

Роль полиморфных вариантов генов ядерного и митохондриального геномов в детерминации эндофенотипов ишемической болезни сердца

Бабушкина Н.П.¹, Кучер А.Н.¹, Буйкин С.В.¹, Голубенко М.В.¹,
Макеева О.А.¹, Шипулин В.М.², Пузырев В.П.¹

¹ — ФГБУ «НИИ медицинской генетики» СО РАМН,
634050, г.Томск, Набережная р.Ушайки, 10, факс (3822) 513744, e-mail: valery.puzirev@medgenetics.ru

² — ФГБУ «НИИ кардиологии» СО РАМН,
634012, Томск, ул. Киевская, 111а, факс: 8 (3822) 565830, e-mail: sv@cardio-tomsk.ru

Проведён анализ ассоциаций 27 SNP и 1 VNTR, локализованных в 17 ядерных генах и четырёх SNP в мтДНК с рядом качественных и количественных признаков ишемической болезни сердца (ИБС). Получены ассоциации с патогенетически значимыми для ИБС признаками для 17 полиморфных вариантов 12 генов (*ACE*, *GNB3*, *ADRB2*, *NOS3*, *PPP3R1*, *GATA4*, *LTA*, *TNFRSF1B*, *IL4R*, *IL12A*, *IFNG*, *IFNGR2*) и гаплогруппы U мтДНК. Для генов *IL12A* и *IFNGR2* вовлечённость в развитие сердечно-сосудистой патологии показана впервые. Вклад ассоциированных генов в детерминацию изменчивости количественных признаков был невысок, только для rs2070744 в гене *NOS3* значение G превышало 10%. Полученные результаты подтверждают существенную роль воспаления в развитии сердечно-сосудистой патологии.

Ключевые слова: генетический полиморфизм, ИБС, эндофенотипы

Введение

ИБС в настоящее время является одним из самых распространенных, прогрессирующих и прогностически неблагоприятных заболеваний сердечно-сосудистой системы.

При ИБС в ответ на неадекватные гемодинамические условия функционирования сердца развиваются сердечная недостаточность и дисфункция миокарда; снижается насосная функция миокарда, что приводит к дисбалансу между гемодинамической потребностью организма и возможностями сердца.

Как правило, у больных ИБС выявляется несколько заболеваний: артериальная гипертензия (АГ), ожирение, метаболические нарушения, сахарный диабет 2-го типа (СД2) и др.

Поэтому ассоциации генетических маркеров с заболеванием, в целом, нередко могут объясняться тем, что кодируемые этими генами белковые продукты участвуют в биохимических путях, детерминирующих какие-либо патогенетически значимые признаки нозологии или сопутствующие ей состояния.

Ранее были установлены ассоциации с ИБС в сочетании с АГ аллелей, генотипов, сочетаний генотипов и гаплотипов ряда генов, относящихся к генам-кандидатам сердечно-сосудистой патологии (*ACE*, *NOS3*, *GNB3*), и генов регуляции иммунного ответа (*TNF*, *LTA*, *TNFRSF1B* и *IL12RB1*) [1].

В настоящем сообщении представлены результаты анализа ассоциаций исследованных маркеров с рядом качественных и количественных признаков ИБС.

Материалы и методы

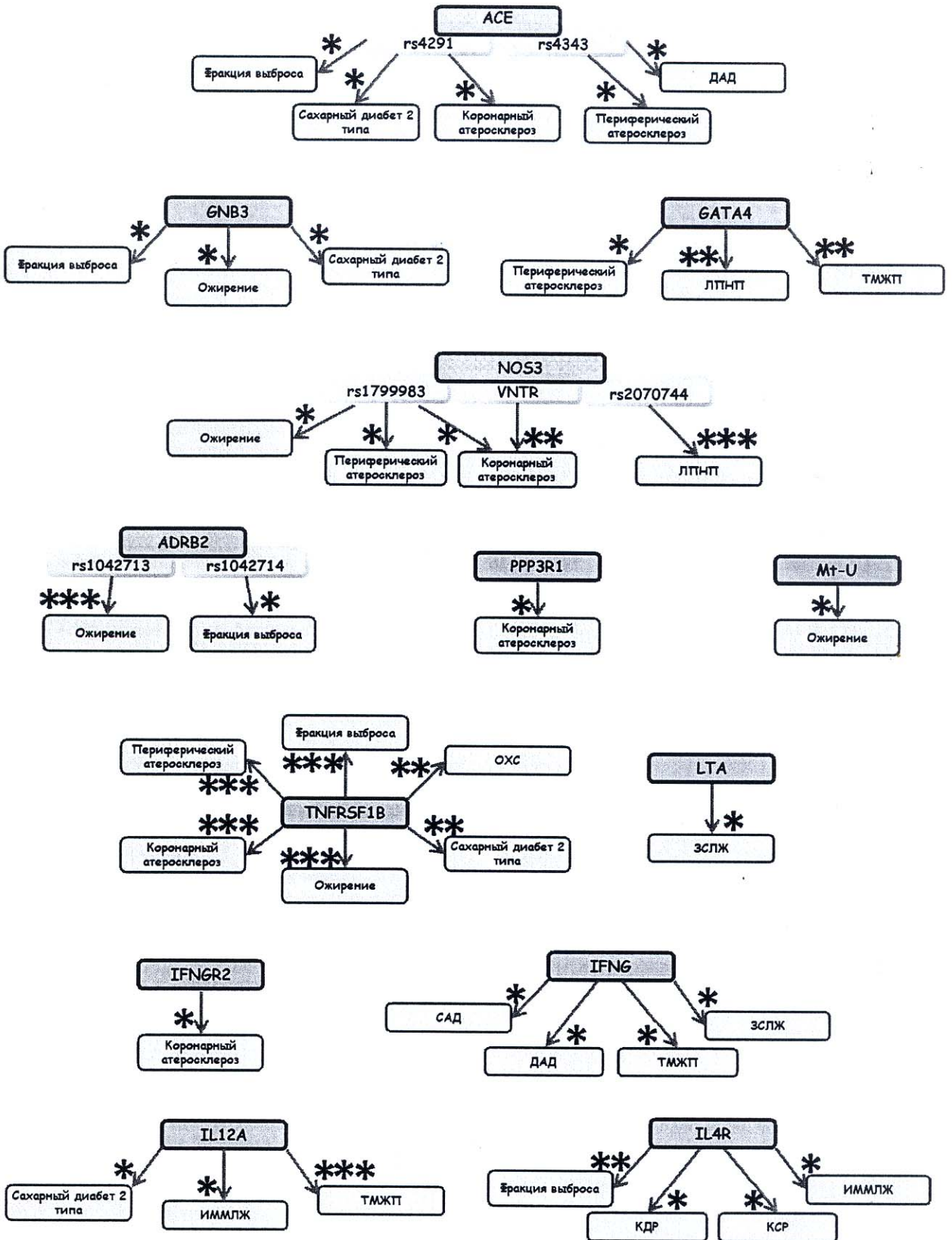
Группа больных ИБС в сочетании с АГ включала в себя 149 чел. (129 мужчин и 20 женщин). Согласно анамнезу, 137 пациентов (92%) перенесли один или несколько инфарктов миокарда (ИМ), у остальных зарегистрирован стенозирующий атеросклероз.

У всех пациентов были проведены измерение артериального давления, анализ липидного профиля, эхокардиографическое исследование (ЭхоКГ) и коронарорентрикулография.

Обследование больных осуществлялось на базе ФГБУ «НИИ кардиологии» СО РАМН (г.Томск).

В выборке больных ИБС проанализированы следующие *количественные признаки*:

- липидные показатели:
 - общий холестерин (ОХС);
 - липопротеины низкой плотности (ЛПНП);
 - липопротеины высокой плотности (ЛПВП);
- систолическое (САД) и диастолическое артериальное давление (ДАД);
- ЭхоКГ-показатели:
 - фракция выброса (ФВ);
 - конечный диастолический размер (КДР);
 - конечный систолический размер (КСР);
 - индекс массы миокарда левого желудочка (ИММЛЖ);
 - толщина межжелудочковой перегородки (ТМЖП);
 - толщина задней стенки левого желудочка (ЗСЛЖ).



Ассоциации изученных генов с эндофенотипами (* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$)

Выборка больных была также разделена на подгруппы в зависимости от изученных *качественных признаков*:

1) среди лиц с *коронарным атеросклерозом* выделены индивиды с поражением одной ($n = 25$ индивидов), двух ($n = 27$) и трёх ($n = 47$) артерий;

2) ИМТ > 30 ($n = 42$) и ИМТ < 30 ($n = 83$);

3) *периферический атеросклероз* был диагностирован у 70 и не диагностирован у 37 пациентов;

4) *сахарный диабет 2-го типа (СД2)* диагностирован/не диагностирован у 22 и 127 чел. соответственно;

5) *фракция выброса (ФВ)* — рассматривалась и как количественный показатель (см. выше), и как качественный — ФВ < 40% ($n = 30$) и ФВ > 40% ($n = 102$).

В качестве контрольной группы была использована популяционная выборка жителей города Томска (96 чел.), охарактеризованная ранее [1]. В группе больных и контрольной группе русские составляли более 90%. У всех обследуемых получено информированное согласие на проведение исследования.

В обеих выборках были проанализированы 27 SNP и 1 VNTR, локализованные в 17 ядерных генах (*ADRB2* (rs1042713, rs1042714), *NOS3* (rs2070744, rs61722009 (VNTR), rs1799983), *ACE* (rs4291, rs4343), *AGTR1* (rs5186), *GNB3* (rs5443), *PPP3R1* (rs11126176), *GATA4* (rs804271), *LTA* (rs909253), *TNF* (rs1800629), *TNFRSF1B* (rs1061622), *IL4* (rs2243291), *IL4R* (rs1801275, rs2074570), *IL12A* (rs568408), *IL12B* (rs3212227, rs3212220), *IL12RB1* (rs3746190, rs11575926), *IFNG* (rs2069705), *IFNGR2* (rs17880053)), и четыре SNP в мтДНК (rs2015062, rs2853498, rs28357372, rs28539178). Изменчивость данных генетических вариантов охарактеризована ранее [1, 3–5, 11].

При проведении ассоциативных исследований с *качественными признаками* сравнения частот аллелей и генотипов исследованных полиморфных вариантов были выполнены как между подгруппами пациентов с изучаемым эндофенотипом, так и между каждой из подгрупп с популяционной выборкой. Для сравнения частот аллелей и генотипов между различными группами применяли критерий χ^2 Пирсона с поправкой Йетса на непрерывность и точный тест Фишера. Об ассоциации аллелей или генотипов с функциональными состояниями судили по величине отношения шансов (OR) и границам 95%-ного доверительного интервала (CI) [26].

При первичном анализе *количественных признаков* была устранена зависимость от возраста (по [15]) и пола (по [8]); в случае отклонения распределения признака от нормального проводили логарифмирование показателей. Сравнение дисперсий проводили по тесту Левина; сравнение средних значений нескольких независимых распределений — методом однофакторного дисперсионного анализа по Фишеру (F-критерий), включая метод линейных контрастов Шеффе [7]. Вклад генов в детерминацию количественных признаков оценивали методом регрессионного анализа [7]. Анализ проводился с использованием пакета программ Statisticafor Windows 7.0.

Результаты и обсуждение

В предыдущем сообщении обсуждались результаты ассоциативного исследования полиморфных вариантов ряда генов с ИБС в сочетании с АГ [1]. Так, ассоциации с данной патологией были получены как с аллелями, так и с генотипами полиморфных вариантов генов *GNB3* (rs5443) и *TNFRSF1B* (rs1061622); с аллелями и генотипами rs4291 и сочетаниями генотипов по rs4291 и rs4343 в гене *ACE*; с сочетаниями генотипов по rs2070744 и rs61722009 в гене *NOS3* и по rs3746190 и rs11575926 в гене *IL12RB1*; с сочетаниями генотипов и гаплотипам rs909253 и rs1800629 (в генах *LTA* и *TNF* соответственно) [1].

В настоящем исследовании ассоциации с патогенетически значимыми для ИБС признаками были получены для 17 полиморфных вариантов 13 генов (рисунок). То есть в формировании эндофенотипов заболевания принимает участие более широкий (по сравнению с непосредственно ассоциированным с патологией) спектр генов, что неудивительно, поскольку для изученных генов показан выраженный плейотропный эффект [6]. Причём из всех анализировавшихся качественных и количественных признаков не выявлено ассоциаций с полиморфизмом изученных генов только для ЛПВП. В большинстве случаев ассоциации маркёров регистрировались с несколькими признаками и лишь для четырёх генов — только с одним показателем (табл. 1, 2). Представляется целесообразным рассмотреть ассоциированные с эндофенотипами маркёры, сравнивая их возможную функциональную роль в детерминации отдельных признаков.

Роль ангиотензин I превращающего фермента (АПФ) в функционировании организма широко известна, как и факт ассоциированности полиморфизма кодирующего его гена (*ACE*) с сердечно-сосудистой патологией [33, 35 и др.]. В гене *ACE* анализировались две функционально значимые замены. Для rs4343 (A2350G, Thr776Thr) установлены 2 ассоциации: с периферическим атеросклерозом и уровнем ДАД (табл. 1). В группе лиц с периферическим атеросклерозом частота генотипа AA и аллеля A была статистически значимо выше, чем в группе больных ИБС без атеросклероза (табл. 1). Также выявлена ассоциация генотипа AG данного SNP с повышенным уровнем ДАД ($p = 0,029$) (табл. 2), что, в целом, не противоречит данным X. Zhu с соавторами [35], показавшими связь аллеля 2350G с увеличением уровня САД у жителей Нигерии. Аллель T второго изученного SNP (rs4291, A-240T), являющийся рискованным по отношению к развитию ИБС [1], также предрасполагает к СД2 при данной патологии и коронарному атеросклерозу трёх артерий, но является протективным в отношении снижения показателей ФВ (табл. 1). В группе больных с гомозиготным генотипом TT зарегистрирован статистически значимо более высокий уровень показателя ФВ по сравнению с другими группами (табл. 2).

Отношения шансов для качественных эндофенотипов при синтропии ИБС

Аллель/генотип	Признак	OR	95% CI	χ^2	p
ACE (rs4343)					
GG	ПА- vs k	2,76	1,09–6,97	4,74	0,030
AA	ПА+ vs ПА-	4,05	1,35–12,14	6,06	0,014
ACE (rs4291)					
T	ФВ > 40 vs k	1,63	1,01–2,64	4,02	0,045
	КА 3 vs k	2,05	1,07–3,92	4,75	0,029
	СД2+ vs k	2,52	1,10–5,76	4,95	0,026
GNB3 (rs5443)					
TT	ФВ < 40 vs k	5,03	1,47–17,19	5,55	0,019 (p ^f = 0,014)
	ИМТ < 30 vs k	3,13	1,09–8,95	3,97	0,046
CC	СД2- vs k	0,52	0,29–0,93	5,01	0,025
NOS3 (rs1799983)					
GT	ПА- vs k	2,72	1,16–6,39	5,54	0,019
	КА 2 vs k	2,89	1,11–7,60	4,84	0,028
	ИМТ > 30 vs k	2,54	1,13–5,74	5,25	0,022
NOS3 (VNTR)					
AB	КА 1 vs k	5,1	1,84–14,17	9,59	0,002
	КА 1 vs КА 3	6,69	2,14–20,94	10,29	0,001
PPP3R1 (rs11126176)					
AG	КА 1 vs k	4,45	1,32–14,94	5,78	0,016
	КА 1 vs КА 2	5,57	1,37–22,62	5,13	0,023
	КА 1 vs КА 3	7,29	2,02–26,24	9,5	0,002
GATA4 (rs804271)					
T	ПА- vs ПА+	1,86	1,01–3,46	3,94	0,047
ADRB2 (rs1042713)					
GG	ИМТ > 30 vs k	2,71	1,18–6,29	5,78	0,016
	ИМТ > 30 vs ИМТ < 30	3,65	1,54–8,74	9,48	0,002
IL4RA (rs2074570)					
AA	ФВ > 40 vs ФВ < 40	6,28	1,96–20,20	9,17	0,002 (p ^f = 0,002)
AG	ФВ < 40 vs k	4	1,2–13,48	5,37	0,020 (p ^f = 0,023)
IL12A (rs568408)					
GA	СД2+ vs СД2-	3,03	1,10–8,47	4,73	0,03
IFNGR2 (rs17880053)					
Gd	КА 3 vs КА 1	3,85	1,08–13,72	3,91	0,048
TNFRSF1B (rs1061622)					
GG	ФВ < 40 vs k	13,19	2,92–59,45	13,68	0,0002 (p ^f = 0,0004)
	ФВ > 40 vs k	5,83	1,47–23,19	6,79	0,009
	ПА+ vs k	10,1	2,51–40,65	13,23	0,0003
	ПА- vs k	8,06	1,77–36,64	7,39	0,007 (p ^f = 0,005)
	КА 1 vs k	18,29	3,97–84,37	18,44	0,00002 (p ^f = 0,00009)
	КА 2 vs k	7,56	1,51–37,93	5,16	0,02 (p ^f = 0,02)
	КА 3 vs k	8,13	1,89–34,96	8,65	0,003 (p ^f = 0,002)
	ИМТ < 30 vs k	4,95	1,19–20,62	4,69	0,03
	ИМТ > 30 vs k	11,05	2,59–47,06	12,78	0,0004 (p ^f = 0,0003)
	СД2+ vs k	9,72	1,91–49,51	7,00	0,008 (p ^f = 0,009)
СД2- vs k	6,27	1,62–24,28	8,05	0,005	
mt (A12308G)					
G*	ИМТ > 30 vs ИМТ < 30	2,74	1,07–7,01	4,55	0,033

Примечание. k — контрольная группа; vs (versus — против) — применяется для обозначения сравнения между группами; OR — отношение шансов; 95% CI — границы 95%-ного доверительного интервала; χ^2 (p) — критерий χ^2 и его уровень значимости; p^f — уровень значимости для двустороннего точного критерия Фишера; ФВ — фракция выброса; ПА- и ПА+ — подгруппы с диагностированным/недиагностированным соответственно периферическим атеросклерозом; КА 1, КА 2, КА 3 — подгруппы с коронарным атеросклерозом одного, двух и трёх сосудов соответственно; СД2+ и СД2- — подгруппы с наличием сахарного диабета 2-го типа и без СД2 соответственно; G* — вариант 12308G определяет гаплогруппу U

Основной функцией продукта гена *GNB3* является связывание G-белка γ -3, передающего информацию от рецептора к внутриклеточным исполнительным системам. Редкий аллель Trs5443 (C825T, Ser275Ser) снижает активность продукта гена [29], поэтому можно предположить, что ослабление связывания G-белка γ -3, приводящее к усилению передачи сигнала, играет важную роль в формировании ИБС, в целом [1]. В настоящем исследовании показано участие rs5443 и в формировании особенностей течения данной патологии. Так, аллель T и генотип TT ассоциированы с низкими значениями ФВ (<40%), что является клиническим признаком недостаточности сократительной функции левого желудочка [12]. Генотип CC чаще регистрируется в контрольной группе, чем в общей группе больных ИБС [1], при дифференцировке подгрупп по наличию СД2 наименьшая частота этого генотипа отмечается в подгруппе больных ИБС без СД2, в этой же подгруппе наблюдает-

ся наибольшая частота регистрации альтернативного генотипа TT. При сравнении с контролем подгрупп больных ИБС, дифференцированных по ИМТ, был установлен протективный эффект аллеля T и генотипа TT в отношении ожирения (табл. 1). Вышесказанное позволяет предположить наличие протективного эффекта аллеля T и генотипа TT в отношении развития нарушений углеводного обмена, в целом. Полученные в отношении СД2 результаты, как и данные о связи rs5443 с ожирением, подтверждают наблюдения других исследователей [18, 22].

Для всех изученных полиморфных вариантов гена *NOS3* установлены ассоциации с эндофенотипами. В группе больных ИБС генотип CC промоторного варианта rs2070744 (T-786C) ассоциирован с низким уровнем ЛПНП в плазме крови ($p = 0,0008$) (табл. 2). Аллель A и генотип ABVNTR-полиморфизма (rs61722009) в гене *NOS3* ассоциированы с возникновением коронарного

Таблица 2

Средний уровень количественных признаков у больных ИБС в зависимости от генотипов исследованных полиморфных вариантов генов и вклад гена в детерминацию ассоциированного признака

Ген/ полиморфизм	Показатель	Значение признаков при генотипах			p	Вклад гена (G, %)	
		AA	AG	GG			
<i>ACE</i> rs4343	ДАД _{lg}	AA	AG	GG	0,029	1,18	
		1,93 ± 0,04; n = 27	1,97 ± 0,06; n = 23	1,95 ± 0,04; n = 24			
<i>NOS3</i> rs2070744	ЛПНП (ммоль/л)	TT	CT	CC	0,0008	10,68	
		4,05 ± 1,12; n = 28	4,31 ± 1,79; n = 19	0,81 ± 0,16; n = 3			
<i>GATA4</i> rs804271	ЛПНП (ммоль/л)	GG	GT	TT	0,004	0,1	
		3,35 ± 0,93; n = 13	4,57 ± 1,64; n = 30	3,03 ± 1,31; n = 11			
<i>ADRB2</i> rs10442714	ФВ (%)	GG	CG	GG	0,040	0,32	
		47,84 ± 15,20; n = 43	54,80 ± 12,51; n = 60	50,08 ± 14,75; n = 26			
<i>LTA</i> rs909253	ЗСЛЖ _{lg}	AA	AG	GG	0,028	4,21	
		0,99 ± 0,07; n = 61	1,03 ± 0,07; n = 52	1,04 ± 0,03; n = 8			
<i>TNFRSF1B</i> rs1061622	ОХС (ммоль/л)	TT	GT	GG	0,001	0,001	
		5,90 ± 1,30; n = 60	6,04 ± 1,26; n = 44	4,81 ± 1,18; n = 20			
<i>IL4R</i> rs2074570	ФВ (%)	AA	AG	GG	0,002	5,78	
		52,89 ± 13,51; n = 118	39,48 ± 5,47; n = 12	—			
		ИММЛЖ	145,71 ± 40,97; n = 103	180,73 ± 48,99; n = 10			—
		КДР _{lg}	1,74 ± 0,09; n = 118	1,79 ± 0,05; n = 10			—
<i>IL12A</i> rs568408	ИММЛЖ	GG	GA	AA	0,042	2,92	
		152,85 ± 44,84; n = 65	146,87 ± 37,22; n = 45	90,45 ± 38,21; n = 3			
		ТМЖП _{lg}	1,05 ± 0,07; n = 79	1,04 ± 0,09; n = 49			0,87 ± 0,15; n = 3
		0,0006	3,12				
<i>IFNG</i> rs2069705	САД _{lg}	CC	CT	TT	0,011	3,46	
		2,14 ± 0,05; n = 29	2,13 ± 0,05; n = 51	2,17 ± 0,06; n = 25			
		ДАД _{lg}	1,95 ± 0,05; n = 29	1,94 ± 0,06; n = 51			1,98 ± 0,06; n = 25
		0,023	2,98				
	МЖП _{lg}	1,02 ± 0,10; n = 35	1,06 ± 0,07; n = 60	1,03 ± 0,08; n = 32	0,014	0,001	
		ЗСЛЖ _{lg}	1,01 ± 0,07; n = 35	1,03 ± 0,07; n = 60	0,99 ± 0,07; n = 32	0,045	0,001

Примечание. _{lg} — в случае отклонения распределения признака от нормального проводили логарифмирование показателей

атеросклероза (статистически значимая величина ОР получена при сравнении подгрупп с поражением одного коронарного сосуда с контролем), но зарегистрирован протективный эффект в отношении множественного атеросклероза (дифференциация наблюдалась при сравнении подгрупп с поражением одного и трёх сосудов) (табл. 1). В настоящее время недостаточно данных для объяснения этой ассоциации, однако известно, что аллель В снижает продукцию белка eNOS [34], возможно, тем самым, опосредованно ухудшая течение атеросклероза, что может приводить к более частой его регистрации в подгруппе лиц с множественным атеросклеротическим поражением коронарных артерий. Для третьего изученного полиморфизма rs1799983 (G894T, Glu298Asp) выявлено преобладание гетерозиготного генотипа GT в группах пациентов с ожирением (ИМТ > 30) и с поражением двух сосудов при коронарном атеросклерозе при сравнении их с контролем (табл. 1). Получены также данные о протективном эффекте генотипа GT в отношении развития периферического атеросклероза у больных ИБС (табл. 1). Возможно, это является следствием функциональной значимости данного SNP: при наличии аллеля Т продукт гена в большей степени подвержен гидролизу [31].

В гетерозиготном состоянии полиморфизм tagSNP гена *PPP3R1* (продукт которого обладает широким спектром плейотропных эффектов в разных системах организма [13]) — rs11126176 (A/G) — значимо чаще встречался в группе больных с поражением одной коронарной артерии при сравнении с контрольной выборкой, являясь, таким образом, предрасполагающим к развитию коронарного атеросклероза. Вместе с тем, этот же генотип является протективным в отношении развития множественного коронарного атеросклероза (получены различия по частотам генотипов между группами с поражением одной артерии и двух и трёх артерий) (табл. 1).

Для полиморфизма tagSNP гена *GATA4* (основного регулятора ангиогенеза [20]) rs804271 (G/T) получено статистически значимое преобладание частоты аллеля Т в подгруппе больных ИБС с сопутствующим атеросклерозом периферических артерий по сравнению с подгруппой без этой патологии (табл. 1). Кроме того, гетерозиготный генотип GT ассоциирован ($p = 0,004$) с более высоким уровнем ЛПНП, а генотип ТТ — с более низким значением ТМЖП ($p = 0,002$) (табл. 2).

В гене β_2 -адренорецептора (*ADRB2*) проанализированы две функционально значимые замены. По rs1042713 зарегистрировано преобладание аллеля G и генотипа GG в подгруппе больных ИБС с ожирением, по сравнению как с подгруппой больных с нормальной массой тела, так и с популяционным контролем (табл. 1). Для замены rs10442714 (C79G, Gln27Glu) в настоящем исследовании получена ассоциация гетерозиготного генотипа с более высокими показателями ФВ ($p = 0,04$) (табл. 2). Поскольку β_2 -адренорецептор принимает участие в регуляции деятельности симпатиче-

ской нервной системы, осуществляющей множество процессов в организме [32], можно предположить наличие опосредованного, потенцирующего влияния замены rs10442714 на сократимость миокарда и на соответствующие характеристики его функционирования.

Известно, что воспаление при ИБС чрезвычайно важно, причём оно не зависит от выраженности коронарного атеросклероза и некроза миокарда [9]. В литературе широко освещается роль ФНО и интерлейкинов в процессах ремоделирования сердца [10]. В настоящем исследовании получен целый ряд ассоциаций эндотипов ИБС с различными цитокинами и их рецепторами.

Зарегистрирована ассоциация толщины задней стенки левого желудочка ($p = 0,028$) с SNP гена семейства *TNF*, кодирующего лимфотоксин α — *LTA*. В группе больных ИБС наибольшая толщина ЗСЛЖ фиксируется у гомозигот GG по rs909253 (A252G), наименьшая — у гомозигот AA, у носителей гетерозиготного генотипа регистрируются промежуточные значения (табл. 2). Ассоциативные исследования, включающие ген *LTA*, проводятся широко: установлены ассоциации с большим спектром патологических состояний, в том числе и заболеваний сердечно-сосудистой системы (см., например, [21]).

Особое внимание обращает на себя полиморфный вариант в гене *TNFRSF1B* (rs1061622). Ранее [1] была выявлена ассоциация аллеля G и генотипа GG данного SNP с ИБС в сочетании с АГ. В настоящем исследовании для rs1061622 выявлены однонаправленные ассоциации со всеми проанализированными качественными признаками: частоты аллеля G и генотипа GG в подгруппах, дифференцируемых по наличию/отсутствию качественных признаков выше, чем в контроле (табл. 1). Однонаправленные ассоциации и отсутствие различий между подгруппами в каждой паре сравнения могут свидетельствовать о влиянии данного SNP на риск развития непосредственно патологии, а не её эндотипов. Кроме того, установлена ассоциация редкого аллеля G с более низким уровнем ОХС ($p = 0,001$) (табл. 2). Ассоциация данного полиморфного варианта с уровнем ЛПВП описана в литературе [14].

Из двух исследованных замен в гене рецептора к ИЛ-4 (*IL4R*) ассоциации с эндотипами ИБС были выявлены только для rs2074570 (A2726G). Характерно, что относительно ФВ ассоциация была получена при рассмотрении его и как качественного, и как количественного признака. Результаты двух видов статистического анализа подтверждают друг друга: с более низкими значениями ФВ ассоциирован генотип AG. При сравнении подгрупп больных с нормальным и сниженным уровнем ФВ установлен протективный эффект генотипа AA в отношении снижения сократительной функции сердца (табл. 1). Для носителей гетерозиготного генотипа по rs2074570 гена *IL4R*, кроме того, характерны большие значения КДР ($p = 0,041$) и КСР ($p = 0,023$), более высокий индекс ММЛЖ ($p = 0,013$)

(табл. 2). Эхокардиографические показатели КСР, КДР и ФВ характеризуют сократительную функцию сердца и нагрузку на миокард. ФВ определяет объём крови, выброшенной сердцем за одно сокращение: чем сильнее происходит сокращение, тем больше ФВ и меньше значения КСР и КДР. Это объясняет «зеркальные» эффекты для КДР и КСР, с одной стороны, и ФВ, — с другой [12], и может говорить о неслучайности полученных ассоциаций. Для расчётов показателя ИММЛЖ используют значения КДР, что определяет однонаправленность характера изменений этих показателей. В доступных научных работах не обнаружено сведений о вовлечённости данного гена в патогенез сердечно-сосудистых заболеваний.

Для замены G1098A (rs568408) субъединицы p35 ИЛ-12 (*IL12A*) получены данные об ассоциации гетерозиготного генотипа с нарушениями углеводного обмена (СД2) в группе больных ИБС (табл. 1). Кроме того, установлены ассоциации частого генотипа GG с более высокими показателями ИММЛЖ ($p = 0,042$) и ТМЖП ($p = 0,0006$) у больных ИБС (табл. 2); эти два показателя характеризуют состояние левого желудочка и служат диагностическими критериями гипертрофии миокарда [12].

Полиморфный вариант rs2069705 (C-3511T) в гене *IFNG* ассоциирован с четырьмя эндофенотипами при ИБС, характеризующими геометрию миокарда и гемодинамику (табл. 2): для лиц с генотипом TT характерны повышенные уровни САД и ДАД ($p = 0,011$ и $p = 0,023$ соответственно) и более низкое значение толщины ЗСЛЖ ($p = 0,045$); для гетерозиготного генотипа СТ — большая величина толщины МЖП ($p = 0,014$). Продукт гена *IFNG* регулирует экспрессию более 500 генов [16]; его полиморфизм вовлечён в детерминацию предрасположенности к патологическим состояниям различной природы, в том числе и сердечно-сосудистой патологии [30]. Можно предположить его опосредованное участие и в развитии гипертрофии левого желудочка.

Для гена рецептора к IFN- γ (*IFNGR2*) выявлена ассоциация генотипа Gd (табл. 1) rs17880053 с множественным коронарным атеросклерозом ($p = 0,048$) при сравнении подгрупп с коронарным атеросклерозом одного и трёх сосудов, причём частота данного генотипа снижается в группах с разным числом поражённых сосудов ($1 > 2 > 3$). Информации о возможной функциональной значимости rs17880053 гена *IFNGR2* в доступной литературе не обнаружено. Однако известно, что в *IFNGR2* идентифицирован кластер из четырёх SNP, строго ассоциированный с прогрессированием фиброза у лиц с хронической формой гепатита С [27]. Рассуждая о некоторой общности процессов, лежащих в основе фиброгенеза и атерогенеза, можно предположить наличие сходных механизмов вовлечения продукта гена *IFNGR2* в формирование коронарного атеросклероза.

Участие продуктов генов мтДНК в процессах синтеза и накопления АТФ позволяет считать её универсальным кандидатным локусом для изучения генетических

основ широко распространённых заболеваний [25]. Нарушения функционирования митохондрий и повышение продукции активных форм кислорода наблюдаются при многих сердечно-сосудистых заболеваниях, в частности при гипертрофической кардиомиопатии, эндотелиальной дисфункции, атеросклерозе [19, 24]. Кроме того, мтДНК активно изучается с точки зрения вовлечённости в процессы регуляции окислительного стресса, ИБС и ИМ, АГ, продолжительности жизни и старения [2, 17, 23 и др.].

При сравнении частот гаплогрупп мтДНК в группе больных ИБС была зарегистрирована ассоциация (табл. 1) гаплогруппы U (аллель 12308G, rs2853498) с ожирением. Ожирение (ИМТ > 30) является одним из компонентов метаболического синдрома, для которого ранее была выявлена ассоциация с заменой T16189C [28]. Данный вариант характерен для одной из самых распространённых у русских подгрупп U — гаплогруппы U5, а также для более редких гаплогрупп U1 и U2e. Следует отметить, однако, что вариант 16189C часто встречается также и в гаплогруппах H и T.

Таким образом, в результате выполнения исследования были получены ассоциации 13 генов с рядом эндофенотипов ИБС в сочетании с АГ. Причём, согласно данным доступных источников литературы [36], для двух генов (*IL12A*, *IFNGR2*) вовлечённость в развитие сердечно-сосудистой патологии показана впервые. В то же время, вклад генов в детерминацию изменчивости количественных признаков был невысок: для трех генов (*GATA4*, *ADRB2* (rs10442714) и *TNFRSF1B*) не достигал 1%; для двух генов либо существенно варьировал для разных признаков (*IFNG* — от 0,001% до 3,46%), либо немногим превышал 1% (*ACE* — 1,18%). Вклад остальных ассоциированных с количественными признаками генов достигал для ряда признаков 3% (*IL12A*), 4% (*LTA*), 1–5% (*IL4R*); только для rs2070744 в гене *NOS3* вклад гена в детерминацию ассоциированного признака превышал 10% (табл. 2).

Следует отметить, что с качественными признаками ассоциированы преимущественно гены-кандидаты сердечно-сосудистых заболеваний, а с количественными — преимущественно гены иммунного ответа. Несомненный интерес вызывает сам факт вовлечённости полиморфизма генов регуляции иммунного ответа в изменчивость патогенетически значимых для функционирования сердечно-сосудистой системы количественных признаков. Из семи генов, ассоциированных как с качественными, так и с количественными признаками, четыре относятся к группе генов-кандидатов заболеваний сердечно-сосудистой системы (*ACE*, *NOS3*, *ADRB2*, *GATA4*), а три — к генам цитокинов и их рецепторов, как провоспалительных (*IL12A*, *TNFRSF1B*), так и противовоспалительных (*IL4R*). Полученные на примере ИБС в сочетании с АГ результаты подтверждают существенную роль воспаления в развитии сердечно-сосудистой патологии.

Список литературы

1. Бабушкина Н.П., Кучер А.Н., Буйкин С.В. и др. Ассоциации полиморфных вариантов генов ядерного и митохондриального геномов с ишемической болезнью сердца // // Медицинская генетика. — 2014. — Т. 13, №5. — С. 36–46.
2. Буйкин С.В., Голубенко М.В., Пузырев В.П. Участие «митохондриальных генов» в формировании гипертрофии левого желудочка при артериальной гипертензии // Молекулярная биология. — 2010. — Т. 44, №1. — С. 28–32.
3. Кучер А.Н., Бабушкина Н.П., Брагина Е.Ю. и др. Изменчивость полиморфных вариантов генов интерлейкинов и их рецепторов у представителей четырех этнических групп сибирского региона // Медицинская генетика. — 2009. — Т. 10. — С. 43–52.
4. 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. — С. 24–34.
5. Кучер А.Н., Бабушкина Н.П., Тарасенко Н.В. и др. Изменчивость полиморфных вариантов генов факторов некроза опухоли и их рецепторов у представителей четырех этнических групп сибирского региона // Медицинская генетика. — 2010. — №6. — С. 16–23.
6. Кучер А.Н., Бабушкина Н.П., Буйкин С.В., Пузырев В.П. Плейотропные эффекты генов предрасположенности многофакторным заболеваниям // Молекулярная медицина. — 2013. — №2. — С. 13–23.
7. Лакин Г.Ф. Биометрия: Учеб. пособие для биол. спец. ВУЗов. 4-е изд-е, перераб. и доп. — М.: Высш. шк. — 1990. — 352 с.
8. Лильин Е. Т., Трубников В. И., Ванюков М. М. Введение в современную фармакогенетику. — М.: Медицина, 1984. — 160 с.
9. Лутай М.И., Пархоменко А.Н., Шумаков В.А., Следзевская И.К. Ишемическая болезнь сердца (из Руководства по кардиологии / Под ред. проф. Н.В. Коваленко. — Киев: Морин, 2008. — С. 522–707.
10. Нечесова Т.А., Коробко И.Ю., Кузнецова Н.И. Ремоделирование левого желудочка: патогенез и методы оценки // Медицинские новости. — 2008. — №11. — С. 7–13.
11. Пузырев В.П., Кучер А.Н., Бабушкина Н.П. и др. Анализ мультилокусных генотипов, гаплотипов и оценка параметров неравновесия по сцеплению по полиморфным вариантам генов-кандидатов многофакторных заболеваний в сибирских популяциях // Медицинская генетика. — 2011. — №2. — С. 36–48.
12. Рыбакова М.К., Алехин М.Н., Митьков В.В. Практическое руководство по ультразвуковой диагностике. Эхокардиография. — М.: Видар-М, 2008. — 544 с.
13. Aramburu J., Heitman J., Crabtree G.R. Calcineurin: a central controller of signalling in eukaryotes // EMBO Rep. — 2004. — Vol. 5. — P. 343–348.
14. Barton A., John S., Ollier W.E. et al. Association between rheumatoid arthritis and polymorphism of tumor necrosis factor receptor II, but not tumor necrosis factor receptor I, in Caucasians // Arthritis Rheum. — 2001. — Vol. 44. — P. 61–65.
15. Blumenthal M. N., Nambodiri K. K., Mendell N. et al. Genetic transmission of serum IgE levels // Am. J. Med. Genet. — 1981. — Vol. 10. — P. 219–228.
16. Brewington R., Chatterji M., Zoubine M. et al. IFN- γ -independent autocrine cytokine regulatory mechanism in reprogramming of macrophage responses to bacterial lipopolysaccharide // J. Immunol. — 2001. — Vol. 167. — P. 392–398.
17. Dai D.F., Rabinovitch P.S., Ungvari Z. Mitochondria and cardiovascular aging // Circ. Res. — 2012. — Vol. 110(8). — P. 1109–1124.
18. Daimon M., Sato H., Sasaki S. et al. Salt consumption-dependent association of the *GNB3* gene polymorphism with type 2 DM // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 2008. — Vol. 374, №3. — P. 576–580.
19. Finsterer J. Is atherosclerosis a mitochondrial disorder? // Vasa. — 2007. — Vol. 36(4). — P. 229–240.
20. Heineke J., Auger-Messier M., Xu J. et al. Cardiomyocyte GATA4 functions as a stress-responsive regulator of angiogenesis in the murine heart // J. Clin. Invest. — 2007. — Vol. 117. — P. 3198–3210.
21. Ikeda S., Tanaka N., Arai T. et al. Polymorphisms of *LTA*, *LGALS2*, and *PSMA6* genes and coronary atherosclerosis: a pathological study of 1503 consecutive autopsy cases // Atherosclerosis. — 2012. — Vol. 221, №2. — P. 458–460.
22. Khamidullaeva G.A., Eliseyeva M.R., Nagay A.V., Abdullaeva G.J. C825T polymorphism of the G-protein $\beta 3$ subunit and its association with essential hypertension in Uzbek males // Turk. Kardiyol. Dern. Ars. — 2011. — Vol. 39, №3. — P. 198–204.
23. Lapointe J., Hekimi S. Early mitochondrial dysfunction in long-lived *Mcl1k1*+/- mice // J. Biol. Chem. — 2008. — Vol. 283. — P. 26217–26227.
24. Limongelli G., Masarone D., D'Alessandro R., Elliott P.M. Mitochondrial diseases and the heart: an overview of molecular basis, diagnosis, treatment and clinical course // Future Cardiol. — 2012. — Vol. 8(1). — P. 71–88.
25. McKusick V.A. Genomics: structural and functional studies of genomes // Genomics. — 1997. — Vol. 45. — P. 244–249.
26. Morris J.A., Gardner M.J. Statistics in Medicine: Calculating confidence intervals for relative risks (odds ratios) and standardised ratios and rates // Br. Med. J. (Clin. Res. Ed.). — 1988. — Vol. 296. — P. 1313–1316.
27. Nalpas B., Lavalie-Meziani R., Plancoulaine S. et al. Interferon gamma receptor 2 gene variants are associated with liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C infection // Gut. — 2010. — Vol. 59, №8. — P. 1120–1126.
28. Palmieri V.O., De Rasmio D., Signorile A. et al. T16189C mitochondrial DNA variant is associated with metabolic syndrome in Caucasian subjects // Nutrition. — 2011. — Vol. 27. — P. 773–777.
29. Siffert W., Rosskopf D., Moritz A. et al. Enhanced G protein activation in immortalized lymphoblasts from patients with essential hypertension // J. Clin. Invest. — 1995. — Vol. 96. — P. 759–766.
30. Srikanth B.B.M., Pulla R.B., Priya V.H. et al. Cytokine gene polymorphisms in the susceptibility to acute coronary syndrome // Genet. Test. Mol. Biomarkers. — 2012. — Vol. 16, №5. — P. 359–365.
31. Tesaro M., Thompson W.C., Rogliani P. et al. Intracellular processing of endothelial nitric oxide synthase isoforms associated with differences in severity of cardiopulmonary diseases: cleavage of proteins with aspartate versus glutamate at position 298 // PNAS USA. — 2000. — Vol. 97. — P. 2832–2835.
32. Thomsen M., Dahl M., Tybjaerg-Hansen A., Nordestgaard B.G. $\beta 2$ -adrenergic receptor Thr164Ile polymorphism, obesity, and diabetes: comparison with *FTO*, *MC4R*, and *TMEM18* polymorphisms in more than 64,000 individuals // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2012. — Vol. 97, №6. — P. E1074–1079.
33. Xi B., Rutter R., Chen J. et al. The *ACE* insertion/deletion polymorphism and its association with metabolic syndrome // Metabolism. — 2012. — Vol. 61, №6. — P. 891–897.
34. Zhang M.-X., Zhang C., Shen Y.H. et al. Biogenesis of short intronic repeat 27-nucleotide small RNA from endothelial nitric-oxide synthase gene // J. Biol. Chem. — 2008. — Vol. 283, №21. — P. 14685–14693.
35. Zhu X., Bouzekry N., Southam L. et al. Linkage and association analysis of angiotensin I-converting enzyme (*ACE*)-gene polymorphisms with ACE concentration and blood pressure // Am. J. Hum. Genet. — 2001. — Vol. 68. — P. 1139–1148.
36. <http://www.hugenavigator.net/> (по состоянию на апрель 2014).

Role of polymorphic variants of the genes of nuclear and mitochondrial genomes in determining ischemic heart disease endophenotypes

Babushkina N.P.¹, Kucher A.N.¹, Buikin S.V.¹, Golubenko M.V.¹,
Makeeva O.A.¹, Shipulin V.M.², Puzyrev V.P.¹

¹ – Institute of Medical Genetics SB RAMS,
Ushaika Embankment, 10, Tomsk, 634050, Russia, fax: (3822)513744

² – Institute of Cardiology SB RAMS,
634012, Tomsk, Kievskaya 111a, fax: 8 (3822) 565830, e-mail: sv@cardio-tomsk.ru

An analysis of association with qualitative and quantitative endophenotypes of coronary heart disease was performed for 27 SNP and 1 VNTR localized in 17 nuclear genes and for 4 SNP in mtDNA. Significant association with some pathogenetically important traits was found for 17 variants of 12 genes (*ACE*, *GNB3*, *ADRB2*, *NOS3*, *PPP3R1*, *GATA4*, *LTA*, *TNFRSF1B*, *IL4R*, *IL12A*, *IFNG*, *IFNGR2*) and for mitochondrial haplogroup U. For *IL12A* and *IFNGR2* genes, their involvement in the cardiovascular disease development has been shown for the first time. Estimates of contribution of the associated genes in the variability of quantitative traits were low, and only for rs2070744 in *NOS3* the G value exceeded 10%. The results confirm a significant role of inflammation in the development of cardiovascular disease.

Key words: genetic polymorphism, coronary artery disease, endophenotypes