



АНАЛИЗ ПОЛИМОРФНЫХ ДНК МАРКЕРОВ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПРЕДИКТОРОВ ИНФАРКТА МИОКАРДА С УЧЁТОМ ВОЗРАСТА

Т.Р. Насибуллин*, В.В. Эрдман, Я.Р. Тимашева, И.А. Туктарова

Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра РАН,
Россия, 450054, Уфа, Проспект Октября, 71, *Email: nasibullintr@yandex.ru

Резюме

Инфаркт миокарда (ИМ) – многофакторное полигенное заболевание, развитие которого обусловлено сложным взаимодействием множества средовых и генетических факторов. В настоящем исследовании в этнически однородной группе проведён анализ ассоциаций с ИМ полиморфных маркеров rs1042034 (ген *APOB*), rs4420638 (ген *APOC1*) rs2070424 (ген *SOD1*) и rs662 (ген *PON1*). Материалом для анализа послужили 365 образцов ДНК больных мужчин, перенёсших ИМ в возрасте от 30 до 60 лет, и 292 практически здоровых мужчин соответствующей контрольной группы. В результате исследования выявлены маркеры повышенного риска ИМ: *SOD1**A/A, для мужчин до 46 лет ($P=0.029$, $OR=1.96$), *APOC1**A/G ($P=0.03$, $OR=2.01$), для мужчин старше 48 лет, и *APOB**C/C ($P=0.031$, $OR=1.8$).

Ключевые слова: генетический полиморфизм, инфаркт миокарда, липопротеиды, окислительный стресс

Цитирование: Насибуллин Т.Р., Эрдман В.В., Тимашева Я.Р., Туктарова И.А. Анализ полиморфных ДНК маркеров как потенциальных предикторов инфаркта миокарда с учетом возраста // Биомика. 2020. Т.12(4). С. 455-459. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-37

© Авторы

ANALYSIS OF POLYMORPHIC DNA MARKERS AS POTENTIAL PREDICTORS OF MYOCARDIAL INFARCTION TAKING INTO ACCOUNT AGE

T.R. Nasibullin*, V.V. Erdman Y.R. Timasheva, I.A. Tuktarova

Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Research Center, Russian Academy of Sciences,
71 Prospekt Oktyabrya, Ufa, 450054 Russia, *Email: nasibullintr@yandex.ru

Resume

Myocardial infarction (MI) is a multifactorial polygenic disease. It develops because of the complex interaction between many environmental and genetic factors. In this investigation, we have studied associations of MI and rs1042034 (gene *APOB*), rs4420638 (gene *APOC1*) rs2070424 (gene *SOD1*) и rs662 (ген *PON1*) in an ethnically homogeneous group. The material for analysis was DNA samples of patients (365 men) with onset of MI at the age of 30 to 60 years and 292 essentially healthy men of the control group. The study revealed markers of increased risk of MI: *SOD1**A/A, for men under 46 years of age ($P=0.029$, $OR=1.96$), *APOC1**A/G ($P=0.03$, $OR=2.01$), for men over 48 years of age, and *APOB**C/C ($P=0.031$, $OR=1.8$).

Key words: genetic polymorphism, myocardial infarction, lipoproteides, oxidative stress

Citation: Nasibullin T.R., Erdman V.V., Timasheva Y.R., Tuktarova I.A. Analysis of polymorphic DNA markers as potential predictors of myocardial infarction taking into account age. *Biomics*. V.12(4). P. 455-459. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-37 (In Russian)

© The Authors

Введение

Несмотря на значительные успехи в профилактике и лечении сердечно-сосудистых заболеваний, инфаркт миокарда (ИМ) по-прежнему занимает одно из первых мест среди причин смерти во многих развитых странах мира. Дальнейшее повышение эффективности ранней профилактики этой патологии связывают с выявлением генетических маркеров предрасположенности к заболеванию.

Согласно современным представлениям об этиологии и патогенезе, предрасположенность к ИМ формируется в результате сложного взаимодействия внешнесредовых факторов (курение, употребление алкоголя, особенности питания и т.д.) и факторов внутренней среды (пол, возраст, генетические факторы). В связи с этим анализ вклада каких-либо факторов в развитие предрасположенности к заболеванию предполагает тщательную стратификацию исследуемой выборки с учётом сопутствующих факторов.

ИМ в подавляющем большинстве случаев является полигенным. Поэтому одним из подходов к выбору маркеров для исследования наследственной предрасположенности является отбор полиморфных ДНК-локусов, расположенных в области генов, которые контролируют синтез молекул, прямо и или косвенно задействованных в патогенезе заболевания (ген кандидатный подход). Наиболее частой причиной ИМ является атеросклеротическое поражение коронарных сосудов, пусковым фактором которого является повреждение эндотелия сосудистой стенки модифицированными липопротеидами [1].

Цель настоящего исследования – анализ ассоциаций полиморфных маркеров rs1042034 (ген *APOB*), rs4420638 (ген *APOC1*) rs2070424 (ген *SOD1*) и rs662 (ген *PON1*) риском развития ИМ с учётом возраста.

Материалы и методы

Материалом для исследования служили образцы ДНК неродственных между собой больных, перенёсших крупноочаговый ИМ в возрасте от 30 до 60 лет ($N=365$, средний возраст 46.53 ± 6.58). Все больные находились на лечении в Республиканском кардиологическом диспансере г. Уфы. Диагноз ИМ

устанавливался на основании критериев АНА/ESC 2012 г. с помощью современных инструментальных и биохимических методов, включая ЭКГ в 12 отведениях, эхокардиографию, рентгенографию органов грудной клетки, общий и биохимический анализ крови, определение маркеров некроза миокарда и показателей липидного спектра. Из исследования исключались больные с эндокринной патологией, другими сопутствующими тяжёлыми хроническими заболеваниями. Контрольную группу составили неродственные между собой лица в возрасте от 30 до 62 лет ($N=292$, средний возраст 44.1 ± 7.92) без клинических признаков сердечно-сосудистой патологии. Все участники исследования были мужчинами, русскими по этнической принадлежности. Со всех было получено информированное согласие на проведение исследования.

ДНК выделяли методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование по полиморфным маркерам проводили с помощью аллельспецифичной ПЦР. Разделение полученных ампликонов проводили с помощью электрофореза в 2% агарозном геле.

Для сравнения групп по частотам генотипов и аллелей использовался точный двухсторонний тест Фишера. Анализ соответствия наблюдаемых частот генотипов теоретически ожидаемому равновесию Харди–Вайнберга проводился в программе Arlequin 3.0 с использованием точного теста. Исследование возрастных особенностей распределений частот генотипов проводился с помощью алгоритма CHAID реализованного в пакете программ SPSS v. 22.

Результаты и обсуждение

Распределения частот генотипов по изученным полиморфным маркерам в контрольной группе и группе больных представлены в таблице 1. В контрольной группе все полученные спектры частот соответствовали теоретически ожидаемому распределению Харди–Вайнберга. Среди больных, в отличие от контрольной группы, существенно повышена частота генотипа *APOB**C/C ($P=0.031$ OR=1.8 95%CI 1.06–3.05) и снижена *APOC1**A/A ($P=0.034$ OR=0.69 95% 0.49–0.97).

Таблица 1

Результаты анализа ассоциаций полиморфных ДНК-маркеров с риском инфаркта миокарда
Table 1 - Results of analysis of associations of polymorphic DNA markers with the risk of myocardial infarction

Генотип Genotype	Контроль / Control		Больные / Patients		P
	n	Частота / Frequency (95%CI), %	n	Частота / Frequency (95%CI), %	
rs1042034 (ген / gene APOB)					
*T/T	173	59.66 (53.76 - 65.35)	201	52.76 (47.61 - 57.86)	0.084
*T/C	95	32.76 (27.39 - 38.49)	131	34.38 (29.62 - 39.39)	0.68
*C/C	22	7.59 (4.82 - 11.26)	49	12.86 (9.67 - 16.64)	0.031
rs4420638 (ген / gene APOC1)					
*A/A	214	73.79 (68.33 - 78.76)	251	66.05 (61.05 - 70.8)	0.034
*A/G	71	24.48 (19.64 - 29.85)	117	30.79 (26.18 - 35.7)	0.083
*G/G	5	1.72 (0.56 - 3.98)	12	3.16 (1.64 - 5.45)	0.323
rs2070424 (ген / gene SOD1)					
*A/A	238	81.51 (76.57 - 85.79)	312	85.48 (81.44 - 88.93)	0.202
*A/G	54	18.49 (14.21 - 23.43)	53	14.52 (11.07 - 18.56)	0.202
rs662 (ген / gene PON1)					
*A/A	182	62.98 (57.13 - 68.56)	208	56.52 (51.29 - 61.65)	0.109
*A/G	91	31.49 (26.17 - 37.19)	138	37.5 (32.54 - 42.67)	0.117
*G/G	16	5.54 (3.2 - 8.84)	22	5.98 (3.78 - 8.91)	0.867

Исследование распределений частот генотипов с учётом возраста показало, что в контрольной группе для полиморфного маркера rs4420638 (ген *APOC1*) наблюдаются существенные различия для лиц в возрасте до 48 лет и лиц более старшего возраста ($\chi^2=8.029$ $P=0.018$). Также, выявлены статистически значимые различия по распределению частот генотипов полиморфного маркера rs2070424 (ген *SOD1*) в контрольной группе для мужчин до 46 лет и мужчин в возрасте 46 лет и старше ($\chi^2=5.866$ $P=0.015$).

Анализ ассоциаций полиморфных маркеров rs4420638, rs2070424 и ИМ с учётом выявленных особенностей (табл.2) показал, что для мужчин в возрасте до 46 лет генотип *SOD1**A/A связан с повышенным риском ИМ (OR=1.96 95%CI 1.08–3.55), а генотип *SOD1**A/G с пониженным риском (OR=0.51 95%CI 0.28–0.92). Также, для мужчин в возрасте 48 лет и старше с повышенным риском ИМ ассоциирован генотип *APOC1**A/G (OR=2.01 95%CI 1.09–3.72), с пониженным риском (OR=0.54 95%CI 0.3–0.96).

Таблица 2

Результаты анализа ассоциаций полиморфных ДНК-маркеров с риском инфаркта миокарда с учётом возраста
Table 2 - Results of the analysis of associations of polymorphic DNA markers with the risk of myocardial infarction, taking into account age

Генотип Genotype	Контроль / Control		Больные / Patients		P	Контроль / Control		Больные / Patients		P
	n	Частота, % Frequency, %	n	Частота, % Frequency, %		n	Частота, % Frequency, %	n	Частота, % Frequency, %	
rs4420638 (ген <i>APOC1</i>)										
До 48 лет / Up to 48 years old						48 лет и старше / 48 years and older				
*A/A	138	71.5	134	66.01	0.278	76	78.35	117	66.1	0.038
*A/G	54	27.98	64	31.53	0.444	17	17.53	53	29.94	0.03
*G/G	1	0.52	5	2.46	0.216	4	4.12	7	3.95	1
rs2070424 (ген <i>SOD1</i>)										
До 46 лет / Up to 48 years old						46 лет и старше / 48 years and older				
*A/A	125	76.69	129	86.58	0.029	113	87.6	183	84.72	0.525
*A/G	38	23.31	20	13.42	0.029	16	12.4	33	15.28	0.525

Основной целью настоящего исследования было выявление маркеров повышенного риска ИМ. Были изучены маркеры, расположенные в областях генов, контролирующих синтез белков липидного обмена и ферментов окислительного стресса.

Полиморфный маркер rs1042034 локализован во 29 экзоне гена *APOB*. Согласно результатам полногеномных исследований, аллель *С ассоциирован со снижением уровня триглицеридов, повышением липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), снижением липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) в европейских популяциях [2, 3]. Кроме того по данным [4] для носителей аллеля *С характерны более высокие показатели окисленных ЛПНП, которые являются атерогенными факторами.

По результатам работ [2, 5, 6] аллель *APOC1*G* маркера rs4420638 связан с пониженным уровнем С-реактивного белка, ЛПВП, повышенным уровнем ЛПНП в европейских популяциях, а также повышенным риском ишемической болезни сердца для русских [7].

Супероксиддисмутаза играет одну из основных ролей в антиоксидантной защите организма, в том числе препятствует формированию окисленных липопротеидов. В исследовании [8] продемонстрирована ассоциация редкого аллеля *SOD1*G* с повышенным уровнем экспрессии гена, что согласуется с результатами нашего анализа.

Таким образом, полученные нами результаты показывают, что маркерами повышенного риска ИМ являются генотип *SOD1*A/A*, для мужчин до 46 лет, (OR=1.96), *APOC1*A/G* (OR=2.01), для мужчин старше 48 лет, и *APOB*C/C* (OR=1.8).

Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке РФФИ и АНА в рамках научного проекта № 19-54-40007

Литература

1. Аронов Д. М., Лупанов В. П. Некоторые аспекты патогенеза атеросклероза // Атеросклероз и дислипидемии. 2011. №. 1. С. 48-56.
2. Teslovich T. M., Musunur K., Smith A. V. et al. Biological, clinical and population relevance of 95 loci for blood lipids // *Nature*. 2010. V. 466. №. 7307. P. 707-713 DOI: 10.1038/nature09270
3. Hoffmann T. J., Theusch E., Haldar T. et al. A large electronic-health-record-based genome-wide study of serum lipids // *Nature Genetics*. – 2018. V. 50. №. 3. P. 401-413. DOI: 10.1038/s41588-018-0064-5
4. Хлебус Э. Ю., Мешков А. Н., Ланкин В.З. и др. Показатели липидного спектра и генетические маркеры, ассоциированные с уровнем окислительно модифицированных

липопротеидов низкой плотности // Российский кардиологический журнал. 2017. №. 10. С. 49-54. DOI: 10.15829/1560-4071-2017-10-49-54

5. Elliott P., Chambers J. C., Zhang W. et al. Genetic loci associated with C-reactive protein levels and risk of coronary heart disease // *Jama*. 2009. V. 302. №. 1. P. 37-48. DOI:10.1001/jama.2009.954

6. Waterworth D. M., Ricketts S. L., Song K. et al. Genetic variants influencing circulating lipid levels and risk of coronary artery disease // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2010. V.30(11). P. 2264-2276. DOI: 10.1161/ATVBAHA.109.201020

7. Чурилин М. И. Кононов С. И., Лунева Ю.В. и др. Полиморфные варианты гена аполипопротеина Е: связь с риском развития ишемической болезни сердца и эффективностью гиполипидемической терапии розувастатином // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2020. Т. 19. №. 1. С 17-23.

8. Kase B.A., Northrup H., Morrison A.C. et al. Association of copper - zinc superoxide dismutase (SOD1) and manganese superoxide dismutase (SOD2) genes with nonsyndromic myelomeningocele // *Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular Teratology*. 2012. V. 94. №. 10. P. 762-769. DOI: 10.1002/bdra.23065

References

1. Aronov D. M., Lupanov V. P. Nekotorye aspekty patogeneza ateroskleroza. *Ateroskleroz i dislipidemii*. 2011. №. 1. С. 48-56. [Some aspects of the pathogenesis of atherosclerosis] (In Russian)
2. Teslovich T. M., Musunur K., Smith A. V. et al. Biological, clinical and population relevance of 95 loci for blood lipids. *Nature*. 2010. V. 466(7307). P. 707-713 DOI: 10.1038/nature09270
3. Hoffmann T. J., Theusch E., Haldar T. et al. A large electronic-health-record-based genome-wide study of serum lipids. *Nature Genetics*. 2018. V. 50(3). P. 401-413. DOI: 10.1038/s41588-018-0064-5
4. Khlebus J.J., Meshkov A.N., Lankin V.Z. et al. Pokazатели Lipidnogo spektra i geneticheskie markery, associirovannye s urovnem okislitel'no modifizirovannykh lipoproteidov nizkoj plotnosti. *Rossiiskij kardiologicheskij zhurnal*. 2017. №. 10. S. 49-54. DOI:10.15829/1560-4071-2017-10-49-54 [Lipid spectrum parameters and genetic markers associated with the level of oxidatively modified low-density lipoproteins] (In Russian)
5. Elliott P., Chambers J. C., Zhang W. et al. Genetic loci associated with C-reactive protein levels and risk

of coronary heart disease. *Jama*. 2009. V.302(1). P. 37-48. DOI: 10.1001/jama.2009.954

6. Waterworth D. M., Ricketts S. L., Song K. et al. Genetic variants influencing circulating lipid levels and risk of coronary artery disease. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2010. T. 30(11). C. 2264-2276. DOI: 10.1161/ATVBAHA.109.201020

7. Churilin M. I. Kononov S. I., Luneva Ju. V.i dr. Polimorfnye varianty gena apolipoproteina E: svjaz' s riskom razvitija ishemicheskoy bolezni serdca i jeffektivnost'ju gipolipidemicheskoy terapii rozuvastatinom. *Kardiovaskuljarnaja terapija i profilaktika*. 2020. T. 19. №. 1. S 17-23.

[Polymorphic variants of the apolipoprotein E gene: association with the risk of coronary heart disease and the effectiveness of lipid-lowering therapy with rosuvastatin] (In Russian)

8. Kase B.A., Northrup H., Morrison A.C. et al. Association of copper - zinc superoxide dismutase (SOD1) and manganese superoxide dismutase (SOD2) genes with nonsyndromic myelomeningocele. *Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular Teratology*. 2012. V. 94(10). P. 762-769. DOI: 10.1002/bdra.23065