

РИСК ВОЗНИКНОВЕНИЯ ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ И ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА И НЕКОТОРЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ У НОСИТЕЛЕЙ РАЗНЫХ ГЕНОТИПОВ ПО ПОЛИМОРФНЫМ МАРКЕРАМ ГЕНА *CLOCK* (ЖИТЕЛЕЙ РЕСПУБЛИКИ КАРЕЛИЯ)¹

¹И. В. Курбатова, ¹Л. В. Топчиева, ¹С. Н. Коломейчук, ²В. А. Корнева, ³К. С. Зименкова, ¹Н. Н. Немова

¹Институт биологии Карельского научного центра РАН, г. Петрозаводск, Россия

²Петрозаводский государственный университет, г. Петрозаводск, Россия

³Больница скорой медицинской помощи, г. Петрозаводск, Россия

© Коллектив авторов, 2012 г.

Введение. Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) относятся к полигенным заболеваниям, этиология и патогенез которых определяются как эндогенными, так и средовыми факторами. Влияние последних на физиолого-биохимические процессы организма в норме и патологии может осуществляться через нейрогуморальную регуляцию, активизацию или подавление иммунной системы, изменение физиологических, в том числе и циркадных, ритмов. Основная часть этих процессов, особенно циркадные ритмы, генетически запрограммированы. В последнее время появляются сведения о том, что некоторые аллели генов циркадных ритмов могут вносить вклад в формирование полигенных заболеваний, в том числе и ССЗ. Однако биохимические механизмы, посредством которых они влияют на развитие этих патологий, практически не изучены. Известно, что циркадным колебаниям подвержены многие биохимические процессы клетки. Следовательно, можно предположить, что циркадные гены могут вносить вклад в развитие ССЗ посредством влияния на биохимические показатели, например, липидный спектр, содержание в крови гормонов, регуляторов фибринолитического каскада. Ранее мы показали, что у русских жителей Республики Карелия существуют достоверные различия в распределении частот генотипов гена *CLOCK* в группах больных эссенциальной артериальной гипертензией (ЭАГ) и ишемической болезнью сердца (ИБС) и контрольной группе по полиморфным маркерам 3111ТС, 862ТС и 257ТГ. У мужчин, имеющих генотип СС по маркерам 3111ТС, 862ТС и генотип GG по маркеру 257ТГ гена *CLOCK*, достоверно повышен риск возникновения ЭАГ и ИБС. В группе женщин достоверное повышение риска развития ЭАГ и ИБС выявлено у носителей генотипа СС по маркеру 862ТС и генотипа GG по маркеру 257ТГ [1].

Цель настоящего исследования: изучение липидного спектра сыворотки крови, содержания в плазме крови мелатонина, адренокортикотропного гормона (АКТГ), ингибитора активатора плазминогена 1-го типа (РАИ-1) у носителей разных генотипов по полиморфным маркерам основного гена циркадных ритмов — транскрипционного фактора *CLOCK*.

Для определения липидного спектра использованы 244 образца крови больных ЭАГ, 215 — больных ИБС, 126 — доноров контрольной группы; для иммуноферментного анализа (ИФА) использованы 40 образцов крови больных ЭАГ, 40 — доноров контрольной группы (с приблизительно равным количеством мужчин и женщин в каждой группе). Диагнозы ЭАГ и ИБС устанавливали в соответствии и с учетом клинических рекомендаций ВНОК. Средний возраст пациентов с диагнозом ЭАГ составлял $57,9 \pm 2,3$ года, с диагнозом ИБС — $60,3 \pm 5,7$ года. Средний возраст людей из контрольной группы составлял $51,6 \pm 3,9$ года. Липидный спектр крови определяли с помощью биохимического автоматического анализатора «COBAS INTEGRA 400 PLUS» (Roche Diagnostics GmbH, ФРГ-Австрия-США). Методы определения: общего холестерина (ОХС), триглицеридов (ТГ) — энзиматический калориметрический метод; холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛПВП) — энзиматический калориметрический метод без предварительной преципитации, липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП) — расчетным способом, по формуле Фридвальда. Методом твердофазного конкурентного иммуноферментного анализа определяли концентрацию в плазме крови мелатонина (IBL International GmbH, Германия), АКТГ (Biomerica, США), РАИ-1 (Technoclone GmbH, Австрия). Статистическую обработку данных проводили в программе Statgraphics 2.1 и с помощью пакета программ MS

¹ Работа выполнена при финансовой поддержке программы Президиума РАН «Фундаментальные науки — медицине», гранта Президента РФ «Ведущие научные школы РАН» НШ-3731.2010.4, гранта Правительства РФ (Постановление 220), ГК № 11.G34.31.0052 (вед. ученый А. Н. Полторак).

Excel. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Для сравнения биохимических показателей крови у носителей разных генотипов использовали непараметрический критерий Вилкоксона—Манна—Уитни. Для количественной оценки связи между генотипом и биохимическим показателем применяли метод ранговой корреляции Спирмена. Биохимические показатели представлены в виде: среднее значение $\pm$ стандартная ошибка.

Показано, что содержание липидов в сыворотке крови контрольной группы людей у носителей разных генотипов по маркеру 3111ТС гена *CLOCK* достоверно не различалось. В группе женщин, больных ИБС, носители генотипа ТТ имеют более низкое содержание ОХС в сыворотке крови ($6,01 \pm 0,30$ мМ/л) по сравнению с носителями генотипа ТС ($6,60 \pm 0,29$ мМ/л); гомозиготы по аллелю Т имеют более высокое содержание ХС-ЛПВП в сыворотке ($1,51 \pm 0,06$ мМ/л) по сравнению с гомозиготами по аллелю С ($1,20 \pm 0,11$ мМ/л); носители генотипа ТТ имеют достоверно более низкое содержание ХС-ЛПНП ($3,75 \pm 0,26$ мМ/л) по сравнению с носителями генотипов ТС ($4,36 \pm 0,24$ мМ/л) и СС ($4,73 \pm 0,53$ мМ/л).

Различия в содержании липидов у носителей разных генотипов по маркеру 862ТС обнаружены в группе женщин, больных ЭАГ: носители генотипа ТТ имеют более низкое содержание ОХС, ХС-ЛПНП и ТГ в сыворотке крови ($5,98 \pm 0,54$ мМ/л, $4,01 \pm 0,44$ мМ/л и $1,36 \pm 0,11$ мМ/л соответственно) по сравнению с женщинами, имеющими генотип ТС ($7,62 \pm 0,46$ мМ/л, $5,08 \pm 0,39$ мМ/л и $1,84 \pm 0,15$ мМ/л) и СС ($7,40 \pm 0,56$ мМ/л, $5,10 \pm 0,48$ мМ/л и $2,10 \pm 0,33$ мМ/л). В группе женщин, больных ИБС, носители генотипа ТТ по маркеру 862ТС имеют более низкий уровень ТГ ($1,16 \pm 0,07$ мМ/л) по сравнению с носителями генотипов ТС ($1,57 \pm 0,11$ мМ/л) и СС ($1,79 \pm 0,17$ мМ/л). В группе женщин, больных ЭАГ, выявлена корреляция между генотипом по маркеру 862ТС и содержанием в сыворотке крови ОХС ($r_s = 0,28$, $p = 0,033$), ХС-ЛПНП ($r_s = 0,28$, $p = 0,034$) и ТГ ($r_s = 0,27$, $p = 0,043$). Содержание этих липидов минимальное у гомозигот по аллелю Т, промежуточное у гетерозигот и максимальное — у гомозигот по С. В группе женщин, больных ИБС, выявлена аналогичная корреляция между генотипом по маркеру 862ТС и содержанием в сыворотке крови ОХС ($r_s = 0,33$, $p = 0,036$) и ТГ ($r_s = 0,39$, $p = 0,013$).

Различия в содержании липидов у носителей разных генотипов по маркеру 257ТГ обнаружены в группе мужчин, больных ЭАГ: носители генотипа

ТТ имеют более высокий уровень ХС-ЛПВП и ($1,23 \pm 0,09$ мМ/л) по сравнению с гомозиготами по аллелю Г ($1,00 \pm 0,05$ мМ/л). В группе мужчин, больных ИБС, носители генотипа ТТ по маркеру 257ТГ имеют более низкий уровень ХС-ЛПНП ($3,00 \pm 0,27$ мМ/л) по сравнению с носителями генотипов ТГ ($4,23 \pm 0,46$ мМ/л) и GG ($3,90 \pm 0,43$ мМ/л).

Различия в содержании липидов у носителей разных генотипов по маркеру 2121GA обнаружены в контрольной группе мужчин: носители генотипа GG имеют более высокий уровень ТГ ($2,02 \pm 0,16$ мМ/л) по сравнению с носителями генотипов GA ($1,60 \pm 0,11$ мМ/л) и AA ($1,58 \pm 0,14$ мМ/л). Уровень ТГ также различается у носителей разных генотипов в группах мужчин, больных ЭАГ и ИБС: гомозиготы по аллелю Г имеют более высокий уровень ТГ ($2,48 \pm 0,17$ мМ/л и $2,68 \pm 0,23$ мМ/л) по сравнению с носителями генотипов GA ($1,65 \pm 0,16$ мМ/л и $1,71 \pm 0,18$ мМ/л) и AA ($1,73 \pm 0,19$ мМ/л и $1,89 \pm 0,19$ мМ/л).

Показано, что концентрация PAI-1 в плазме крови людей контрольной группы составила $37,62 \pm 5,80$ нг/мл, АКТГ — $24,94 \pm 1,55$ пг/мл, мелатонина — $6,95 \pm 0,23$ пг/мл. У лиц, страдающих ЭАГ, по сравнению с контрольной группой, концентрация PAI-1 ($65,03 \pm 3,49$ нг/мл) и АКТГ ($36,46 \pm 2,39$ пг/мл) достоверно выше, а мелатонина ($4,10 \pm 0,19$) — достоверно ниже. Все полученные значения близки или соответствуют норме, указанной в протоколах наборов для ИФА. При анализе содержания PAI-1 у носителей разных генотипов по изучаемым маркерам гена *CLOCK* в контрольной группе независимо от пола, достоверные различия обнаружены в случае полиморфизмов 3111ТС и 257ТГ. У гомозигот по аллелю С маркера 3111ТС уровень PAI-1 выше ($45,13 \pm 2,71$ нг/мл), чем у гомозигот по аллелю Т ($33,24 \pm 3,56$ нг/мл). У носителей генотипа GG по маркеру 257ТГ содержание PAI-1 в плазме крови достоверно выше ($47,89 \pm 1,62$ нг/мл), чем у носителей генотипа ТТ ($33,20 \pm 3,11$ нг/мл). В группе больных ЭАГ достоверные различия содержания PAI-1 между носителями разных генотипов обнаружены по маркеру 3111ТС, причем эти различия характерны для женщин, но не для мужчин. У женщин-носителей генотипа СС по маркеру 3111ТС содержание PAI-1 составило $92,12 \pm 13,04$ нг/мл, у гетерозигот — $64,66 \pm 4,72$ нг/мл, у гомозигот по аллелю Т — $49,43 \pm 4,10$ нг/мл.

При анализе содержания АКТГ в плазме крови у носителей разных генотипов по изучаемым маркерам гена *CLOCK* в контрольной группе достоверных

различий не обнаружено. В группе больных ЭАГ у мужчин и женщин — носителей генотипа СС по маркеру 3111ТС содержание АКТГ достоверно выше, чем у носителей других генотипов по данному маркеру. Так, у мужчин, имеющих генотип СС, концентрация АКТГ составила $47,63 \pm 2,56$ пг/мл, генотип ТС — $31,82 \pm 3,27$ пг/мл, ТТ — $30,53 \pm 4,34$ пг/мл.

Содержание мелатонина в плазме крови у мужчин и женщин контрольной группы различалось у носителей разных генотипов по маркеру 3111ТС: максимальное содержание гормона показано у носителей генотипа ТТ, минимальное — у носителей генотипа СС. Так, у женщин контрольной группы — носителей генотипа ТТ концентрация мелатонина составила $7,80 \pm 0,66$ пг/мл, ТС — $6,74 \pm 0,21$ пг/мл, ТТ — $5,34 \pm 0,64$ пг/мл. Аналогичные результаты обнаружены и для группы мужчин и женщин, страдающих ЭАГ. У женщин, больных ЭАГ, обнаружены различия содержания гормона по маркеру 862ТС: у носителей генотипа СС по данному маркеру содержание

мелатонина составило $3,17 \pm 0,06$ пг/мл, у гетерозигот — $4,40 \pm 0,41$ пг/мл, у гомозигот по аллелю Т — $4,52 \pm 0,36$ пг/мл.

Таким образом, в настоящей работе значимые различия в содержании определенных фракций липидов в сыворотке крови у носителей разных генотипов по полиморфным маркерам гена *CLOCK* обнаружены у женщин, больных ИБС, по маркерам 3111ТС и 862ТС, у женщин, больных ЭАГ, — по маркеру 862ТС, у мужчин, больных ИБС, — по маркерам 257TG и 2121GA, у мужчин, больных ЭАГ, — по маркеру 2121GA. В контрольной группе обнаружены достоверные различия содержания PAI-1 для полиморфных вариантов 3111ТС и 257TG; мелатонина — только для 3111ТС. Показано, что независимо от пола, у больных ЭАГ имеющих разные генотипы по маркеру 3111ТС наблюдаются достоверные различия в содержании АКТГ, мелатонина. В случае PAI-1 эти различия обнаружены только для женщин. У женщин, больных ЭАГ, обнаружены также различия содержания мелатонина по маркеру 862ТС.

Литература

1. Курбатова И. В., Топчиева Л. В., Коломейчук С. Н. и др. Полиморфные маркеры гена транскрипционного фактора *CLOCK* и риск возникновения эссенциальной артериальной гипертензии и ишемической болезни сердца у жителей Республики Карелия // Сб. тезисов всеросс. науч.-практ. конф. «Актуальные проблемы лабораторной диагностики и биотехнологии». — Кемерово, 2012. — С. 51–52.

Контакт: irina7m@yandex.ru

ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ, ВЛИЯЮЩИХ НА ТЯЖЕСТЬ ТЕЧЕНИЯ СПИНАЛЬНОЙ МЫШЕЧНОЙ АТРОФИИ

¹М. А. Маретина, ¹Г. Ю. Железнякова, ²А. А. Егорова, ²А. В. Киселев

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

²НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта, Санкт-Петербург, Россия

© Коллектив авторов, 2012 г.

Спинальная мышечная атрофия (СМА) — ауто-сомно-рецессивное нейродегенеративное заболевание, которое возникает из-за потери функции мотонейронов передних рогов спинного мозга вследствие мутаций в гене *SMN1* (survival motor neuron gene — «ген выживания моторных нейронов») (Lefebvre et al., 1995). Частота встречаемости СМА 1: 6000–10 000 человек, частота носительства 1: 40–50 (Feldkotter et al., 2002).

В зависимости от тяжести и времени появления симптомов различают 4 типа СМА (Zerres et al., 1997). Самой тяжелой формой является I тип — болезнь Верднига—Гоффмана, которая развивается

в младенчестве; самая легкая — IV форма — возникает во взрослом возрасте и встречается редко.

Ген *SMN1* расположен на 5-й хромосоме в теломерной области в локусе 5q13 и имеет высокотождественную копию в центромерной части — ген *SMN2* (Lefebvre et al., 1995). Ген *SMN1* экспрессирует полноразмерный транскрипт, с которого считывается функционально активный белок, участвующий в биогенезе мРНК, а также ядерно-цитоплазматическом, аксональном и дендритном транспорте (Wirth et al., 2006). В 95% случаев к развитию СМА приводит гомозиготная делеция гена *SMN1*, в остальных случаях причиной заболевания являются точечные