, в том числе и в виде CNV. Исследования iPSCs будут информативны для установления причинной связи CNV с заболеванием и ее механизмов, в том случае, если функциональная значимость генетического варианта не была установлена ранее при обследовании

больного. Обширная область использования iPSCs касается лечения заболеваний. Данные клетки, содержащие CNV, могут быть использованы в качестве суррогатного материала для поиска терапевтических мишеней и оценки влияния лекарств на клетки конкретного индивида. Кроме того, если повреждение ДНК уже существует в соматических клетках и связано с патологией, то в процессе репрограммирования соматических клеток можно исправить данный дефект и получить iPSCs без изменения числа копий участков ДНК. С другой стороны, при репрограммировании соматических клеток можно индуцировать CNV, которые будут обеспечивать клетку протективными свойствами в отношении заболевания.

В то же время, данный подход, как и любые другие технологии, имеет ограничения. При репрограммировании соматических клеток в них происходит аккумуляция хромосомных aberrаций, что приводит к гетерогенности iPSCs. С другой стороны, поскольку CNV часто содержат гены супрессоры опухоли и онкогены, при проведении iPSCs терапии может увеличиваться риск развития злокачественных новообразований. Таким образом, исследование структурных генетических вариаций соматических клеток имеет различные области использования в биологии и медицине, что делает данный раздел науки особенно важным для будущих исследований.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда “Проведение фундаментальных научных исследований и поисковых научных исследований отдельными научными группами” по теме “Постзиготическая варибельность ядерного и митохондриального геномов при атеросклеротическом поражении сосудов человека” (соглашение № 14-15-00305).

Литература

- Dzizinskiy AA, Puzyrev VP. Heredity and atherosclerosis. Nauka. Novosibirsk: 1977 p. 176. (In Russ.) Дзизинский АА, Пузырев ВП. Наследственность и атеросклероз. Наука. Новосибирск: 1977. с. 176.
- Puzyrev VP, Nazarenko MS, Lebedev IN, et al. Phenomenon of paradominant inheritance in atherosclerosis. Meditsinskaya Genetika. 2014; 10: 41-8. (In Russ.) Пузырев ВП, Назаренко МС, Лебедев ИН, и др. Феномен парадоминантного наследования при атеросклерозе. Медицинская Генетика 2014, 10: 41-8.
- Björkegren JLM, Kovacic JC, Dudley JT, et al. Genome-Wide Significant Loci: How Important Are They? J Am Coll Cardiol 2015; 65: 830-45.
- Khera AV, Kathiresan S. Genetics of coronary artery disease: discovery, biology and clinical translation. Nat Rev Genet 2017, 18: 331-44.
- Jacobs KB, Yeager M, Zhou W, et al. Detectable clonal mosaicism and its relationship to aging and cancer. Nat Genet 2012; 44: 651-8.
- Laurie CC, Laurie CA, Rice K, et al. Detectable clonal mosaicism from birth to old age and its relationship to cancer. Nat Genet 2012; 44: 642-50.
- Forsberg LA, Absher D, Dumanski JP. Non-heritable genetics of human disease: spotlight on post-zygotic genetic variation acquired during lifetime. J Med Genet 2013; 50: 1-10.
- Forsberg LA, Gisselsson D, Dumanski JP. Mosaicism in health and disease - clones picking up speed. Nat Rev Genet 2016; 18: 128-42.
- Happle R. The McCune-Albright syndrome: a lethal gene surviving by mosaicism. Clin Genet 1986; 29: 321-4.
- Happle R. Paradominant inheritance: A possible explanation for Becker's pigmented hairy nevus. Eur J Dermatol 1991: 39-40.
- Happle R. What is paradominant inheritance? J Med Genet 2009; 46: 648.
- Limaye N, Boon LM, Vikkula M. From germline towards somatic mutations in the pathophysiology of vascular anomalies. Hum Mol Genet 2009; 18: R65-R74.
- Gottlieb B, Chalifour LE, Mitmaker B, et al. BAK1 gene variation and abdominal aortic aneurysms. Hum Mutat 2009; 30: 1043-7.
- Fessel JP, Loyd JE, Austin ED E. The Genetics of Pulmonary Arterial Hypertension. Circ Res 2014; 115: 189-202.
- Gottlieb B, Beitel LK, Alvarado C, et al. Selection and mutation in the “new” genetics: An emerging hypothesis. Hum Genet 2010; 127: 491-501.
- Gottlieb B, Beitel LK, Trifiro M. Changing genetic paradigms: creating next-generation genetic databases as tools to understand the emerging complexities of genotype/phenotype relationships. Hum Genomics 2014; 8: 9.
- Benditt EP, Benditt JM. Evidence for a monoclonal origin of human atherosclerotic plaques. Proc Natl Acad Sci U S A 1973; 70: 1753-6.
- De Flora S, Izzotti A. Mutagenesis and cardiovascular diseases. Molecular mechanisms, risk factors, and protective factors. Mutat Res - Fundam Mol Mech Mutagen 2007; 621: 5-17.
- Weakley SM, Jiang J, Kougiyas P, et al. Role of somatic mutations in vascular disease formation. Expert Rev Mol Diagn 2010; 10: 173-85.
- Uryga A, Gray K, Bennett M. DNA Damage and Repair in Vascular Disease. Annu Rev Physiol 2016; 78: 45-66.
- McCaffrey TA, Du B, Consigli S, et al. Genomic instability in the type II TGF-beta1 receptor gene in atherosclerotic and restenotic vascular cells. J Clin Invest 1997; 100: 2182-8.

22. Bobik A, Agrotis A, Kanellakis P, et al. Distinct patterns of transforming growth factor-beta isoform and receptor expression in human atherosclerotic lesions. Colocalization implicates TGF-beta in fibrofatty lesion development. *Circulation* 1999; 99: 2883-91.
23. Clark KJ, Cary NR, Grace AA, et al. Microsatellite mutation of type II transforming growth factor-beta receptor is rare in atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 555-9.
24. Hatzistamou J, Kiaris H, Ergazaki M, et al. Loss of heterozygosity and microsatellite instability in human atherosclerotic plaques. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 225: 186-90.
25. Flouris GA, Arvanitis DA, Parissis JT, et al. Loss of heterozygosity in DNA mismatch repair genes in human atherosclerotic plaques. *MolCell BiolResCommun* 2000; 4: 62-5.
26. Miniati P, Sourvinos G, Michalodimitrakis M, et al. Loss of heterozygosity on chromosomes 1, 2, 8, 9 and 17 in cerebral atherosclerotic plaques. *Int J Biol Markers* 2001; 16: 167-71.
27. Grati FR, Ghilardi G, Sirchia SM, et al. Loss of heterozygosity of the NOS3 dinucleotide repeat marker in atherosclerotic plaques of human carotid arteries. *Atherosclerosis* 2001; 159: 261-7.
28. Arvanitis DA, Flouris GA, Spandidos DA. Genomic rearrangements on VCAM1, SELE, APEG1 and AIF1 loci in atherosclerosis. *J Cell Mol Med* 2005; 9: 153-9.
29. Casalone R, Granata P, Minelli E, et al. Cytogenetic analysis reveals clonal proliferation of smooth muscle cells in atherosclerotic plaques. *Hum Genet* 1991; 87: 139-43.
30. Maturri L, Cazzullo A, Turconi P, et al. Chromosomal alterations in atherosclerotic plaques. *Atherosclerosis* 2001; 154: 755-61.
31. Tokunaga O, Satoh T, Yu S. Multinucleated variant endothelial cells (MVECs) have a greater capacity for LDL cholesterol uptake than typical mononuclear endothelial cells (TECs). *J Atheroscler Thromb* 2002; 9: 35-41.
32. Gray K, Kumar S, Figg N, et al. Effects of DNA damage in smooth muscle cells in atherosclerosis. *Circ Res* 2015; 116: 816-26.
33. Andreassi MG. DNA damage, vascular senescence and atherosclerosis. *J Mol Med* 2008; 86: 1033-43.
34. Gray K, Bennett M. Role of DNA damage in atherosclerosis - Bystander or participant? *Biochem Pharmacol* 2011; 82: 693-700.
35. Laurie CCA, Laurie CCA, Rice K, et al. Detectable clonal mosaicism from birth to old age and its relationship to cancer. *Nat Genet* 2012; 44: 642-50.
36. O'Huallachain M, Karczewski KJ, Weissman SM, et al. Extensive genetic variation in somatic human tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109: 18018-23.
37. Pollex RL, Hegele RA. Copy Number Variation in the Human Genome and Its Implications for Cardiovascular Disease. *Circulation* 2007; 115: 3130-8.
38. Kathiresan S. Lp(a) Lipoprotein Redux — From Curious Molecule to Causal Risk Factor. *N Engl J Med* 2009; 361: 2573-4.
39. The Wellcome Trust Case Control Consortium. Genome-wide association study of CNVs in 16,000 cases of eight common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* 2010; 464: 713-20.
40. Gancheva K, Postadjian A, Brazma D, et al. Copy Number Variants: Distribution in Patients with Coronary Atherosclerosis. *Biotechnol Biotechnol Equip* 2009; 23: 1095-100.
41. Shia W-C, Ku T-H, Tsao Y-M, et al. Genetic copy number variants in myocardial infarction patients with hyperlipidemia. *BMC Genomics* 2011; 12: S23.
42. Nazarenko MS, Sleptcov AA, Lebedev IN, et al. Genomic structural variations for cardiovascular and metabolic comorbidity. *Sci Rep* 2017; 7: 41268.
43. Ionita-Laza I, Rogers AJ, Lange C, et al. Genetic association analysis of copy-number variation (CNV) in human disease pathogenesis. *Genomics* 2009; 93: 22-6.
44. Feitosa MF, Wojczynski MK, North KE, et al. The *ERLIN1-CHUK-CWF19L1* gene cluster influences liver fat deposition and hepatic inflammation in the NHLBI Family Heart Study. *Atherosclerosis* 2013; 228: 175-80.
45. Yoshida T, Kato K, Yokoi K, et al. Association of genetic variants with hemorrhagic stroke in Japanese individuals. *Int J Mol Med* 2010; 25: 649-56.
46. Browman DT, Resek ME, Zajchowski LD, et al. Erlin-1 and erlin-2 are novel members of the prohibitin family of proteins that define lipid-raft-like domains of the ER. *J Cell Sci* 2006; 119: 3149-60.
47. Huber MD, Vesely PW, Datta K, et al. Erlins restrict SREBP activation in the ER and regulate cellular cholesterol homeostasis. *J Cell Biol* 2013; 203: 427-36.
48. Sleptsov AA, Nazarenko MS, Barbarash OL, et al. The variety of *ERLIN1* gen copies in patients with ischemic heart disease. *Medical Genetics*, 2016; 15: 42-4. (In Russ.) Слепцов АА, Назаренко МС, Барбараш ОЛ, et al. Вариации числа копий гена *ERLIN1* у больных с ишемической болезнью сердца. *Медицинская Генетика* 2016; 15: 42-4.
49. Warren CR, Jaquish CE, Cowan CA. The NextGen Genetic Association Studies Consortium: A Foray into *In Vitro* Population Genetics. *Cell Stem Cell* 2017; 20: 431-3.

К 85-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ АРОНОВА ДАВИДА МЕЕРОВИЧА

30 октября 2017г исполнилось 85 лет известному кардиологу и ученому, заслуженному деятелю науки РФ, доктору медицинских наук, профессору Давиду Мееровичу Аронову.

После окончания Ташкентского государственного медицинского института Д. М. Аронов работал главным врачом Каганской районной больницы, далее врачом в Бухарской областной больнице, где впервые в истории Бухарской области организовал электрокардиографический кабинет. Там им было выполнено и опубликовано первое научное исследование по электрической альтернации сердца. Это предопределило дальнейшие направления деятельности молодого врача — научная кардиология.

В 1959г Д. М. Аронов поступил в аспирантуру Института терапии АМН СССР в Москве, возглавляемого известным ученым — академиком А.Л. Мясниковым. По окончании аспирантуры и защиты кандидатской диссертации (1963г) академик А.Л. Мясников предложил перспективному ученику продолжить врачебную и научную деятельность в своем институте.

В 1968г научный руководитель Е. И. Чазов, возглавивший Институт терапии, предложил Д. М. Аронову работу во впервые организованном в СССР отделении кардиологической реабилитации для разработки нового перспективного направления. С тех пор успешное решение вопросов реабилитации в кардиологии в СССР и России тесно связано с именем Д. М. Аронова. Он является основоположником кардиореабилитационной системы в стране. Разработки Д. М. Аронова в области кардиореабилитации, полученные в Институте Кардиологии АМН СССР, были положены в основу создания Государственной системы поэтапной реабилитации больных инфарктом миокарда в СССР и России.

Д. М. Ароновым и его сотрудниками впервые была апробирована новая концепция по раннему ускорению темпов активности больных острым инфарктом миокарда в противовес господствовавшей в то время теории максимального покоя в течение многих недель; организовано раннее назначение им тренирующих нагрузок. Для последовательного и системного применения реабилитационных мероприятий была создана и применялась оригинальная “сквозная” система семи ступенчатой двигательной активности больных. Д. М. Аронов первым начал назначать длительные физические тренировки больным после инфаркта миокарда, обосновал эффективность и безопасность выполнения тренировочных нагрузок умеренной интенсивности (1983г), что в последующие годы получило признание во всех международных и национальных рекомендациях. Им были разработаны эффективные и безопасные программы физиче-



ских тренировок, двигательной активности и предложены нормативы оптимальных физических нагрузок для больных ишемической болезнью сердца, в т.ч. в бытовых условиях.

Аронов Д. М. — крупный специалист по использованию нагрузочных проб в кардиологии. Он первым в СССР разработал, и выполнил нагрузочный тест — электрокардиографическую пробу у больных, перенесших инфаркт миокарда. Он автор новых для страны работ по теоретическому обоснованию и применению функциональных проб в диагностике ишемической болезни сердца. Им внесен большой вклад в разработку методологии физических нагрузок и тренировок, применяемых в реабилитации и программах профилактики сердечно-сосудистых заболеваний. Эти методы адаптированы к использованию в условиях современной России и используются в настоящее время.

Как лидер реабилитационного направления Д. М. Аронов в девяностые годы стимулировал восстановление реабилитационного направления РФ. В реальных условиях современного здравоохранения России им были организованы крупные многоцентровые клинические исследования по изучению влияния комплексной программы реабилитации на клиническое состояние, риск осложнений, трудоспособность больных после инвазивных вмешательств на сосудах сердца.

Будучи членом Экспертного Совета Минздрава России, Аронов Д. М. принимает активное участие в разработке новых Порядков и современных стандартов по кардиологической реабилитационной помощи, национальных клинических рекомендаций по реабилитации больных острым инфарктом миокарда, а также после инвазивных вмешательств на сосудах сердца и коронарного шунтирования.

Давид Меерович Аронов известен своими оригинальными исследованиями по изучению патогенеза

и лечению атеросклероза и ишемической болезни сердца.

Он автор и соавтор 20 руководств, 12 монографий, 43 методических рекомендаций и пособий для врачей и более 600 печатных работ по актуальным вопросам кардиологии.

Д. М. Аронов — основатель отечественной научной школы по кардиологической реабилитации. Под его руководством защищены 37 кандидатских и 6 докторских диссертаций. Со свойственной ему энергией и энтузиазмом Д. М. Аронов проводит большую научно-общественную работу, являясь председателем секции реабилитации и вторичной профилактики РКО, членом Президиума Национального общества по атеросклерозу. Д. М. Аронов регулярно участвует в организации Всероссийских конференций по кардиологической реабилитации и вторичной профилактике с широким привлечением к участию в них ведущих российских и зарубежных кардиологов. В 2011г Д. М. Аронов инициировал создание Общероссийской Общественной Организации “Российское общество кардиосоматической реабилитации

и вторичной профилактики”, президентом которого является.

Международным признанием деятельности Д. М. Аронова является избрание его членом научного Совета по реабилитации и вторичной профилактике Всемирной Федерации Кардиологов (1992-2004), членом Европейской Ассоциации по кардиоваскулярной профилактике и реабилитации, членом правления международной Ассоциации “Друзья сердца по всему миру”. Д. М. Аронов — член редакционного совета семи отечественных и двух международных журналов. Он главный редактор журнала “CardioСоматика” (Кардиосоматика).

В научном и медицинском мире Д. М. Аронов пользуется большим авторитетом и заслуженным уважением, имеет репутацию серьезного ученого и прекрасного врача. Ученики, сотрудники и редколлегия Российского кардиологического журнала сердечно поздравляют дорогого Давида Мееровича Аронова с юбилеем и желают ему доброго здоровья, счастья и дальнейших творческих успехов.

ЯНУ ЛЬВОВИЧУ ГАБИНСКОМУ — 65 ЛЕТ

9 октября 2017г исполнилось 65 лет директору Уральского института кардиологии, заведующему кафедрой кардиологии Уральского государственного медицинского университета, доктору медицинских наук, профессору, заслуженному врачу России, почетному кардиологу России, члену президиума Российского общества кардиологов Яну Львовичу Габинскому.

Уральский институт кардиологии, созданный Яном Габинским, лечит сердца свердловчан более 40 лет. В институте собраны лучшие медицинские кадры, в работе используются самые современные высокотехнологичные методы лечения больных с сердечно-сосудистой патологией. За эти годы через руки врачей прошло более 1 млн пациентов. Показатели института сравнимы с показателями лучших европейских клиник. В 2013г Уральский институт кардиологии был признан лучшим кардиологическим центром страны. В 2016г институт получил европейский знак качества. Все это — профессиональное признание заслуг Габинского Я.Л., важнейшая из которых — сформированная система оказания неотложной и плановой кардиологической помощи, в результате чего существенно снизилась смертность от сердечно-сосудистых заболеваний. Добившись одних из лучших показателей в стране, Ян Габинский со своей командой стоит на пороге новых, поистине революционных событий в области практической кардиологии.

Инновационные технологии Яна Габинского направлены на сохранение и укрепление здоровья населения России. Портативный домашний дефибриллятор станет спасением для тысяч людей не только на Урале, но и по всей стране. “Коронарный паспорт” — новейшее достижение в профилактической кардиологии, которое, по мнению специалистов, должно быть внедрено повсеместно. Пока такая возможность предоставлена жителям Свердловской области. Получая “коронарный паспорт” человек получает программу сохранения и укрепления коронарного здоровья. “Город Сердца” — мультифункциональный кардиологический комплекс будет возведен на базе Уральского института кардиологии. В нем будет организован полный цикл оказания кардиологической помощи пациентам — от профилактики, до реабилитации.

В настоящее время Уральский институт кардиологии во главе со своим директором Яном Габинским решает амбициозную задачу по превращению Свердловской области в территорию здоровых сердец.

Инновационные технологии — результат научных исследований уральских кардиологов. Идеолог инноваций — Ян Львович Габинский, пришедший в институт в середине 70-х прошлого века и прошедший все ступени профессионального взросления — от про-



стого врача до главного кардиолога Свердловской области.

Ян Габинский является лидером Уральской кардиологии, основателем Уральской Научной Кардиологической Школы. С 1998г он заведует кафедрой кардиологии Уральского государственного медицинского университета, в его научном портфеле более 300 публикаций, 5 монографий, 10 патентов, его учениками защищены 6 докторских и более 20 кандидатских диссертаций.

Известность его как ученого, врача выходит далеко за пределы не только Свердловской области, но и всей России. Ян Львович имеет много наград. Основные из них: орден “За пользу отечеству” им. В.Н. Татищева, орденский знак “Звезда Славы Отечества”, орден Екатерины Великой, орден Пирогова Н.И., общественная награда “За сбережение народа”, знак отличия “Верность России”, медаль А.М. Прохорова, дипломы Всероссийского научного общества кардиологов, в т.ч. за создание гимна Российских кардиологов, медаль Коха, премия Пурпурное сердце в номинации СПАСЕНИЕ ГОДА, знак отличия “За заслуги перед Свердловской областью” III степени, а также Европейским Научным Медицинским обществом ему присвоено звание почетного Ученого Европы.

Музыкальный — еще один из талантов Яна Львовича, который написал множество лирических мелодий, положив на них стихи. Главные герои его лирических мелодий — любовь, страдания, воспоминания, мечты. В 2016г выпущена золотая коллекция песен и музыки Яна Габинского, состоящая из 6 дисков.

В 2005г в Москве на съезде врачей-кардиологов, впервые прозвучал Гимн российских кардиологов. Его автор — Ян Львович Габинский. Как и любой гимн, его слушали стоя. Как ни один другой гимн, этот прозвучал на бис.

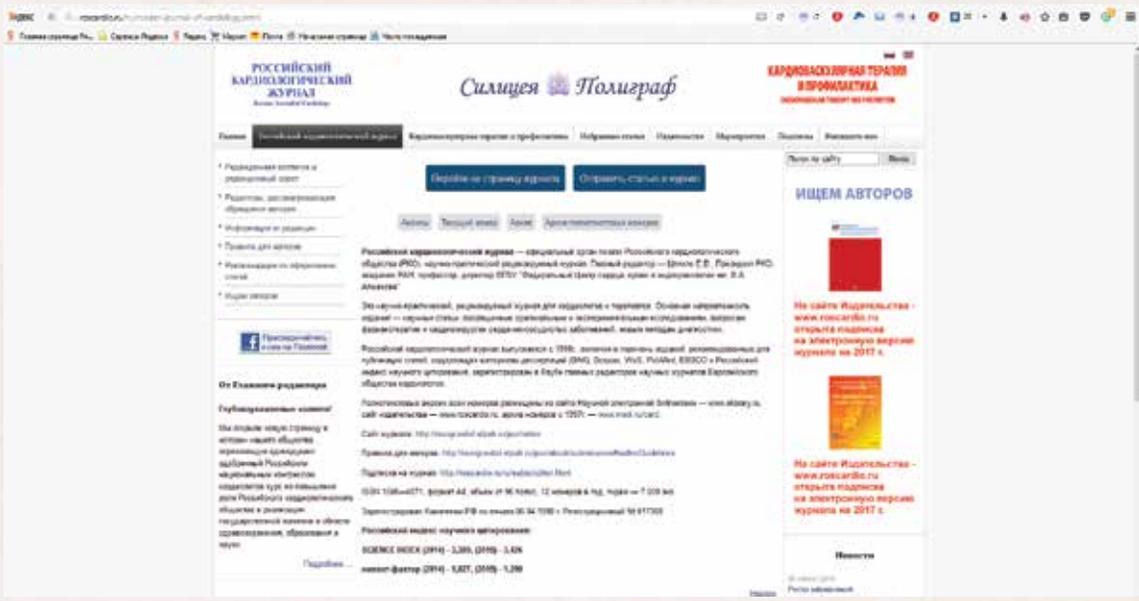
Об Уральском институте кардиологии горожане и жители Свердловской области много знают еще и потому, что Ян Габинский человек публичный, причем его публичность — не столько личное желание, сколько “производственная необходимость”. Ян Габинский использует любую возможность рассказать о работе института, профилактике, факторах риска, необходимости беречь свое сердце. Ян Габинский убеждает горожан сформировать новую психологию по отношению к своему здоровью. Он не упускает ни единой возможности напомнить о том, что жизнь дается человеку только один раз, и беречь сердце необходимо смолоду. В 2010г в стенах института родилась телепередача “Все о сердце”, которая выходит в прайм-тайм на ведущих каналах, приучив свердловчан к тому, что субботним утром надо послу-

шать советы доктора Я.Л. Габинского. Эта передача вошла в библиотеку лучшего российского опыта по формированию здорового образа жизни.

Коллеги более всего ценят в Габинском неистребимое творческое начало, упорство в достижении даже самой фантастической, кажущейся несбыточной идеи, мечты, фантазии. Благодаря Яну Габинскому для подавляющего большинства сотрудников Уральский институт кардиологии — родной дом, а коллектив — собрание единомышленников, работающих на главный результат — спасение жизней.

Коллеги и редколлегия Российского кардиологического журнала сердечно поздравляют Яна Львовича Габинского с юбилеем! Желаем Вам здоровья и дальнейших научных достижений, творческих успехов.

Уважаемые читатели!



Сайт Издательства с панелью перехода на новый сайт:
<http://rosradio.ru/ru/russian-journal-of-cardiology.html>

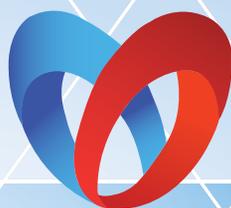


Новый сайт журнала, созданный на базе специализированной редакторской платформы:
<http://russjcardiol.elpub.ru/jour/index>

Темы номеров журнала в 2018 году

1 — острая и хроническая сердечная недостаточность, 2 — миокардиты, клапанные и некоронарогенные заболевания, 3 — ишемическая болезнь сердца, 4 — артериальная гипертензия, 5 — метаболический синдром, сахарный диабет, 6 — эпидемиология и профилактика сердечно-сосудистых заболеваний, 7 — аритмии, 8 — атеротромбоз, ЗПА, атеросклероз, 9 — номер конгресса, психосоциальные факторы риска ССЗ, 10 — кардиогенетика, 11 — интервенционная кардиология и кардиохирургия, 12 — методы исследования в кардиологии.

Журнал переходит на открытый доступ



РОССИЙСКОЕ
КАРДИОЛОГИЧЕСКОЕ
ОБЩЕСТВО

РОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ КОНГРЕСС КАРДИОЛОГОВ 2018

25–28 СЕНТЯБРЯ 2018 ГОДА | МОСКВА

ЦЕНТР МЕЖДУНАРОДНОЙ ТОРГОВЛИ
МОСКВА, КРАСНОПРЕСНЕНСКАЯ НАБ., Д. 12

www.scardio.ru

