

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В ОДНОМОМЕНТНОМ ПОПУЛЯЦИОННОМ И ПРОСПЕКТИВНОМ ИССЛЕДОВАНИЯХ**М.И. Воевода¹, В.Н. Максимов¹, С.К. Малюгина¹, В.В. Гафаров¹, С.В. Шишкин¹, А.Г. Ромашенко², И.В. Куликов¹, С.Н. Устинов¹, Е.В. Шахтштейндер¹, В.Ф. Кобзев²**¹Научно-исследовательский институт терапии СО РАМН, Новосибирск²Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

Изучен полиморфизм генов предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям в популяционном и проспективном исследовании в Новосибирске. В рамках программы ВОЗ MONICA обследовано 7111 мужчин и 5523 женщины из неорганизованной популяции Новосибирска. Для выявления факторов, независимо влияющих на риск смерти от ИБС, проводился множественный пошаговый логистический регрессионный анализ. На группе из 838 мужчин исследовалась ассоциация полиморфизма генов-кандидатов ИБС с факторами риска, заболеваемостью и смертностью от ССЗ. Данные проспективного эпидемиологического исследования подтверждают независимое влияние наследственной отягощенности по ИБС на смертность от ИБС в открытой популяции Новосибирска. Полиморфизм гена *FMS* в мужской популяционной выборке ассоциирован с инсультом (по данным проспективного наблюдения) и с факторами риска ССЗ в популяционном исследовании. I/D полиморфизм генов *ACE* и *α2b-адренорецептора* ассоциирован с ИБС в мужской популяции Новосибирска. Стратегия первичной профилактики ССЗ должна включать семейный анамнез и полиморфизм генов-кандидатов как важные критерии для формирования групп риска.

Ключевые слова: эпидемиология, ишемическая болезнь сердца, семейный анамнез, популяционные исследования, полиморфизм генов-кандидатов.

ВВЕДЕНИЕ

Сердечно-сосудистые заболевания остаются одной из основных причин заболеваемости и смертности среди населения [1–5]. Высокая заболеваемость и смертность ассоциируется с высокими уровнями факторов риска [6–8]. Прогностическая значимость этих факторов для заболеваемости и смертности от ССЗ оценивается неоднозначно, в том числе и значимость семейного анамнеза и генов-кандидатов [9–12]. Это может объясняться разными популяциями, методами набора материала, методиками обследования и критериями диагностики. Основная масса исследований выполнена по типу случай–контроль, популяционных и тем более проспективных исследований существенно меньше.

Целью настоящей работы было изучение полиморфизма генов предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям в одномоментном популяционном и проспективном исследованиях в Новосибирске.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В 1983–1984 гг. Институтом терапии в рамках Всесоюзной кооперативной программы “Эпидемиология ИБС и атеросклероза в различных регионах страны” было проведено первое в Новосибирске популяционное исследование распространенности и факторов риска ИБС в открытой популяции. В 1985–1995 гг. в рамках международной кооперативной программы по изучению тенденций заболеваемости и смертности от сердечно-сосудистых заболеваний и определяющих их факторов (проект ВОЗ “MONICA”) были выполнены еще три одномоментных обследования [4].

Обследование проводилось стандартными методами, принятыми в эпидемиологии сердечно-сосудистых заболеваний, и включало: опрос по анкете Rose на выявление стенокардии напряжения; опрос о семейном анамнезе, курении; двукратное измерение артериального давления; антропометрию; исследование липидного

Таблица 1
Сроки обследования и размеры выборок

Период обследования, годы	Мужчины	Женщины
1983–1984	1581	–
1985–1986	2204	2240
1988–1989	1721	1666
1994–1995	1605	1667
1983–1995	7111	5573
Всего	12684 человека	

профиля крови; запись ЭКГ покоя в 12 стандартных отведениях с последующей оценкой двумя независимыми кодировщиками по Миннесотскому коду. Общая численность всех обследованных выборок представлена в табл. 1.

Наследственность обследуемого считалась отягощенной по ИБС, если имелся хотя бы один признак из перечисленных – смерть от сердечного приступа отца или матери; инфаркт миокарда у одного из родителей; сердечный приступ (стенокардия) хотя бы у одного из родственников первой степени родства.

Гены и их полиморфизмы, включенные в исследование: ген рецептора макрофаг-колониестимулирующего фактора *c-fms* (3'UTR, позиции 34293 и 34294 TC→CA) [13], ген хемокиновых рецепторов *CCR2* (V64I) [14], ген ангиотензин-превращающего фермента *ACE* (I/D 287 п.н.) [15, 16], ген гликопротеина *GPIIb/IIIa* (A1/A2) [17], ген $\alpha 2b$ -адренорецептора *$\alpha 2b$ -adr* (I/D 9 пн.) [18], ген метилен-тетрагидрофолатредуктазы *MTHFR* (C677T) [19]. ДНК выделяли из крови с помощью фенол-хлороформной экстракции [20].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В целом наследственная отягощенность по ИБС была выявлена у 25 % мужчин и 35 % женщин.

Конечными точками проспективного наблюдения были инфаркт, инсульт, факт смерти, последний устанавливали путем изучения врачебных свидетельств о смерти. Информация об инфар-

ктах и инсультах была предоставлена соответствующими регистрами.

На следующем этапе исследовали связь между смертностью от ИБС и факторами риска. Сначала проводился унивариантный логистический регрессионный анализ связи между смертностью от ИБС и семейным анамнезом, отягощенным по ССЗ, наличием ИБС в момент обследования, систолическим и диастолическим АД, общим холестерином (ХС) плазмы, уровнем ТГ, ХС ЛПВП, индексом атерогенности, ИМТ, фактом курения, количеством сигарет в день, образованием. Потом выполнялся пошаговый логистический регрессионный анализ для выделения факторов, независимо влияющих на смертность от ИБС.

При построении модели оказалось, что смертность от ИБС у мужчин повышают независимо от других факторов: увеличение возраста, систолического АД, количества выкуриваемых за день сигарет, факт курения, наличие ИБС на момент обследования. Из семейного анамнеза таковыми оказались: инсульт у отца (ОР = 2,1) и смерть матери от СП (ОР = 2,1).

У женщин смертность от ИБС повышают независимо от других факторов: увеличение диастолического АД, возраста, количества выкуриваемых за день сигарет, наличие ИБС. Из семейного анамнеза таковыми оказались: СП у детей (ОР = 4,2), смерть матери от СП (ОР = 2,6).

Таким образом, данные проспективного эпидемиологического исследования подтверждают независимое влияние наследственной отягощенности по ИБС на смертность от ИБС в открытой популяции Новосибирска. Однако последнее не означает неизбежности наступления этого исхода, так как совокупный риск обусловлен всеми входящими в модель переменными. Уменьшение риска, связанного с внешнесредовыми и эндогенными факторами, уменьшает совокупный риск для каждого отдельного человека и популяции в целом. Часть фактов семейного анамнеза не вошли в общую модель, хотя имели значение каждый в отдельности. То есть они патогенетически связаны с переменными, обра-

Таблица 2
Регрессионная модель для смертности от ИБС мужчин – жителей г. Новосибирска

Показатель	Коэффициент β	Вальда χ^2	p	Относительный риск	95%-й доверительный интервал
Возраст	0,0561	23,476	0,0000	1,058	1,034–1,082
Систолическое АД	0,0174	17,204	0,0000	1,018	1,009–1,026
Количество сигарет	0,0303	5,392	0,0202	1,031	1,005–1,057
Инсульт у отца	0,7600	5,258	0,0219	2,138	1,117–4,095
Смерть матери от СП	0,7598	5,170	0,0230	2,138	1,111–4,116
Наличие ИБС	0,5104	4,990	0,0255	1,666	1,065–2,607
Курение	0,6964	4,647	0,0311	2,007	1,065–3,780

Связь смертности от ИБС и отдельных факторов риска среди женщин – жительниц г. Новосибирска

Фактор риска	Коэффициент β	Вальда χ^2	p	Относительный риск	95 %-й доверительный интервал
Вся ИБС	0,8741	6,3068	0,0000	2,397	1,212–4,741
Определ. ИБС	1,1655	10,070	0,0015	3,208	1,562–6,589
Возраст	0,1014	25,473	0,0000	1,107	1,064–1,151
Систолическое АД	0,0078	5,0296	0,0249	1,008	1,001–1,015
Диастолическое АД	0,0381	10,301	0,0013	1,039	1,015–1,063
АГ	0,9782	7,2319	0,0072	2,660	1,304–5,426
ХС ЛПВП	-0,0137	4,5772	0,0324	0,986	0,974–0,999
ТГ	0,0038	8,2248	0,0041	1,004	1,001–1,006
Количество сигарет	0,0998	4,9865	0,0255	1,105	1,012–1,206
Наследственная отягощенность	0,7848	4,5378	0,0332	2,192	1,065–4,512
Смерть матери от СП	1,1349	7,6014	0,0058	3,111	1,388–6,971
СП у детей	1,3611	6,0353	0,0140	3,901	1,317–11,554
АГ у детей	1,1060	6,3147	0,0120	3,022	1,276–7,160

зующими модель. Они могут применяться для отбора при формировании групп риска и в то же время риск, обусловленный ими, может быть практически полностью сведен к нулю контролем над факторами, поддающимися коррекции. Следовательно, есть основания полагать, что стратегия профилактики ИБС, базирующаяся на семейном анамнезе, как одном из критериев формирования групп повышенного риска, будет эффективной как в плане достижения конечного результата (поскольку является первичной профилактикой, которая намного эффективней вторичной), так и в экономическом смысле (поскольку затраты несравнимо ниже, чем при других стратегиях). Но в каждой отдельной семье, чтобы получить должный эффект от профилактики, требуется определить ведущие факторы риска, из них выделить поддающиеся коррекции и воздействовать на них. Только в этом случае можно рассчитывать на максимальный эффект при минимальных усилиях. Повышение эффективности профилактики, основанное на индивидуальном подходе, может быть достигнуто в рамках стратегии генов-кандидатов. Знание генных полиморфизмов, ассоциированных с повышенным риском заболевания, дает возможность рекомендовать их носителям меры профилактики задолго до появления первых симптомов заболевания и таким образом предотвратить его развитие, существенно отодвинуть срок его начала или, по крайней мере, уменьшить тяжесть клинических проявлений. Такой подход представляется еще более обоснованным, если исходить из представлений о синтропных болезнях и синтропных генах [21]. Синтропия, т. е. сочетание болезней у одного человека или полипатия, в основе которой, ве-

роятно, лежат одинаковые гены-кандидаты или синтропные гены и, соответственно, общие механизмы развития. Дильман В.П. (1987) называл такие болезни “нормальными” болезнями, болезнями гомеостаза или болезнями адаптации, считая их неизбежным следствием онтогенеза. Позднее сформировались представления о сердечно-сосудистом континууме или непрерывном развитии сердечно-сосудистых заболеваний от факторов риска до фатального исхода [22]. Благодаря развитию биоинформатики углубляются и расширяются представления о компонентах и тонкостях работы различных генных сетей, в том числе генных сетей липидного обмена [24]. Наличие общих механизмов развития и общих генов (генных полиморфизмов), теоретически создает предпосылки к разработке программ ранней индивидуальной специфической профилактики болезней сердечно-сосудистого континуума, основанной на знании генных полиморфизмов у каждого человека. Постепенное внедрение генетического паспорта может стать реальным шагом на этом пути. Постепенное, потому что еще не до конца ясно, какие гены и их полиморфизмы включать в этот паспорт, поскольку риск развития заболевания, ассоциированный с ними, значимо отличается в разных популяциях, что диктует необходимость проведения исследований такого рода в каждой популяции.

На следующем этапе работы по материалам последнего скрининга начали изучение ассоциации генных полиморфизмов с заболеваемостью, смертностью и факторами риска как на момент выполнения исследования, так и при проспективном наблюдении (838 мужчин). За восемь лет, прошедших с момента скрининга, у здоро-

вых на момент исследования мужчин произошло 49 инфарктов и 17 инсультов.

Частота редкого гомозиготного генотипа гена *c-fms* у лиц, перенесших инсульты, в 3 раза выше, чем в популяции (30 и 9 % соответственно, различие статистически достоверно $p = 0,02$). При этом больше половины из этих 30 % умерли от инсульта. При сравнении частот генотипов в популяции, группе перенесших инсульт и умерших от инсульта, с помощью процедуры Crosstab статистического пакета SPSS 11.5 различия статистически достоверны $p = 0,012$. Эти данные хорошо согласуются с результатами анализа ассоциаций полиморфизма гена *c-fms* с факторами риска в популяции. Отягощенный по ССЗ анамнез встречался у пробандов гомозиготных по редкому аллелю гена *c-fms* в 2,5–5,2 раза чаще, чем у носителей двух других генотипов (см. рисунок).

У гомозигот по редкому аллелю больше индекс массы тела ($p = 0,049$) и выше уровень глюкозы по результатам теста толерантности к глюкозе ($p = 0,031$), чем у гомозигот по частому аллелю. У гомозигот по редкому аллелю больше масса тела ($p = 0,028$) и индекс массы тела ($p = 0,009$) по сравнению с гетерозиготами. У гетерозигот ниже уровень альфа-холестерина ($p = 0,011$) и выше индекс атерогенности ($p = 0,048$), чем у лиц гомозиготных по частому аллелю.

Носители редкого 64Pе аллеля гена *CCR2* имеют более низкие цифры систолического, диастолического и пульсового артериального давления, по сравнению с носителями двух других генотипов ($p < 0,05$). В группе лиц с атеросклеротическим поражением сонных артерий (по данным УЗИ) гомозиготы по редкому аллелю гена *CCR2* встречаются в 3 раза чаще, гетерозиготы – в 2 раза чаще, чем в группе без поражения сонных артерий ($p < 0,035$).

Носители делеционного аллеля в гене $\alpha 2b$ -адренорецептора достоверно чаще имеют ИБС (по эпидемиологическим критериям), отношение шансов 1,6 (95 % ДИ 1,1–2,3, $p = 0,017$). Уровень диастолического АД выше у гетерози-



Повышение частоты редкого генотипа гена *c-fms* при отягощенном семейном анамнезе

гот по сравнению с гомозиготами обеих видов, $p = 0,024$, по непараметрическому тесту Манна-Уитни. По таблицам сопряженности повышение диастолического давления чаще встречается у гетерозигот, а у гомозигот по инсерции – наоборот, реже.

Среди здоровых на момент исследования мужчин доля гомозигот по инсерции в 16 интроне гена *ACE* в 2,4 раза больше, чем среди лиц с ИБС ($p = 0,015$). У гомозигот по делеции выше уровень общего холестерина и ХС ЛПНП по сравнению с носителями двух других генотипов ($p = 0,046$). Кроме того, у гомозигот по делеции выше масса тела ($p = 0,033$) и индекс массы тела ($p = 0,011$).

Среди лиц, имеющих в семейном анамнезе сердечный приступ у матери, гомозиготы A2/A2 по гену *Gp1b/IIIa* встречаются в 3,6 раза чаще, чем в группе без сердечного приступа у матери (2,3 и 8,3 % соответственно, $p = 0,04$). Частота гомозигот A2/A2 также примерно в три раза выше среди тех, у кого матери умерли от сердечного приступа, и среди лиц с определенной ИБС (различия статистически недостоверно из-за малого объема группы). Кроме того, у гомозигот по редкому аллелю на 10 мм рт. ст. выше пульсовое АД ($p = 0,02$).

У лиц с артериальной гипертензией частота гомозигот по редкому аллелю гена *MTHFR* значительно выше, чем в группе с нормальным АД. Относительный риск иметь АГ у лиц с этим генотипом в 4,1 раза выше, чем у лиц с двумя другими генотипами (95 % доверительный интервал 1,6–10,6). Кроме того, у редких гомозигот выше систолическое и пульсовое АД и индекс атерогенности по сравнению с частыми гомозиготами 677C/677C.

Таким образом: 1) данные проспективного эпидемиологического исследования подтверждают независимое влияние наследственной отягощенности по ИБС на смертность от ИБС в открытой популяции Новосибирска; 2) полиморфизм гена *FMS* в мужской популяционной выборке ассоциирован с инсультом (по данным проспективного наблюдения) и с факторами риска ССЗ в одномоментном исследовании; 3) I/D полиморфизм генов *ACE* и $\alpha 2b$ -адренорецептора ассоциирован с ИБС в мужской популяции Новосибирска; 4) стратегия первичной профилактики ССЗ должна включать семейный анамнез и полиморфизм генов-кандидатов как важные критерии для формирования групп риска.

Совершенствование технологии секвенирования идет параллельно со снижением ее стоимости. Но для корректной интерпретации всей этой информации и выдачи обоснованных рекомендаций потребуется еще очень большой объем исследований и подготовка клиницистов, которые смогут использовать это в своей практической деятельности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Оганов Р.Г. Первичная профилактика ИБС. – М.: Медицина, 1990. 158 с.
2. Эпидемиология неинфекционных заболеваний / Под ред. А.М. Вихерта, А.В. Чаклина; АМН СССР. М.: Медицина, 1990. 272 с.
3. Никитин Ю.П., Малютин С.К., Симонова Г.И. и др. Сердечно-сосудистые заболевания в Сибири: 10-летние тренды и определяющие факторы (Сибирская МОНИКА) // Диагностика, лечение и профилактика сердечно-сосудистых заболеваний. Новосибирск, 1996. С. 103–104.
4. 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.
5. Липовецкий Б.М. Эпидемиология атеросклероза и артериальной гипертензии. СПб.: Наука, 2004. 191 с.
6. Профилактика, диагностика и лечение первичной артериальной гипертензии в Российской Федерации // РМЖ. 2000. № 8. С. 318–349.
7. Алмазов В.А., Шляхто Е.В. Гипертоническая болезнь. М., 2000. 118 с.
8. Маколкин В.И., Подзолков В.И. Гипертоническая болезнь. М., 2000. 96 с.
9. Ильинский Б.В., Ключева С.К. Ишемическая болезнь сердца и наследственность. Л.: Медицина, 1985. 176 с.
10. Conroy R.M., Mulcahy R., Hickey N., Daly L. Is a family history of coronary heart disease an independent coronary risk factor? // Br Heart J. 1985. Vol. 53, N 4. P. 378–381.
11. Roncaglioni M.C., Santoro L., D'Avanzo B. et al. Role of family history in patients with myocardial infarction. An Italian case-control study. GISSI-EFRIM Investigators // Circulation. 1992; Vol. 85, N 6. P. 2065-2072.
12. Kardia S.L., Modell S.M., Peyser P.A. Family-centered approaches to understanding and preventing coronary heart disease // Am. J. Prev. Med. 2003. Feb; Vol. 24. N 2. P. 143-51.
13. Ромашенко А.Г., Кузнецова Т.Н., Рузанкина Я.С. и др. Обнаружение двух полиморфных сайтов в гене c-fms человека: частоты аллелей и генотипов в некоторых популяциях России // Генетика. 2002. Т. 38, №1. С. 33-40.
14. Воевода М.И., Устинов С.Н., Юдин Н.С. и др. Связь полиморфизма гена хемокинового рецептора CCR2 с инфарктом миокарда // Докл. РАН, 2002. Т. 385, № 2. С. 279-282.
15. Raynolds M., Bristow M., Bush E., et al. Angiotensin-converting enzyme DD genotype in patients with ischaemic or idiopathic dilated cardiomyopathy // Lancet. 1993. Vol. 342. P. 1073-1075.
16. Lindpaintner K., Pfeffer M.A., Kreutz R., et al. A prospective evaluation of an angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and the risk of ischemic heart disease // N Engl. J. Med. 1995. Vol 332. P. 706-11.
17. Laule M., Cascorbi I., Stangl V. et al. A1/A2 polymorphism of glycoprotein IIIa and association with excess procedural risk for coronary catheter interventions: a case-controlled study The Lancet. 1999. Vol 27. P. 353.
18. Snapir A, Mikkelsen J, Perola M, Penttila A, Scheinin M, Karhunen PJ Variation in the alpha2B-adrenoceptor gene as a risk factor for prehospital fatal myocardial infarction and sudden cardiac death // J. Am. Coll. Cardiol. 2003. Vol. 15, N 41(2). P. 190-194.
19. Notsu Y; Nabika T; Park HY; Masuda J; Kobayashi S Evaluation of genetic risk factors for silent brain infarction //Stroke. 1999. Sep. Vol. 30, N 9. P 1881-1886.
20. Смит К., Калко С., Кантор Ч. Пульс-электрофорез и методы работы с большими молекулами ДНК // Анализ генома / Под ред. К. Дейвиса; пер. с англ. М.: Мир, 1990. С. 58–94.
21. Пузырев В.П. Феном и гены синтропии // Генетика человека и патология: Сб. науч. трудов / под ред. В.П. Пузырева. Вып. 7. Томск: Печатная мануфактура, 2004. С. 180-191.
22. Беленков Ю.Н., Мареев В.Ю. Сердечно-сосудистый континуум // Журн. сер. недост. 2002. Т. 3, № 1. С. 7-11.
23. Дильман В. М. Четыре модели медицины. Л.: Медицина, 1987. 272 с.
24. Колчанов Н.А., Ананько Е.А., Колпаков Ф.А. и др. Генные сети // Молекулярная биология. 2000. Т. 34, № 4. С. 533-544.

**POLYMORPHISM OF GENES OF PREDISPOSITION TO CARDIOVASCULAR DISEASES
IN POPULATION AND PROSPECTIVE STUDY**

**Voevoda M.I., Maksimov V.N., Malujtina S.K., Gafarov V.V., Shishkin S.V., Romaschenko A.G.,
Kulikov I.B., Ustinov S.N., Shahtshneider E.V., Kobzev V.P.**

Analysis of polymorphism of genes of predisposition to cardiovascular diseases (CVD) in population and prospective study in Novosibirsk. Within the framework of the program MONICA is observed 7111 men and 5523 women from a unorganized population of Novosibirsk. For detection of the independent factors influential on risk of death from CVD, the multiple logistics regression analysis was conducted. On group of 838 men the association of polymorphism of genes - candidates CVD with the factors of risk, morbidity and death rate from CVD was studied. The data of epidemiological prospective study confirm independent influencing of a heritable predisposition on CVD on death rate from CVD in an opened population of Novosibirsk. The polymorphism of a gene FMS in man's population sample is associated with an stroke (the data of prospective study) and with the factors of risk CVD in population research. I/D polymorphism of genes an ACE and A2b-adrenoceptor is associated with CVD in a man's population of Novosibirsk. The primary prevention of CVD should actuate a family history and polymorphism of genes - candidates, as the relevant factor for including of groups of risk.