

АННОТАЦИЯ

диссертационной работы Скворцовой Лилии Александровны на тему: «Ассоциация полиморфизмов генов, кодирующих антиоксидантные ферменты, с развитием сердечнососудистых заболеваний у жителей Казахстана» по специальности 6D060700 – «Биология»

Общая характеристика работы. Диссертационная работа посвящена изучению механизмов антиоксидантной защиты при развитии сердечно-сосудистой патологии. В работе представлены данные модельных экспериментов по оценке экспрессии ряда антиоксидантных белков при развитии атеросклероза, а также результаты молекулярно-эпидемиологического «случай-контроль» исследования роли полиморфизмов генов, кодирующих белки антиоксидантной защиты, в формировании наследственной предрасположенности к ишемической болезни сердца в казахстанской популяции.

Актуальность темы исследования. Согласно статистическим данным, сердечнососудистые заболевания, остаются наиболее значимой проблемой здоровья населения в мире. Казахстан не является исключением мировых «сердечнососудистых» тенденций. Эксперты всемирной организации здравоохранения прогнозируют дальнейшее увеличение заболеваемости и смертности от сердечнососудистых заболеваний, преимущественно в развитых и развивающихся странах.

Достижения современной науки и медицины в познании основ сердечнососудистых заболеваний и установление основных «классических» факторов риска, позволило, в значительной степени, уменьшить, и взять под контроль смертность от сердечных патологий во многих развитых странах. Однако, для дальнейшего стремления к снижению этих параметров, необходимо исследование более чувствительных и индивидуальных маркеров сердечнососудистых патологий.

Исследования в области молекулярно-генетической предрасположенности к сердечнососудистым заболеваниям привлекают пристальное внимание и интерес, как медиков, так и ученых во всем мире. Реакция организма на различные факторы риска детерминирована взаимодействием индивидуальных генотипов с действием средовых факторов. Анализ индивидуальных генетических особенностей позволяет выявлять мутации и полиморфизмы ключевых генов патогенеза ССЗ, которые, наряду, с общеизвестными средовыми факторами, уже занимают прочное положение в ряду факторов риска сердечнососудистых патологий.

Для Казахстана наиболее значимой болезнью системы кровообращения является ишемическая болезнь сердца. К 2019 году, эта патология составляла две трети всех патологий системы кровообращения, занимая лидирующие позиции по заболеваемости и смертности. В течение последних десятилетий понимание молекулярно-генетических основ ишемической болезни сердца стремительно развивалось. Методами молекулярной биологии и анализа сцепленного наследования (Genome Wide Association Studies – GWAS),

идентифицировано уже более 600 ассоциированных с ишемической болезнью сердца генов. Это гены, белковые продукты которых могут быть вовлечены в сигнальные пути инициации, течения и прогрессии ишемической болезни сердца: Ras и MAPK сигнальных систем; TNF- α и NF- κ B; активация каскада сигнальных путей воспаления эндотелиальными клетками в ответ на накопление модифицированных липопротеидов; активации, миграции и адгезии лейкоцитов в очаг воспаления; формирования пенистых клеток, и пролиферации гладкомышечных клеток; а также, антиоксидантных систем.

Окислительный стресс и антиоксидантная защита - это два взаимосвязанных процесса, которые характеризуют многие болезненные состояния. Согласно современным представлениям, в патогенезе атеросклероза и сопутствующей ему ишемической болезни сердца, окислительный стресс имеет главенствующее значение. Высокий уровень окислительного стресса и пониженный антиоксидантный статус могут в значительной степени утяжелять течение ишемической болезни сердца. При этом, молекулярно-генетический статус этих двух процессов может по-разному оказывать влияние на ход патогенеза атеросклероза и ишемической болезни сердца. Данный факт имеет принципиальное значение для выявления дополнительных внутренних факторов риска развития ишемической болезни сердца в контексте превентивной медицины. Исследования в этой области неполноценны и весьма противоречивы, так как находятся на пике своего развития. В связи с этим, целью данной работы было, исследовать роль генетических вариаций в генах антиоксидантной защиты в развитии ишемической болезни сердца для Казахстанской популяции, а также, определить динамику экспрессии наиболее важных белков антиоксидантной защиты в сосудистой стенке при атеросклерозе с использованием модельного объекта.

Объект исследования: 10 кроликов (контрольная и экспериментальная группы) породы Chinchilla; когорты условно здоровых людей (341 человек) и пациентов с установленным диагнозом ишемической болезни сердца (360 человек).

Предмет исследования: экспрессия антиоксидантных белков SOD3 и GPX1 в нормальной сосудистой стенке и пораженной атеросклерозом; генетические вариации генов антиоксидантной защиты *GCLC* -129C/T, *GCLM* -588C/T, *GPX1* Ala5-7, *SOD3* Ala58Thr, *GPX4* Leu220= и ишемическая болезнь сердца.

Цель исследования: Провести оценку характера экспрессии ряда антиоксидантных белков при развитии атеросклероза и выявление роли полиморфизмов генов, кодирующих антиоксидантные белки, в формировании наследственной предрасположенности к ишемической болезни сердца.

Задачи исследования:

1. Определить уровень экспрессии антиоксидантных белков SOD3 и GPX1 в нормальной сосудистой стенке и пораженной атеросклерозом, на модельном объекте кролика породы Chinchilla.

2. На добровольной основе, осуществить сбор биоматериала у людей с установленным диагнозом ишемической болезни сердца, для создания когорты пациентов с ишемической болезни сердца. Одновременно, провести анализ полученных анкетных данных участников и осуществить подбор контрольной группы в соответствии с возрастом, полом и этнической принадлежностью.

3. Провести генотипирование однонуклеотидного полиморфизма Ala58Thr, гена супероксиддисмутазной ферментной системы – *SOD3*, провести статистическую обработку полученных данных и оценить относительный риск развития ишемической болезни сердца у представителей разных генотипов.

4. Осуществить генотипирование промоторных полиморфизмов, генов глутатионовой антиоксидантной ферментной системы – *GCLC* -129C/T и *GCLM* -588C/T, провести статистическую обработку полученных данных и оценить относительный риск развития ишемической болезни сердца для представителей обладающих аллелями -129T гена *GCLC* и -588T гена *GCLM*.

5. Осуществить генотипирование полиморфного трехнуклеотидного тандемного повтора Ala5-7, гена глутатионовой антиоксидантной ферментной системы – *GPX1* и оценить относительный риск развития ишемической болезни сердца у представителей разных генотипов с учетом трехаллельной системы.

6. Провести генотипирование однонуклеотидного полиморфизма C718T, гена глутатионовой антиоксидантной ферментной системы – *GPX4*, провести статистическую обработку полученных данных и оценить относительный риск развития ишемической болезни сердца у представителей с разными генотипами.

7. Оценить вклад изученных вариантов генов, кодирующих ферменты антиоксидантной защиты, в развитие сердечнососудистой патологии.

Методы исследования: В работе были использованы молекулярно-генетические, иммуно-гистохимические и эпидемиологические методы, а также методы статистической обработки данных.

Научная новизна исследования. На модельной системе индуцированного атеросклероза у кроликов породы Chinchilla, определен характер экспрессии белков GPX1 и SOD3 в нормальной стенке аорты и пораженной атеросклерозом. Показано, что экспрессия SOD3 индуцируется на ранних стадиях атеросклероза (стадия липидных пятен) в медиальном слое сосуда, подстилающим непосредственно внутреннюю эластическую мембрану и интиму. Экспрессия белка SOD3 зависит от степени деградации внеклеточного матрикса на поздних стадиях развития атеросклероза (стадии атером). Интенсивная экспрессия внутриклеточного антиоксидантного белка GPX1 наблюдается на ранних стадиях атеросклероза (стадия липидных

пятен) в адвентициальном слое сосуда. Экспрессия GPX1 существенно репрессируется на поздних стадиях атеросклероза (стадия атером) в интимальном слое сосуда.

Впервые, для казахстанской популяции жителей г. Алматы было выявлено частотное распределение аллельных вариантов в генах, *SOD3*, *GCLC*, *GCLM*, *GPX1* и *GPX4* кодирующих антиоксидантные белки, и исследована их ассоциация с риском развития ишемической болезни сердца. Установлено, что промоторные полиморфизмы генов *GCLC* -129C/T и *GCLM* -588C/T могут выступать в роли внутренних, генетических факторов риска развития ишемической болезни сердца для казахстанской популяции. Для этнической группы казахов, дополнительным фактором риска развития ишемической болезни сердца может служить полиморфизм числа аланиновых повторов Ala5-7 гена *GPX1*. Изученные полиморфные варианты генов *SOD3* и *GPX4* не проявляют ассоциацию с риском развития ишемической болезни сердца в казахстанской популяции.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты диссертационной работы по изучению экспрессии антиоксидантных белков при развитии воспаления сосудистой стенки на модельном объекте дополняют исследования в области раскрытия механизмов развития атеросклероза, как основного патофизиологического звена ишемической болезни сердца. Анализ и теоретическое обоснование полученных данных способствует дальнейшему более детальному изучению молекулярно-генетической причины развития ишемической болезни сердца. Изучение генетических факторов антиоксидантных белков, позволяет глубже понять влияние генетического разнообразия полиморфизмов на эффективность антиоксидантной защиты организма при развитии ишемической болезни сердца. Дальнейшие исследования в этой области будут способствовать выявлению панелей генов вовлеченных в патогенез ишемической болезни сердца, как универсальных, так и с учетом этнических, половых, возрастных особенностей пациентов. Это способствует развитию эффективности превентивной медицины в развитии ишемической болезни сердца, а также оптимальных протоколов ведения и лечения пациентов, находящихся в группе риска ишемической болезни сердца.

Положения, выносимые на защиту:

- Внеклеточный белок антиоксидантной защиты SOD3 экспрессируется в субинтимальном и адвентициальном слоях нормальной аорты кроликов. На начальных стадиях индуцированного атеросклероза (стадия липидных пятен) происходит первичная активация экспрессии внеклеточного белка SOD3 в медиальном слое, подстилающим интимальный, которая коррелирует с наличием внеклеточного матрикса на стадии атером.

- Фоновая экспрессия антиоксидантного белка GPX1 наблюдается в интимальном, адвентициальном и части медиального слоев нормальной аорты кроликов. Увеличение экспрессии белка GPX1 при индуцированном атеросклерозе происходит во всех слоях на стадиях липидных пятен и

липидных полосок; экспрессия белка GPX1 подавляется в интимальном слое на стадии атером. Интенсивная экспрессия белка GPX1 в адвентициальном слое опосредована комплексным ответом сосудистой стенки при развитии атеросклероза.

- В популяции здоровых жителей г.Алматы (69,5% казахов, 20,82% русских, другие – 9,68%) частота полиморфного аллеля -588Т гена *GCLM* (0,139) больше соответствует частоте, характерной для европейской популяции (0,152); частота полиморфного аллеля -129Т гена *GCLC* (0,111) соответствует частоте, определенной для азиатской популяции (0,133); частота полиморфного аллеля Ala5 гена *GPX1* (0,661) гораздо выше частоты, представленной для мировой популяции (0,345–0,398); частота полиморфного аллеля 58Thr гена *SOD3* (0,462) выше частот характерных для европейской (0,374–0,383) и азиатской (0,1–0,279) популяций; частота аллеля Leu220= гена *GPX4* (0,603) соответствует частотам азиатских популяций (0,558–0,606).

- Высокий риск развития ишемической болезни сердца в казахстанской популяции достоверно ассоциирован с наличием в генотипе двух аллелей -588Т гена *GCLM* (OR=2,91; CI=0,93–9,10; p=0,009) и/или двух аллелей -129Т гена *GCLC* (OR=3,22; CI=0,88–11,80; p=0,03). С высокой степенью достоверности, отмечен риск ишемической болезни сердца для этнических казахов с генотипом -588ТТ по гену *GCLM* (OR=4,23; CI=0,89–20,16; p=0,04) и/или с генотипом -129ТТ по гену *GCLC* (OR=4,79; CI=1,02–22,39; p=0,04).

- Риск развития ишемической болезни сердца у этнических казахов может быть связан с наличием пяти аланиновых повторов Ala5 в гене *GPX1* в гомозиготном состоянии (Ala5/5: OR=1,88; 95%CI=1,30–2,71; $\chi^2=16,902$, p=0,005).

- Полиморфизм Ala58Thr гена *SOD3* и полиморфизм Leu220= гена *GPX4* не являются факторами риска ишемической болезни сердца для казахстанской популяции (p>0,05).

Публикации. По материалам диссертационной работы опубликовано: 1 статья в журнале и импакт-фактором; 3 статьи в рейтинговых республиканских изданиях, рекомендованных ККСОН; 2 тезиса в международных конференциях.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 138 страницах машинописного текста и включает: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение, заключение, список использованных источников (314 наименований) и 5 приложений. Диссертация проиллюстрирована 19 рисунками и 14 таблицами.