

РОЛЬ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В ФОРМИРОВАНИИ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

¹Майкова Е.В., ¹Нгуен Ф. Н., ¹Алимова Ф.К., ²Подольская А.А., ¹Кравцова О.А.

¹ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань
Казань, Россия (420008, г.Казань, ул. Кремлевская, 18) kazan.gen@gmail.com

²ГОУ ВПО Казанский государственный медицинский университет, Казань
Казань, Россия (420012, г.Казань, ул. Бутлерова, 49) alla-196900@mail.ru

Исследована роль полиморфизма генов каталазы, супероксиддисмутаза 2 и 3, глутатионпероксидазы 1 и NADPH-оксидазы 1 (rs1001179, rs1050450, rs4880, rs699473 и rs699473) как генетических факторов риска развития ишемической болезни сердца (ИБС) у населения Республики Татарстан. Генетическими маркерами острого инфаркта миокарда являются генотипы СТ и СС полиморфизма генов глутатионпероксидазы 1 и супероксиддисмутаза 2 соответственно, причем данная ассоциация обнаружена только для мужчин. Маркерами развития стенокардии напряжения являются генотипы АА и ТТ полиморфных локусов генов каталазы и супероксиддисмутаза 3, причем предрасполагающий эффект выражен у женщин. Показано отсутствие ассоциации полиморфизма гена NADPH-оксидазы 1 с риском развития ИБС вне зависимости от клинической формы.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, антиоксидантная защита, полиморфизм генов, генетическая предрасположенность.

THE ROLE OF ANTIOXIDATIVE SYSTEM GENE'S POLYMORPHISMS IN FORMATION OF PREDISPOSITION TO CORONARY HEART DISEASE

¹Maykova E.V., ¹Nguyen F.N., ¹Alimova F.K., ²Podol'skaya A.A., ¹Kravtsova O.A.

¹Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan
Kazan, Russia (420008, Kazan, Kremlevskaya st., 18), kazan.gen@gmail.com

²Kazan State Medical University, Kazan
Kazan, Russia, (420012, Kazan, Butlerova st., 49) alla-196900@mail.ru

The aim of this study was to investigate a role of antioxidative defense system gene polymorphisms such as catalase, superoxidodismutase 2 and 3, glutathioneperoxidase 1 and prooxidative gene NADPH-oxidase 1 (rs1001179, rs1050450, rs4880, rs699473 and rs699473 respectively) in the development of the coronary heart disease (CHD) in the population of the Republic of Tatarstan. We've showed that CT and CC genotypes of GPX1 and SOD2 genes polymorphisms respectively are associated with CHD in the form of AMI, additionally this association was found only in men. Markers of stenocardia are the genotypes AA and TT of CAT and SOD3 genes's polymorphic loci with most predisposing effect in women. Additionally we've showed the absence of association of polymorphisms NADPH-oxidase 1 with CHD regardless of its clinical form and gender.

Key words: coronary heart disease, antioxidative defense, gene polymorphism, genetic predisposition.

Введение. Последние десятилетия в мире активно ведутся исследования генов предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям (ССЗ), перечень которых включает не менее 200 наименований из различных групп: гены белков липидного обмена, белков, регулирующих сосудистые реакции, гены гемостатических факторов и другие.

Генетическая изменчивость ферментов антиоксидантной системы организма в последнее время стала одним из наиболее привлекательных объектов в изучении этиопатогенеза ССЗ. В настоящий момент известно, что активные формы кислорода (АФК), включающие процессы перекисного окисления, являются причиной инициации ишемической болезни сердца (ИБС) [2].

Сложный механизм формирования клинического фенотипа ИБС, а в частности, острого инфаркта миокарда (ОИМ) и стенокардии напряжения (СН), обусловлен большим количеством различных генов, вовлеченных в патогенез ИБС, однако роль генов, кодирующих ферменты антиоксидантной системы (АОС), при ИБС является недостаточно изученной, а результаты исследований, как правило, носят противоречивый характер [8, 9].

В связи с этим, целью данной работы является анализ ассоциации полиморфизма некоторых генов антиоксидантной системы (CAT, GPx-1, SOD2, SOD3), а также прооксидантного гена NADPH-оксидазы с риском развития ишемической болезни сердца у населения Республики Татарстан.

Материалы и методы. Генотипирование по полиморфным локусам было проведено у 431 человек (табл.1). Группа больных с диагнозом ИБС, состоящая из 266 человек, сформирована на базе кардиологических отделений Межрегионального клинко-диагностического центра (МКДЦ) и Городской больницы скорой медицинской помощи №1 (г. Казань), с учетом пола, возраста, отягощенной наследственности по ИБС (наличие ИБС у кровных родственников). Контрольная группа сравнения (ИБС «-») включала 165 человек, куда вошли пациенты МКДЦ без патологии сердечно-сосудистой системы. У всех пациентов было получено согласие на проведение данного исследования. Как больные, так и лица группы контроля представляли собой смешанную популяцию Республики Татарстан и не состояли друг с другом в кровном родстве.

Таблица 1. Характеристика обследованных групп

Признак	ИБС «+»		ИБС «-»
	ОИМ	СН	
Численность	174	92	165
Возраст	63,4 ± 11,8	62,9 ± 11,3	59,9 ± 11,7
Мужчины/женщины	104/70	37/55	81/84

Выделение геномной ДНК осуществляли из 5 мл венозной крови стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции [1]. Генотипирование ДНК-полиморфизмов генов проводили методом ПЦР с последующим рестрикционным анализом согласно протоколам, описанным в литературе [3, 4, 7] на программируемых термоциклерах «MyCycler» (Bio-Rad Laboratories, США). Визуализацию и учет результатов генотипирования проводили с использованием гель документирующей системы ChemiDoc™ XRS (Bio-Rad Laboratories, США).

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы UNPHASED версии 3.1.5 (программа разработана Frank Dudbridge, 2006, MRC Biostatistics Unit Robinson Way Cambridge CB2 0SR, UK). Значимость различий между группами по частотам встречаемости аллелей и генотипов исследованных полиморфизмов оценивали по критерию χ^2 при уровне значимости $p=0.05$. Для оценки вклада полиморфных локусов в развитие ИБС рассчитывали отношение шансов (ОШ) и 95 % доверительных интервалов для ОШ (ДИ_{ОШ}) по указанной выше программе.

Результаты и обсуждение

Главным патогенетическим фактором ИБС является стенозирующее атеросклеротическое поражение коронарных артерий сердца. Согласно перекисной концепции развития атеросклероза, при воздействии неблагоприятных факторов среды, нарастает образование активного кислорода, одним из основных источников образования которого является NADPH-оксидаза. АФК запускают механизмы свободно-радикального окисления (СРО), что приводит к деформации мембранного липопротеидного комплекса и нарушению мембранной проницаемости. Для регулирования процессов СРО в организме существует антиоксидантная система (АОС), которая включает в себя серосодержащие соединения, витамины, антиоксидантные комплексоны, гормоны, структурные антиоксиданты и ферментные системы – каталазу, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазу [5].

В данной работе проведены ассоциативные исследования по выявлению роли однонуклеотидных замен (SNP) в генах каталазы (CAT, полиморфизм -262 C/T, rs1001179), глутатион-пероксидазы-1 (GPx-1, полиморфизм +593C/T, rs1050450), митохондриальной супероксиддисмутазы (SOD2, полиморфизм +9T/C, rs4880), внеклеточной супероксиддисмутазы (SOD3, полиморфизм +186C/T, rs699473), осуществляющих антиоксидантную защиту организма, а также полиморфизма +242C/T гена NADPH-оксидазы (NADPH), продукт которого является одним из источников образования активных форм кислорода в клетке, в формировании генетической предрасположенности к клиническим формам ИБС (ОИМ и СН).

В проведенного анализа показано, что все исследованные полиморфизмы находятся в соответствии с равновесием Харди-Вайнберга ($p>0,05$).

Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов по всем исследованным локусам выявил различия между группами больных с различной клинической формой течения и условно здоровых лиц по полиморфизмам генов CAT, Gpx-1 и SOD2, тогда как по полиморфизмам генов SOD3 и NADPH статистически значимых различий между группами больных и контроля не обнаружено (рис. 1).

Так, в группе условно здоровых лиц по полиморфизму -262C/T гена CAT, локализованному в промотрной области гена, наблюдается статистически значимое увеличение частоты встречаемости генотипа AA, который оказывает протективное действие в отношении развития ИБС (ОШ<1), тогда как генотип TT является маркером повышенного риска развития ИБС, причем у таких носителей более чем в 7 раз увеличен риск протекания заболевания в форме стенокардии, тогда как вероятность развития ОИМ у таких же индивидов увеличена приблизительно в 2 раза. При этом предрасполагающий к стенокардии

эффект данного аллеля и генотипа наиболее выражен у женщин (ОШ=6,2; 95 % ДИ 1,89-12,18) (табл. 2). Необходимо также отметить, что генетически детерминированная предрасположенность к гипертонической болезни показана для носителей аллеля Т и генотипов ТТ+АТ в нескольких популяциях [3, 10].

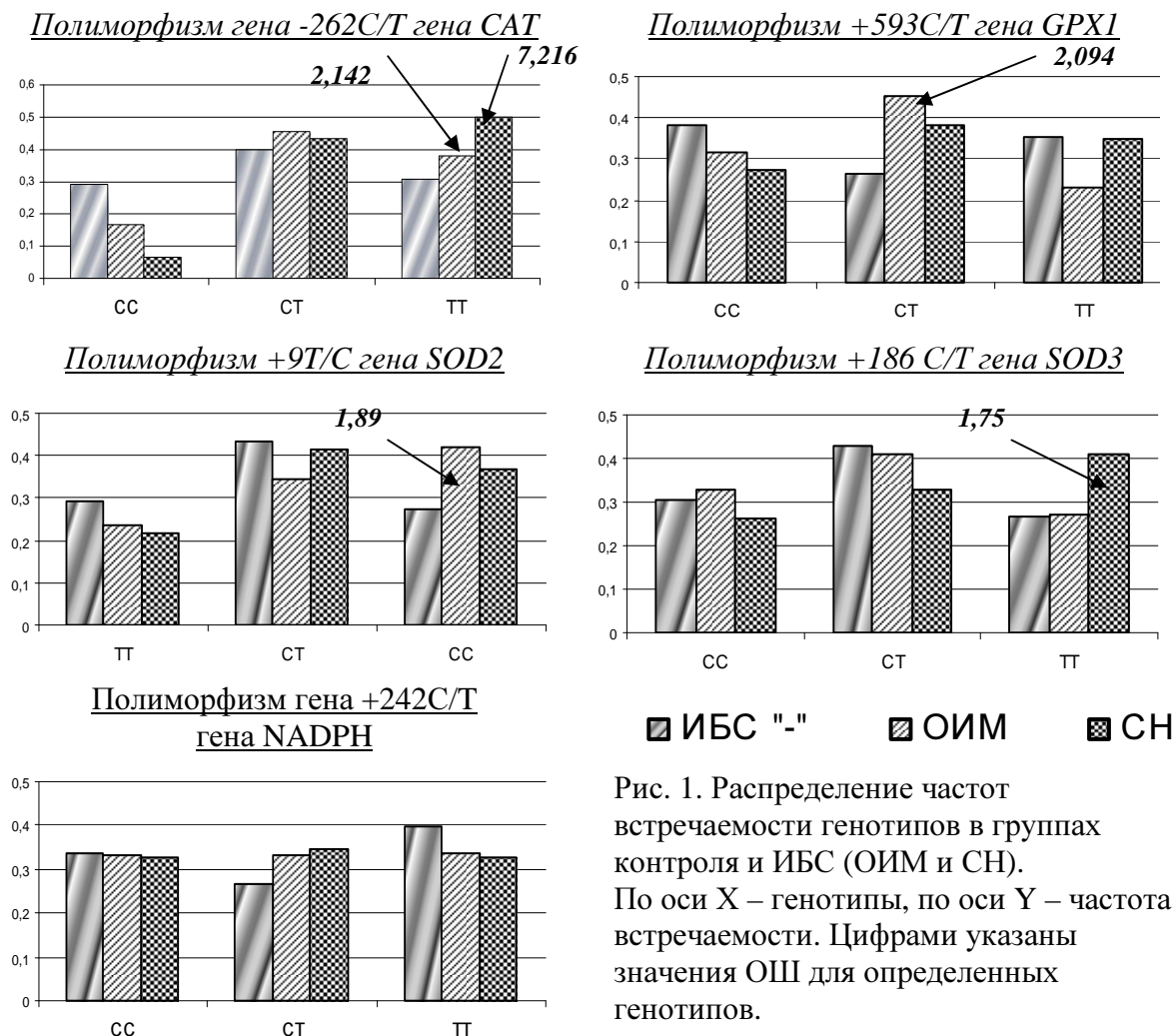


Рис. 1. Распределение частот встречаемости генотипов в группах контроля и ИБС (ОИМ и СН). По оси X – генотипы, по оси Y – частота встречаемости. Цифрами указаны значения ОШ для определенных генотипов.

Также гендерные различия были обнаружены и для полиморфизма +593С/Т гена Grx-1, характеризующегося заменой Pro197Leu в последовательности белка. Так, при сравнении групп больных и контроля, в группе с ОИМ нами отмечено увеличение частоты встречаемости гетерозиготного генотипа СТ (ОШ=2,094; 95 % ДИ 1,231-3,564), при этом статистически значимое увеличение частоты встречаемости этого генотипа наблюдается только у мужчин. Таким образом, носительство гетерозиготного генотипа более чем в 2 раза повышает риск развития ОИМ (ОШ=2,099; 95% ДИ 1,008-4,37). По данным ряда авторов, генотип СТ является маркером повышенного риска различных патологий сердечно-сосудистой системы, в том числе атеросклероза коронарных сосудов [6].

Предрасполагающим фактором к развитию ОИМ также является носительство генотипа СС полиморфного маркера +9Т/С гена SOD2 (приводящей к замене Ala16Val в аминокислотной последовательности белка). Частота встречаемости данного генотипа увеличена в группе больных с ОИМ (ОШ=1,899; 95 % ДИ 1,09-3,32), при этом

предрасполагающий к ОИМ эффект данного генотипа наиболее выражен также у мужчин (ОШ=2,26; 95 % ДИ 1,03-4,98) (табл. 2).

Особый интерес представляет полиморфизм +186С/Т гена SOD3 (замена аргинина на глицин в 213ом положении полипептидной цепи), так как предрасполагающий эффект полиморфных вариантов данного SNP носит четкие гендерные различия. Так, у женщин со СН наблюдается достоверное увеличение частоты аллеля Т на фоне снижения частоты встречаемости аллеля С ($p=0,003$) и достоверное увеличение доли гомозиготного генотипа ТТ ($p=0,011$). При этом риск развития стенокардии напряжения у женщин, носителей генотипа ТТ, увеличен практически в 4 раза по сравнению с контрольной группой (ОШ=3,6; 95 % ДИ 1,38-9,40) (табл. 2).

По полиморфному варианту +242С/Т гена NADPH, несмотря на некоторые изменения в распределении частот аллелей и генотипов между исследованными группами как больных с диагнозом ОИМ, СН и контроля, так и разделенных по гендерному признаку группам, статистически достоверных различий получено не было (табл. 2).

Таблица 2. Сравнительная характеристика частот аллелей и генотипов по исследованным локусам в группах ИБС и условно здоровых лиц

Генотип	Мужчины					Женщины				
	p*	ОИМ	ИБС«-»	СН	p**	p*	ОИМ	ИБС«-»	СН	p**
Полиморфизм -262С/Т гена САТ										
СС	0.01935	0.1635	0.3086	0.05405	0.002255	0.1311	0.1714	0.2738	0.07273	0.003386
СТ	0.3652	0.4615	0.3951	0.4595	0.8694	0.6336	0.2738	0.4048	0.4	0.9554
ТТ	0.2624	0.37	0.2963	0.4865	2.982	0.4051	0.3857	0.3214	0.5273	0.01554
Полиморфизм +593С/Т гена GPx-1										
СС	0.3856	0.3204	0.3836	0.2973	0.3716	0.3356	0.3043	0.3797	0.2545	0.129
СТ	0.008128	0.4563	0.2603	0.3514	0.3204	0.01969	0.4493	0.2658	0.4	0.1017
ТТ	0.05268	0.2233	0.3562	0.3513	0.9602	0.154	0.2464	0.3544	0.3455	0.9147
Полиморфизм +9Т/С гена SOD2										
ТТ	0.376	0.25	0.31	0.19	0.176	0.394	0.21	0.27	0.24	0.622
ТС	0.112	0.37	0.48	0.43	0.62	0.311	0.31	0.39	0.4	0.933
СС	0.011	0.39	0.21	0.38	0.054	0.081	0.47	0.33	0.36	0.713
Полиморфизм +186С/Т гена SOD3										
СС	0.28	0.359	0.284	0.405	0.19	0.536	0.275	0.321	0.167	0.043
СТ	0.33	0.35	0.42	0.243	0.065	0.641	0.478	0.441	0.389	0.549
ТТ	0.941	0.291	0.296	0.351	0.55	0.905	0.246	0.238	0.444	0.011
Полиморфизм +242С/Т гена NADPH										
СС	0.3665	0.3684	0.3026	0.3243	0.815	0.2291	0.2712	0.3699	0.3273	0.6174
СТ	0.6479	0.2947	0.2632	0.3784	0.2101	0.1579	0.3898	0.3562	0.3273	0.5135
ТТ	0.1924	0.3368	0.4342	0.2973	0.1613	0.8368	0.339	0.274	0.3455	0.9

p* – данные сравнения группы ОИМ с группой ИБС «-».

p** – данные сравнения группы СН с группой ИБС «-».

Таким образом, определенные генотипы полиморфных локусов генов каталазы и супероксиддисмутазы 3 являются маркерами развития ишемической болезни сердца, а именно, стенокардии напряжения у женщин, тогда как аллельные сочетания по полиморфизмам генов Grx-1 и SOD2 маркируют повышенный риск развития острого инфаркта миокарда у мужчин.

Литература

1. Маниатис С.И. Оптимизированные методики выделения ДНК из различных источников / С.И. Маниатис. – М.: Наука. – 1998. – 160 с.
2. Максименко, А.В. Внеклеточное оксидативное поражение сосудистой стенки и ее ферментная антиоксидантная защита / А.В. Максименко // Хим.-фарм. журн. – 2007. – №41. – С. 3–12.
3. Ahn J. Associations between catalase phenotype and genotype: modification by epidemiologic factors / J. Ahn, S. Nowell, SE. McCann et al. // Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. – 2006. – V. 15(6). – P. 1217–1222.
4. Arun K.T. Oxidative stress pathway genes and chronic renal insufficiency in Asian Indians with Type 2 diabetes / K.T. Arun, Pushlata Prasad, B.K. Thelma et al. // J Diabetes Complications. – 2009. – V.23. – P. 104.
5. Leopold A. Oxidative Risk for Atherothrombotic Cardiovascular Disease / Jane A. Leopold, M.D. and Joseph Loscalzo et al. // Biol Med. – 2009. – V. 47(12). – P.1673–1706.
6. Masami N. Genetic association of glutathione peroxidase-1 with coronary artery calcification in type 2 diabetes: a case control study with multi-slice computed tomography / N. Masami, N. Rimei, S. Takashi // Cardiovascular Diabetology. – 2007. – V. 6. – P. 23.
7. Mitrunen K. Association between manganese superoxide dismutase (MnSOD) gene polymorphism and breast cancer risk / K. Mitrunen, P. Sillanpaa, V. Kataja et al. // Carcinogenesis. – 2001. – V. 22. – P. 827.
8. Mollsten A. The V16A polymorphism in SOD2 is associated with increased risk of diabetic nephropathy and cardiovascular disease in type 1 diabetes / A. Mollsten, A. Jorsal, M. Lajer // Diabetologia. – 2009. – V. 52. – P. 2590–2593.
9. Sakari K. The signal sequence polymorphism of the MnSOD gene is associated with the degree of carotid atherosclerosis / K. Sakari, P. Markku, K. Pirjo et al. // Atherosclerosis. – 2003. – V. 168. – P. 147–152.
10. Zhou X. Polymorphisms in the promoter region of catalase gene and essential hypertension / X. Zhou, J. Cui, AL. DeStefano et al. // Dis Markers. – 2005. – V. 21. – P. 3–7.

Рецензенты:

Каримова Ф.Г., д.б.н., профессор, заслуженный деятель науки РТ, КИББ КазНЦ РАН, Российская Федерация, г. Казань.

Ослопов В.Н., д.м.н., профессор, РФГОУ ВПО Казанский медицинский государственный университет, Российская Федерация, г. Казань.