

Генетические факторы риска развития атеросклероза и их взаимосвязь с традиционными факторами риска атеросклероза у пациентов, страдающих ишемической болезнью сердца и проживающих в условиях высокогорья (на примере Карачаево-Черкесии)

А. А. Дотдаева¹, З. Б. Хасанова², Л. А. Егорова², Г. М. Шиганова³, И. А. Собенин², А. Ю. Постнов², С. А. Бойцов⁴

¹ МЛПУ «Малокарачаевская ЦРБ», Карачаево-Черкесия

² ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» МЗ РФ, Москва

³ ГБУЗ «Городская поликлиника № 23 Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва

⁴ ФГБУ «Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины» МЗ РФ, Москва

Абстракт

Цель. Изучить значение гетероплазмии митохондриальной ДНК как фактора риска развития атеросклероза и ее взаимосвязь с традиционными факторами риска атеросклероза у пациентов, страдающих ишемической болезнью сердца (ИБС) и проживающих в условиях высокогорья.

Материалы и методы. В исследование включены 112 человек, обратившихся в Центральную районную больницу Малокарачаевского района Карачаево-Черкесии. В результате обследования сформированы 2 группы: больные ИБС и контрольная группа. В первой группе 77 пациентов, из них 60 мужчин (78%) и 17 женщин (22%). Ко второй группе отнесены пациенты, у которых в результате проведенного обследования не выявлена ИБС. В этой группе 35 пациентов, из них 28 мужчин (80%) и 7 женщин (20%). Средний возраст больных ИБС $61,5 \pm 2,2$ года, в группе сравнения – $54,1 \pm 2,8$ года. Всем пациентам проведено анкетирование для выявления поведенческих факторов риска, лабораторное и клиничко-инструментальное обследование.

Результаты. В результате исследования выявлено, что нет достоверной связи между митохондриальными мутациями и липидными показателями сыворотки крови. Наличие курения также не увеличивало степень мутационной нагрузки. Не была выявлена связь таких традиционных факторов риска, как абдоминальное ожирение и наличие сахарного диабета, с уровнем гетероплазмии митохондриального генома. Обнаружена отрицательная корреляция между уровнем систолического артериального давления и наличием артериальной гипертензии с одной стороны и степенью гетероплазмии митохондриальной мутации G15059A с другой. В исследовании также выявлена отрицательная корреляция между наличием ИБС и мутациями G14846A и G13513A.

Заключение. Полученные данные дают основание сделать вывод о том, что мутации G14846A и G13513A могут иметь антиатерогенный характер. Наличие отрицательной корреляции между уровнем гетероплазмии мутации G15059A и таким фактором риска атеросклероза и его осложнений, как артериальная гипертензия, может также указывать на его непрямо антиатерогенное действие.

Ключевые слова: мутация, митохондриальный, геном, гетероплазмия, ишемическая болезнь сердца, факторы риска.

The association of genetic risk factors of atherosclerosis with traditional risk factors of atherosclerosis in patients with coronary heart disease living in highlands (at the example of Karachay-Cherkessia)

A.A. Dotdaeva¹, Z.B. Khasanova², L.A. Egorova², G.M. Shiganova³, I.A. Sobenin², A.Yu. Postnov², S.A. Boytsov⁴

¹ Malokarachayevsky Central District Hospital, Karachay-Cherkessia, Russia

² Russian Cardiology Research Complex, Moscow, Russia

³ Municipal Polyclinic № 2 of Healthcare Department, Moscow, Russia

⁴ National Research Center for Preventive Medicine of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia

Abstract

Objective. *To study significance of the heteroplasmy of the mitochondrial genome as the risk factor of atherosclerosis and its association with traditional risk factors in patients with coronary heart disease (CHD) living in highlands.*

Materials and methods. *112 patients who came to see a doctor to the polyclinic of central regional hospital of Malokarachayevsky region of Karachay-Cherkessia were included in the research. As a result the examined people were divided into 2 groups. The first group included 77 patients with coronary heart disease, 60 men (78%) and 17 women (22%). The second group included 35 patients without CHD according to the examination results, 28 men (80%) and 7 women (20%). The average age of patients was 61.5 ± 2.2 years in the first group and 54.1 ± 2.8 years in the second. The determination of behavioral risk factors and clinical and laboratory examination were made.*

Results. *The study allowed to find out that there wasn't any association between mutations of the mitochondrial genome and the serum lipid profile. Smoking also didn't increase the count of mutations. There was not found any association between the heteroplasmy of mitochondrial genome and other traditional risk factors, such as central obesity and diabetes. Arterial hypertension in anamnesis and systolic blood pressure had negative correlation with the level of heteroplasmy of G15059A mutation. The study also detected a negative correlation between the coronary heart disease and G14846A and G13513A mutations presence.*

Conclusions. *According to our data G14846A and G13513A mutations may have the antiatherogenic features. A negative correlation between the level of heteroplasmy of G15059A mutation and such atherosclerotic risk factor as arterial hypertension, may also indicate its indirect antiatherogenic influence.*

Keywords: *mutation, mitochondrial, genome, heteroplasmy, coronary heart disease, risk factors.*

Введение

Атеросклероз – мультифакториальное заболевание, играющее важную роль в инвалидизации населения и увеличении смертности от сердечно-сосудистых заболеваний [1–3]. Для развития и дальнейшего прогрессирования заболевания имеют значение факторы риска атеросклероза и его осложнений [4, 5]. Существуют модифицируемые и немодифицируемые факторы риска. Основными модифицируемыми факторами риска являются: курение, артериальная гипертензия, дислипидемия (нарушенное соотношение АпоВ/АпоА1), наличие сахарного диабета, абдоминальное ожирение [6–8].

Среди немодифицируемых факторов риска особое значение придается генетическим факторам [9, 10]. Геном клетки человека включает в себя ядерный и митохондриальный геном. Большинство известных работ, посвященных исследованию генетической предрасположенности к атеросклерозу,

связано с патологией ядерного генома. Митохондриальный геном существенно менее изучен в данном отношении. Митохондриальный геном отличается нестабильностью, и в течение жизни человека в нем могут происходить мутации. В идеальных условиях все митохондрии в клетке имеют одинаковую копию ДНК – гомоплазмия. Но в связи с постоянно протекающим в митохондриях процессом дыхания митохондриальный геном является нестабильным, и в течение жизни человека в нем нередко возникают мутации. При этом вновь возникшие мутации могут накладываться на полученные в результате наследования. Гетероплазмия – это одновременное существование в клетке мутантной и немутантной митохондриальной ДНК. Сазоновой М. А. и соавт. был разработан метод, позволяющий производить качественную оценку митохондриальных мутаций посредством определения критического уровня гетероплазмии митохондриальных мутаций, ассоциированных с возникновением и развитием патологии в организме человека [11].

В ряде работ указывается на то, что гетероплазмия митохондриальной ДНК может быть связана с риском развития сердечно-сосудистых заболеваний [12–14]. Так, в работе Собенина И. А., Сазоновой М. А. и соавт. [15] высокий уровень гетероплазмии по полиморфизму 3256С/Т гена MT-TL1 ассоциируется с предрасположенностью к развитию каротидного атеросклероза, наличием атеросклеротических бляшек в бассейне сонных артерий, наличием ишемической болезни сердца, инфарктом миокарда в анамнезе. Исследование, проведенное Сазоновой М. А. и соавт., показало весьма значительные отличия между процентом гетероплазмии митохондриального генома человека в позиции 13513 в липофиброзных бляшках и нормальной интима аорты [16].

В работе Чичевой М. М. [17], проведенной на основании данных обследования выборки условно здоровых женщин-добровольцев, для которых не наблюдалось клинических проявлений заболеваний сердечно-сосудистой системы, выявлено, что уровень гетероплазмии мутаций митохондриального генома С3256Т, G14709А, G12315А, G13513А и G14846А ассоциирован со степенью доклинического атеросклероза у женщин, причем проатерогенными являются мутации С3256Т, G14709А и G12315А, а мутации G13513А и G14846А являются антиатерогенными. По данным исследователя, суммарная мутационная нагрузка митохондриального генома по мутациям С3256Т, G14709А, G12315А, G13513А и G14846А объясняет 68 % вариабельности толщины интимо-медиального слоя сонных артерий, в то время как совокупность традиционных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний объясняет только 8 % вариабельности толщины интима-медиа (ТИМ).

В связи с вышеизложенным представляется интересным изучить зависимость гетероплазмии и традиционных факторов риска атеросклероза и его осложнений, особенно с учетом территориальных и национальных особенностей.

Материал и методы

В исследование включены 112 человек, обратившихся в Центральную районную больницу Малокарачаевского района Карачаево-Черкесии. В результате обследования сформированы 2 группы: больные ишемической болезнью сердца (ИБС) и контрольная группа.

В группу больных ИБС включены пациенты, состоящие на учете у кардиолога и участковых терапевтов с подтвержденной ИБС. В группу сравнения были включены люди, обратившиеся по другим поводам, а также обследованные в ходе профилактических осмотров, соответствующие по возрасту пациентам из первой группы. Средний возраст больных ИБС $61,5 \pm 2,2$ года, в группе сравнения – $54,1 \pm 2,8$ года. Обе группы сопоставимы по полу

и возрасту. Критериями исключения были: тяжелая хроническая сердечная недостаточность III–IV ФК по NYHA, дыхательная недостаточность II–III степени, ХПН в терминальной стадии, сахарный диабет и гипотиреоз в стадии декомпенсации, мерцательная аритмия, несогласие пациента на проводимое обследование.

Всем пациентам был проведен сбор анамнеза, клиническое, лабораторное и инструментальное обследование. По отношению к курению обследованные разделены на 3 группы: курящие на момент обследования, бросившие курить и не курившие. Курящими на момент обследования считались лица, выкуривающие на момент осмотра 1 и более сигарету в день или бросившие курить менее чем за 6 месяцев до начала обследования.

Проведенное клиническое обследование включало в себя измерение веса с точностью до 0,1 кг, роста с точностью до 0,5 см и измерение окружности талии с точностью до 0,5 см. Абдоминальное (центральное) ожирение диагностировалось, если объем талии у мужчин был ≥ 94 см, у женщин ≥ 80 см [6].

Индекс массы тела (индекс Кетле) рассчитывался по формуле:

$$ИМТ = \text{Масса тела (кг)} / \text{рост}^2 (\text{м}^2).$$

Определение величины артериального давления (АД) проводилось по стандартной методике. Проводилось трехкратное измерение АД с интервалом не менее 1 мин., при разнице более 5 мм рт. ст. производились дополнительные измерения. За конечное значение принималось среднее из 2 последних измерений. Для диагностики заболевания было выполнено не менее 3 измерений с разницей не менее 1 недели. Согласно Национальным рекомендациям по диагностике и лечению артериальной гипертензии [18], артериальная гипертензия определялась как состояние, при котором систолическое АД составляло 140 мм рт. ст. или выше и/или диастолическое АД – 90 мм рт. ст. или выше у лиц, которые на момент осмотра не получали антигипертензивной терапии. Наличие либо отсутствие сахарного диабета определялось согласно Рекомендациям по лечению сахарного диабета [19].

Забор крови для проведения биохимического анализа проводился в биохимической лаборатории по месту жительства по стандартной методике. После забора кровь центрифугировалась до получения плазмы. Для проведения генетического анализа забор крови проводился утром натощак в количестве 9 мл из локтевой вены в пластиковую пробирку объемом 15 мл, содержащую в качестве антикоагулянта 1 мл натриевой соли этилендиаминтетрауксусной кислоты (Na-ЭДТА).

Все образцы материала были заморожены и хранились при температуре не менее -20°C . При доставке крови до места анализа были предприняты меры, предупреждающие разморозку и последующую заморозку образцов.

Биохимический анализ крови проводился в лабораториях Российского кардиологического научно-производственного комплекса (РК НПК) и Государственного научно-исследовательского центра профилактической медицины (ГНИЦ ПМ) в Москве с использованием стандартных методик и включал в себя определение глюкозы крови, общего холестерина крови (ОХС), липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), триглицеридов (ТГ), апобелка А1 (апоА1), апобелка В (апоВ), липопротеида (а). При определении связи дислипидемии и других факторов риска принималось во внимание то, что часть пациентов принимает статины. Генетический анализ митохондриальной гетероплазмы проводился в лаборатории медицинской генетики РК НПК по методике Сазоновой М. А. и соавт. [11]. Исследовалась гетероплазмия по следующим митохондриальным мутациям: С3256Т, G12315А, G13513А, G14846А, G15059А.

Кроме того, было проведено инструментальное обследование, включавшее в себя электрокардиографию в 12 отведениях, суточное мониторирование электрокардиограммы по 3 каналам, нагрузочные электрокардиографические пробы.

В результате обследованные были разделены на 2 группы. В 1-й группе – больные ИБС, в том

числе перенесшие инфаркт миокарда. ИБС считалась подтвержденной при наличии во время холтеровского мониторирования ЭКГ депрессии сегмента ST >2 мм при ее длительности более 1 мин. [20] и при положительной велоэргометрической пробе [21]. Наличие перенесенного ИМ устанавливалось по ЭКГ-изменениям, в т. ч. архивным. В группе больных ИБС 77 пациентов, из них 60 мужчин (78 %) и 17 женщин (22 %). В группе сравнения 35 пациентов, из них 28 мужчин (80 %) и 7 женщин (20 %).

Для статистической обработки полученных результатов использовалось программное обеспечение Statistica 6.0 (StatSoft, Россия).

Результаты и обсуждение

В результате исследования выявлено, что нет достоверной связи между митохондриальными мутациями и липидными показателями сыворотки крови. С учетом того, что пациенты, страдающие ИБС, соблюдают диету и некоторые из них принимают статины, наличие или отсутствие корреляции не является значимым. Фактор курения также не увеличивал степень мутационной нагрузки (табл. 1).

Не была выявлена связь таких традиционных факторов риска, как абдоминальное ожирение и наличие сахарного диабета, с уровнем гетероплазмы

Таблица 1. Взаимосвязь курения и митохондриальных мутаций

	Курение: 0 – не курил, 1 – бросил, 2 – продолжает курить	
	Коэффициент Спирмена	P
Мутация G14846A	-0,028	0,766
Мутация G13513A	0,004	0,969
Мутация C3256T	0,102	0,285
Мутация G15059A	0,176	0,064
Мутация G12315A	-0,143	0,132

митохондриального генома. Обнаружена отрицательная корреляция между уровнем систолического артериального давления и наличием артериальной гипертензии с одной стороны и степенью гетероплазмы митохондриальной мутации G15059А с другой (табл. 2).

Так как артериальная гипертензия является одним из факторов риска атеросклероза и его осложнений, можно говорить о непрямом антиатерогенном действии мутации G15059А.

Отмечена отрицательная корреляция между наличием ИБС и мутациями G14846А и G13513А, что также может говорить об их антиатерогенном характере (Табл. 3).

Эти данные согласуются с некоторыми данными уже имеющихся исследований [17]. Так, в работе

Чичевой М. М. проводилось изучение патогенетической значимости мутаций митохондриального генома в клетках крови при бессимптомном атеросклерозе у женщин, проживающих в Москве. Мутации G13513А и G14846А также имели антиатерогенные свойства. Однако гетероплазмия в мутациях митохондриального генома C3256Т, G14709А и G12315А не ассоциирована с наличием ИБС в исследуемых выборках.

Отсутствие корреляции ряда мутаций с факторами риска атеросклероза и его осложнений может быть связано как с недостаточным размером выборки, так и с тем, что мы не исследуем наличие и степень поражения сосудов атеросклерозом. В нашем исследовании критерием отбора была ИБС, которая обусловлена не только степенью

Таблица 2. Корреляционная связь артериальной гипертензии и митохондриальной мутации G15059A

	Коэффициент Спирмена	P
Мутация G15059A и артериальная гипертензия в анамнезе: 0 – нет, 1 – есть	–0,219	0,020
Мутация G15059A и систолическое артериальное давление на момент обследования	–0,219	0,020

Таблица 3. Корреляционная связь между ишемической болезнью сердца и мутациями G14846A и G13513A

	Коэффициент Спирмена	P
Мутация G14846A и ИБС: 0 – нет, 1 – есть	–0,204	0,031
Мутация G13513A и ИБС: 0 – нет, 1 – есть	–0,268	0,004

атеросклеротического поражения коронарных сосудов, но и различными другими факторами, в частности, состоянием свертывающей и противосвертывающей систем крови.

Таким образом, данное исследование показало значимость митохондриальных мутаций в диагностике предрасположенности к ИБС и необходимость дополнительных исследований с большим

объемом выборки для уточнения наличия и силы корреляционной связи между традиционными факторами риска и гетероплазмией митохондриального генома.

Конфликт интересов

Конфликт интересов отсутствует.

Список литературы

- Oganov RG, Pogosova GV, Koltunov IE, Belova IuS, Vygodin VA, Spivak E. RELIPH – REGularnoye Letcheniye I ProPHylaktika (Regular Treatment and Prevention) – the key to improvement of situation with cardiovascular diseases in Russia: results of multicenter study. Part II. *Kardiologiya*. 2007;47(11):30-9. Russian (Оганов РГ, Погосова ГВ, Колтунов ИЕ, Белова ЮС, Выгодин ВА, Спивак Е. РЕЛИФ – Регулярное Лечение И профилактика – ключ к улучшению ситуации с сердечно-сосудистыми заболеваниями в России: результаты российского многоцентрового исследования. Часть II. *Кардиология*. 2007;47(11):30-9).
- Oganov RG, Pogosova GV, Koltunov IE, Belova IuS, Vygodin VA. RELIPH – regular treatment and prevention – the key to improvement of situation with cardiovascular diseases in Russia: results of a Russian multicenter study (part III). *Kardiologiya*. 2008;48(4):46-53. Russian (Оганов РГ, Погосова ГВ, Колтунов ИЕ, Белова ЮС, Выгодин ВА. РЕЛИФ – Регулярное Лечение И профилактика – ключ к улучшению ситуации с сердечно-сосудистыми заболеваниями в России: результаты российского многоцентрового исследования. Часть III. *Кардиология*. 2008;48(4):46-53).
- Strategy of prevention and control of noncommunicable diseases and injuries in the Russian Federation*. Moscow; 2008. Russian (Стратегия профилактики и контроля неинфекционных заболеваний и травматизма в Российской Федерации. Москва; 2008).
- Seryakova VA. Evaluation of the natural dynamics of coronary heart disease and prognostic significance of its major risk factors on the results of the 17-year prospective cohort study in Tomsk. PhD Thesis. Tomsk; 2009. Russian (Серякова ВА. Оценка естественной динамики ишемической болезни сердца и прогностической значимости ее основных факторов риска по результатам проспективного когортного 17-летнего исследования в г. Томске: диссертация к. м. н. Томск; 2009).
- Tantsyreva IV. The contribution of the conventional and novel risk factors in survival prediction in men aged 60 years and older with coronary heart disease. DMSc Thesis. Tyumen; 2010. Russian (Танцырева ИВ. Вклад «традиционных» и «новых» факторов риска в прогнозирование выживаемости у мужчин в возрасте 60 лет и старше с ишемической болезнью сердца: диссертация д. м. н. Тюмень; 2010).

6. *National guidelines for cardiovascular prevention. Journal of Cardiovascular Therapy and Prevention. 2011;10(6) Appendix 2. Russian (Национальные рекомендации по кардиоваскулярной профилактике. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2011;10(6):Приложение 2).*
7. *Shalnova SA. Risk factors of cardiovascular diseases and life expectancy of Russian population (according of the survey of national representative sample). DMSc Thesis. Moscow; 1999. Russian (Шальнова СА. Факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний и показатели ожидаемой продолжительности жизни населения России (по результатам обследования национальной представительной выборки): автореф. диссертации д. м. н. Москва; 1999).*
8. *Shalnova SA, Deev AD, Oganov RG. The prevalence of smoking in Russia. The results of a national representative sample survey of the population. Disease Prevention and Health Promotion. 1998;3:9-12. Russian (Шальнова СА, Деев АД, Оганов РГ. Распространенность курения в России. Результаты обследования национальной представительной выборки населения. Профилактика заболеваний и укрепление здоровья. 1998;3:9-12).*
9. *Boeva OI. Constitutional and genetic factors in predicting the risk of repeated coronary heart disease exacerbations. DMSc Thesis. Stavropol; 2008. Russian (Боева ОИ. Конституциональные и генетические факторы в прогнозировании риска повторных обострений ишемической болезни сердца: диссертация д. м. н. Ставрополь; 2008).*
10. *Ogarkov MJ. The Features of apolipoprotein E polymorphism, coronary heart disease prevalence, its main metabolic and non-metabolic risk factors in indigenous population of Gornaya Shoria. DMSc Thesis. Barnaul; 2004. Russian (Огарков МЮ. Особенности полиморфизма гена аполипопротеина Е, распространенность ишемической болезни сердца, ее основных метаболических и неметаболических факторов риска у коренного населения Горной Шории: диссертация д. м. н. Барнаул; 2004).*
11. *Sazonova M1, Budnikov E, Khasanova Z, Sobenin I, Postnov A, Orekhov A. Studies of the human aortic intima by a direct quantitative assay of mutant alleles in the mitochondrial genome. Atherosclerosis. 2009;204(1):184-90.*
12. *Cassandrini DI, Calevo MG, Tessa A, Manfredi G, Fattori F, Meschini MC, Carozzo R, Tonoli E, Pedemonte M, Minetti C, Zara F, Santorelli FM, Bruno C. A new method for analysis of mitochondrial DNA point mutations and assess levels of heteroplasmy. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2006;342(2):387-93.*
13. *Jeppesen TD, Schwartz M, Hansen K, Danielsen ER, Wibrand F, Vissing J. Late onset of stroke-like episode associated with a 3256C T point mutation of mitochondrial DNA. Journal of the Neurological Sciences. 2003; 214(1-2):17-20.*
14. *Sato W1, Hayasaka K, Shoji Y, Takahashi T, Takada G, Saito M, Fukawa O, Wachi E. A mitochondrial tRNA(Leu)(UUR) mutation at 3,256 associated with mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes (MELAS). Biochem Mol Biol Int. 1994 Aug;33(6):1055-61.*
15. *Sobenin IA, Sazonova MA, Myasoedova VA, Kirichenko TV, Ivanova MM, Postnov AY, Orekhov AN. The polymorphism of 3256S/T mitochondrial DNA as a marker of coronary heart disease and atherosclerosis. Problems and perspectives of modern science. 2011;3(1):108-10. Russian (Собенин ИА, Сазонова МА, Мясоедова ВА, Кириченко ТВ, Иванова ММ, Постнов АЮ, Орехов АН. Полиморфизм 3256S/T митохондриальной ДНК как маркер ишемической болезни сердца и атеросклероза. Проблемы и перспективы современной науки. 2011;3(1):108-10).*
16. *Sazonova MA, Zhelankin AB, Ivanova MM, Mitrofanov KY, Korobov GA, Khasanova ZB, Postnov AY, Orekhov AN, Sobenin IA. G13513A mutation detection in human aortic intima. Collection of scientific papers with the materials of the VI International Teleconference. Natural sciences and humanism. Tomsk 2011;1(volume 7):73-6. Russian (Сазонова МА, Желанкин АВ, Иванова ММ, Митрофанов КЮ, Коробов ГА, Хасанова ЗБ, Постнов АЮ, Орехов АН, Собенин ИА. Детекция мутации G13513A в интима аорты человека. Межвузовский сборник научных работ с материалами трудов участников VI международной телеконференции «Фундаментальные науки и практика». Естествензнание и гуманизм. Томск 2011;1(Том 7):73-6).*
17. *Chicheva MM. Study of pathogenetic significance of the mitochondrial genome mutations in blood cells in asymptomatic atherosclerosis in women. PhD Thesis. Moscow; 2013. Russian (Чичева ММ. Изучение патогенетической значимости мутаций митохондриального генома в клетках крови при бессимптомном атеросклерозе у женщин: диссертация к. б. н. Москва; 2013).*