

УДК 617.58–007.272:575.191

## **ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ И НАСЛЕДСТВЕННЫХ ТРОМБОФИЛИЙ, У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКИМИ ОККЛЮЗИОННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ**

**В. В. Рыбачков, доктор медицинских наук,  
Е. Н. Четверикова\***

ГБОУ ВПО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, 150000, Россия, г. Ярославль, ул. Революционная, д. 5

**РЕЗЮМЕ** Целью исследования явилась оценка генетических маркеров при окклюзионных заболеваниях артерий нижних конечностей. Обследовано 104 пациента с различными стадиями хронической ишемии нижних конечностей, методом полимеразной цепной реакции определены 18 генов. Анализ полученных данных выявил связь исследуемых генов с развитием окклюзионных заболеваний сосудов нижних конечностей. Наиболее значимые из них являются гены синтазы окиси азота 3 NOS3: 786 и NOS: 894.

**Ключевые слова:** атеросклероз, генетический полиморфизм, гомозигота, гетерозигота.

\* Ответственный за переписку (corresponding author): [chirurg87@mail.ru](mailto:chirurg87@mail.ru).

Окклюзионные атеросклеротические поражения брюшной аорты и артерий нижних конечностей являются наиболее частой и тяжелой патологией в клинической ангиологии и сосудистой хирургии. В последние годы в России отмечается значительный рост заболеваемости облитерирующим атеросклерозом. Частота хронической ишемии нижних конечностей, по разным оценкам, достигает 7,5% в мужской популяции в целом и 35% в старшей возрастной группе. Естественное течение окклюзионных поражений аорты и артерий нижних конечностей часто (до 30–50%) приводит к инвалидизации больных.

Вопросы хирургической тактики и техники реконструктивных вмешательств на магистральных сосудах достаточно полно разработаны, но результаты лечения не всегда отвечают принятым мировым стандартам. Частота ампутаций снижается незначительно, а ишемия конечностей в отдельных случаях прогрессирует, несмотря на восстановление магистрального кровотока. Сло-

жившаяся ситуация связана с факторами риска и со сложностью патогенеза заболевания. Можно предположить, что генотип также оказывает влияние на развитие ишемии и определяет эффективность лечения, однако исследования по данной проблеме практически отсутствуют.

Цель работы – оценить роль генетического полиморфизма в развитии окклюзионных заболеваний артерий нижних конечностей.

### **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ**

В период с 2012 по 2013 гг. в клиниках г. Ярославля обследовано 104 пациента с хроническими окклюзионными заболеваниями артерий нижних конечностей (69 мужчин (66%), 35 женщин (34%)). Средний возраст мужчин составил 63 года, женщин – 67 лет. По классификации Фонтейна – Покровского I стадия заболевания была диагностирована у 18 (17,30%) пациентов, IIА стадия – у 32 (30,79%), IIБ стадия – у 27 (25,96%), III ста-

V. V. Rybachkov, E. N. Chetverikova

**GENE POLYMORPHISM ASSOCIATED WITH RISK FOR ARTERIAL HYPERTENSION AND HEREDITARY THROMBOPHILIA DEVELOPMENT IN PATIENTS WITH CHRONIC OCCLUSIVE DISEASES OF LOWER LIMBS**

**ABSTRACT** The estimation of genetic markers in occlusive diseases of lower limbs' arteries was made in the study. 104 patients with various stages of lower limbs' chronic ischemia were examined; 18 genes were determined by polymerase chain reaction technique. The analysis of the obtained data allowed to reveal the connection of the studied genes with the onset of occlusive diseases in lower limbs. The genes of nitric oxide synthase 3 NOS3: 786 and NOS: 894 were proved to be the most significant among them.

**Key words:** atherosclerosis, genetic polymorphism, homozygote, heterozygote.

дия – у 10 (9,61%), IV стадия – у 17 (16,34%). Диагноз и стадия ишемии подтверждались данными ультразвуковой доплерографии (УЗДГ) артерий нижних конечностей с определением лодыжечно-плечевого индекса (ЛПИ). Длительность заболевания составила 1–20 лет. Ампутация выполнена 15 (14,42%) пациентам, из них одностороннюю ампутацию на уровне средней трети бедра перенесли 7 (47%) больных, двустороннюю – 4 (27%); ампутацию на уровне голени – 2 (14%), на уровне стопы и пальцев – 1 (6%). Органосохраняющие операции перенесли 24 (23,08%) пациента, а 65 (62,5%) больных не оперированы. Варианты органосохраняющих операций: аортобифemorальное шунтирование – у 13 (54,17%), бедренно-подколенное шунтирование – у 6 (25%), аутовенозное шунтирование бедренной артерии – у 2 (8,33%), эндартерэктомия – у 2 (8,33%), стентирование – у 1 (4,17%). У 104 пациентов методом полимеразной цепной реакции были определены гены: F5 фактора Лейдена (G1691A), протромбина F2 (G20210A), ингибитора активатора плазминогена PAI-1 675(5G/4G), тромбоцитарного рецептора фибриногена GPIIIA (T1565C), фибриногена FGB-455 G-A, синтазы окиси азота 3 NOS: 894 G>T (Glu298Asp), гликопротеина P MDR1 (T3435C), цитохрома CYP2C9 (Arg144Cys), изофермента цитохрома P-450 CYP2D6 (C100T),

CYP2D6\*4, альфа-аддуктина ADD1: 1378 G>T (Gly460Trp), ангиотензиногена 2 AGT:704 T>C (Met235Thr), ангиотензиногена 1 AGT:521 C>T (Thr174Met), рецептора 1-го типа ангиотензиногена-2 AGTR1:1166 A>C, рецептора 2-го типа ангиотензиногена-2 AGTR2:1675 G>A, альдостеронсинтазы CYP11B2: -344 C>T, бета-3 субъединицы протеина G GNB3: 825 C>T, синтазы окиси азота 3 NOS3:786 T>C.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У 94(90,38%) пациентов выявлен низкофункциональный вариант определяемых генов. Частота полиморфизма генов при окклюзионных заболеваниях представлена в табл. 1.

Выявлен высокий процент низкофункциональных вариантов генов AGT:704, AGTR2: 1675, CYP11B2: -344. Показано, что низкофункциональный вариант полиморфизма – как гомозиготный, так и гетерозиготный – связан с предрасположенностью к развитию артериальной гипертензии и ишемической болезни сердца [1]. Оксид азота известен как сильный эндогенный агент, вызывающий расслабление гладкой мускулатуры в стенках кровеносных сосудов, повышающий проницаемость эндотелия и подавляющий адгезию тромбоцитов к стенке сосуда.

**Таблица 1.** Частота полиморфизма исследуемых генов у пациентов с окклюзионными заболеваниями артерий нижних конечностей

| Гены          | Всего |       | Гомозиготный низкофункциональный вариант |       | Гетерозиготный низкофункциональный вариант |       |
|---------------|-------|-------|--|-------|--|-------|
|               | абс.  | %     | абс.                                     | %     | абс.                                       | %     |
| MDR1:3435     | 11    | 17,46 | 1  | 9,09  | 10   | 90,9  |
| CYP2C9:144    | 19    | 30,16 | 3  | 15,79 | 16   | 84,21 |
| CYP2D6:100    | 25    | 39,62 | –  | –     | 25   | 100   |
| CYP2D6*4      | 20    | 31,75 | –  | –     | 20   | 100   |
| NOS: 894      | 35    | 33,65 | 11                                       | 31,43 | 24   | 68,57 |
| ADD1: 1378    | 9     | 21,95 | –  | –     | 9  | 100   |
| AGT: 704      | 33    | 80,5  | 14                                       | 42,42 | 19   | 57,58 |
| AGT: 521      | 9     | 21,95 | 1  | 11,11 | 8  | 88,88 |
| AGTR1: 1166   | 13    | 31,71 | 1  | 7,69  | 12   | 92,31 |
| AGTR2: 1675   | 54    | 51,92 | 25                                       | 46,30 | 29   | 53,70 |
| CYP11B2: -344 | 32    | 78,05 | 8  | 25    | 24   | 75    |
| GNB3: 825     | 20    | 48,78 | 3  | 15    | 17   | 85    |
| NOS3: -786    | 33    | 80,5  | 20                                       | 60,61 | 13   | 39,39 |
| F5 :1691      | 1     | 10    | –  | –     | 1  | 100   |
| F2:20210      | 1     | 10    | –  | –     | 1  | 100   |
| PAI-1(5G/4G)  | 7     | 70    | 2  | 28,57 | 5  | 71,43 |
| GPIIIA:1565   | 2     | 20    | –  | –     | 2  | 100   |
| FGB:455       | 5     | 50    | –  | –     | 5  | 100   |

Снижение его активности ведет к вазоконстрикции, в результате которой повышается артериальное давление и увеличивается вероятность тромбозов. Генотипы T/C и C/C генов NOS3: -786 и NOS3: 894 ассоциированы со снижением активности NO-синтазы, что предрасполагает к развитию сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений [2].

В связи с широко обсуждаемой в последние годы проблемой роли полового диморфизма в детерминации генетической составляющей сложных количественных признаков и мультифакториальных заболеваний представляется целесообразным изучить влияние полиморфных генов на риск развития облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей отдельно у мужчин и женщин (табл. 2).

Анализ полученных данных показал, что частота низкофункциональных вариантов генов MDR1:3435, AGTR2: 1675, CYP2C9:144, CYP2D6:100, CYP2D6\*4, PAI-1(5g/4g), FGB:455 у мужчин выше, чем у женщин. Соответственно, частота полиморфных генов CYP11B2: -344, GNB3: 825, AGT: 704, ADD1: 1378, NOS3: -786 выше у больных женского пола.

С практической точки зрения представляется важным проведение генетического тестирования в отношении предрасположенности к окклюзионным заболеваниям для своевременного выявления неблагоприятных комбинаций, которые способны инициировать заболевание как в молодом возрасте, так и в пожилом. В связи с этим необходимо оценить связь полиморфизма генов с возрастом клинической манифестации облитерирующих заболеваний артерий нижних конечностей (табл. 3).

Статистически значимых различий между возрастными группами моложе 60 и старше 75 лет не выявлено. Однако исследования показали, что при низкофункциональном варианте практически всех исследуемых генов манифестация заболевания чаще наступает в возрасте 61–74 лет.

## ВЫВОДЫ

Таким образом, из представленных генетических вариантов значимость имеют гены синтазы окиси азота 3 NOS3: 894 и NOS3:786, гомозиготная форма полиморфизма которых прогностически наиболее неблагоприятна в развитии сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений. Гене-

**Таблица 2.** Состояние генетического полиморфизма у мужчин и женщин с окклюзионными заболеваниями артерий нижних конечностей

| Гены          | Мужчины |       |  |       |  |       | Женщины |       |  |       |  |       |
|---------------|---------|-------|--|-------|--|-------|---------|-------|--|-------|--|-------|
|               | Всего   |       | Гомозиготный низкофункциональный вариант |       | Гетерозиготный низкофункциональный вариант |       | Всего   |       | Гомозиготный низкофункциональный вариант |       | Гетерозиготный низкофункциональный вариант |       |
|               | абс.    | %     | абс.                                     | %     | абс.                                       | %     | абс.    | %     | абс.                                     | %     | абс.                                       | %     |
| MDR1:3435     | 9       | 81,82 | 1  | 11,11 | 8  | 88,88 | 2       | 18,18 | –  | –     | 2  | 100   |
| CYP2C9:144    | 15      | 78,95 | 2  | 13,33 | 13   | 86,67 | 4       | 21,05 | 2  | 50    | 2  | 50    |
| CYP2D6:100    | 22      | 88    | –  | –     | 22   | 100   | 3       | 12    | –  | –     | 3  | 100   |
| CYP2D6*4      | 15      | 75    | –  | –     | 15   | 100   | 5       | 25    | –  | –     | 3  | 100   |
| NOS: 894      | 19      | 54,29 | 8  | 42,11 | 11   | 57,89 | 16      | 45,71 | 4  | 25    | 12   | 75    |
| ADD1: 1378    | 3       | 33,33 | –  | –     | 3  | 100   | 6       | 66,67 | –  | –     | 6  | 100   |
| AGT: 704      | 11      | 33,33 | 5  | 45,46 | 6  | 54,54 | 22      | 66,67 | 9  | 40,91 | 13   | 59,09 |
| AGT: 521      | 4       | 44,44 | –  | –     | 4  | 100   | 5       | 55,56 | 1  | 20    | 4  | 80    |
| AGTR1: 1166   | 4       | 30,77 | –  | –     | 4  | 100   | 9       | 69,23 | 1  | 11,11 | 8  | 88,88 |
| AGTR2: 1675   | 34      | 62,96 | 16                                       | 47,06 | 18   | 52,94 | 20      | 37,04 | 9  | 45    | 11   | 55    |
| CYP11B2: -344 | 10      | 31,25 | 6  | 60    | 4  | 40    | 22      | 68,75 | 2  | 9,09  | 20   | 90,91 |
| GNB3: 825     | 4       | 20    | –  | –     | 4  | 100   | 16      | 80    | 3  | 18,75 | 13   | 81,25 |
| NOS3: -786    | 13      | 39,39 | 8  | 61,54 | 5  | 38,46 | 20      | 60,61 | 12                                       | 60    | 8  | 40    |
| F5 :1691      | 1       | 100   | –  | –     | 1  | 100   | –       | –     | –  | –     | –  | –     |
| F2:20210      | 1       | 100   | –  | –     | 1  | 100   | –       | –     | –  | –     | –  | –     |
| PAI-1(5g/4g)  | 7       | 100   | 2  | 28,57 | 5  | 71,43 | –       | –     | –  | –     | –  | –     |
| GPIIIA:1565   | 2       | 100   | –  | –     | 2  | 100   | –       | –     | –  | –     | –  | –     |
| FGB:455       | 5       | 100   | –  | –     | 5  | 100   | –       | –     | –  | –     | –  | –     |

Таблица 3. Состояние генетического полиморфизма в зависимости от возраста

| Гены          | Моложе 60 лет |       |   |   | Старше 60 лет |       |   |   |
|---------------|---------------|-------|---|---|---------------|-------|---|---|
|               | Всего         |       | Гомозиготный<br>низкофунк-<br>циональный<br>вариант | Гетерозигот-<br>ный низко-<br>функциональ-<br>ный вариант | Всего         |       | Гомозиготный<br>низкофунк-<br>циональный<br>вариант | Гетерозигот-<br>ный низко-<br>функциональ-<br>ный вариант |
|               | абс.          | %     | %   |   | абс.          | %     | %   |   |
| MDR1:3435     | 4             | 36,36 | –   | 100   | 7             | 63,64 | 14,29   | 85,71   |
| CYP2C9:144    | 8             | 42,11 | 12,5  | 87,5  | 11            | 57,89 | 18,18   | 81,82   |
| CYP2D6:100    | 11            | 44    | –   | 100   | 14            | 56    | –   | 100   |
| CYP2D6*4      | 6             | 30    | –   | 100   | 14            | 70    | –   | 100   |
| NOS3: 894     | 9             | 25,72 | 55,56   | 44,44   | 26            | 74,28 | 23,08   | 76,92   |
| ADD1: 1378    | 2             | 22,22 | –   | 100   | 7             | 77,78 | –   | 100   |
| AGT: 704      | 3             | 9,09  | –   | 100   | 30            | 90,91 | 43,33   | 56,67   |
| AGT: 521      | 2             | 22,22 | –   | 100   | 7             | 77,78 | 14,29   | 85,71   |
| AGTR1: 1166   | 1             | 7,69  | –   | 100   | 12            | 92,31 | 8,33  | 91,67   |
| AGTR2: 1675   | 14            | 25,93 | 57,14   | 42,86   | 40            | 74,07 | 42,5  | 57,5  |
| CYP11B2: -344 | 2             | 6,25  | 50  | 50  | 30            | 93,75 | 23,33   | 76,67   |
| GNB3: 825     | 2             | 10    | –   | 100   | 18            | 90    | 22,22   | 77,78   |
| NOS3: -786    | 3             | 9,09  | 53,33   | 66,67   | 30            | 90,91 | 63,33   | 36,67   |
| F5 :G1691A    | –             | –     | –   | –   | 1             | 100   | –   | 100   |
| F2:20210      | 1             | 100   | –   | 100   | –             | –     | –   | –   |
| PAI-1(5g/4g)  | 2             | 28,57 | –   | 100   | 5             | 71,43 | 40  | 60  |
| GP11A:1565    | –             | –     | –   | –   | 2             | 100   | –   | 100   |
| FGB:455       | 2             | 40    | –   | 100   | 3             | 60    | –   | 100   |

тический полиморфизм генов AGT:704, AGTR2: 1675, CYP11B2: -344, ассоциированных с развитием ишемической болезни сердца и артери-

альной гипертензии, может оказывать отрицательное влияние на течение облитерирующих заболеваний.

## ЛИТЕРАТУРА

1. The serum angiotensinogen concentration and variants of the angiotensinogen gene in white and black children / L. J. Bloem, A. K. Manatunga, D. A. Tewksbury, J. H. Prat // J. Clin. Invest. – 1995. – Vol. 95. – P. 948–953.
2. Hillerman, R. The glu29-to-asp variant of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with an increased risk for abruptio placentae in pre-eclampsia / R. Hillerman, K. Carelse, G. S. Gebhardt // J. Hum. Genet. – 2005. – Vol. 50. – P. 415–419.