

**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Рязанский государственный медицинский университет
имени академика И.П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

На правах рукописи

Пахомя Надежда Сергеевна

**ПОЛИМОРФИЗМ НЕКОТОРЫХ ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ СЕРДЕЧНО-
СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ
АСТМОЙ ПРИ СОПУТСТВУЮЩЕЙ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ**

14.01.04 – Внутренние болезни

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель: доктор
медицинских наук, профессор
Урясьев Олег Михайлович

Рязань – 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1. Коморбидность в современной клинике внутренних болезней.....	11
1.2. Генетика комплексных заболеваний.....	16
1.3. Методы исследования генетической предрасположенности.....	19
1.4. Стратегия поиска предполагаемых генов-кандидатов.....	22
1.4.1. Ген ангиотензиногена (AGT)	23
1.4.2. Ген эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS)	29
1.4.3. Ген эндотелина-1 (EDN1)	36
1.4.4. Ген тромбоцитарного гликопротеина I β α -субъединицы (GPI β α)	39
1.4.5. Ген липопротеиновой липазы (LPL)	42
1.4.6. Ген аполипропротеина E (APOE)	45
1.4.7. Ген рецептора к глюкагону (GCCR).....	50
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	52
2.1. Общая характеристика исследования.....	52
2.2. Методы исследования.....	54
ГЛАВА 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУПП	60
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	67
4.1. Изучение полиморфизмов генов в зависимости от степени контроля и длительности бронхиальной астмы.....	67
4.1.1. Ассоциация полиморфизма Asn363Ser гена рецептора к глюкагону (GCCR) со степенью контроля и стажем бронхиальной астмы.....	67
4.1.2. Ассоциация полиморфизма T786C гена эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) со степенью контроля бронхиальной астмы.....	69
4.2. Гены-кандидаты, ассоциированные с ранним началом гипертонической болезни при бронхиальной астме.....	71

4.2.1. Клиническая характеристика подгрупп с ранним и поздним дебютом гипертонической болезни при бронхиальной астме.....	71
4.2.2. Анализ вклада полиморфизмов гена ангиотензиногена (AGT) в развитие артериальной гипертензии при бронхиальной астме.....	75
4.2.3. Анализ вклада полиморфизма Lys198Asn гена эндотелина-1 (EDN1) в развитие артериальной гипертензии при бронхиальной астме.....	76
4.2.4. Анализ вклада полиморфизма Asn363Ser гена рецептора к глюкагону (GCCR) в развитие артериальной гипертензии при бронхиальной астме.....	77
4.3. Ассоциация полиморфизмов генов-кандидатов со стадией гипертонической болезни при бронхиальной астме.....	78
4.3.1. Клиническая характеристика подгрупп с первой и второй стадией гипертонической болезни при бронхиальной астме.....	78
4.3.2. Ассоциация полиморфизма Asn363Ser гена рецептора к глюкагону (GCCR) со стадией гипертонической болезни при бронхиальной астме.....	80
4.4. Прогнозирование риска развития гипертонической болезни при бронхиальной астме.....	81
ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	90
ВЫВОДЫ	99
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	100
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	101
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	103

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Полиморбидность постулируется, как одна из проблем современной медицины. Среди взрослого населения развитых стран наиболее распространёнными заболеваниями остаются артериальная гипертония (АГ), ишемическая болезнь сердца (ИБС) и хронические респираторные заболевания, в частности бронхиальная астма (БА). Частота сочетаний этих заболеваний закономерно увеличивается с возрастом [62]. Так, частота АГ у лиц с хронической бронхолегочной патологией варьирует от 0,4 до 76,3% [68], встречаясь более чем у половины больных пожилого возраста. Ишемическая болезнь сердца у больных бронхиальной астмой старше 60 лет встречается более чем в 60% случаев, а после 75 лет - в 85%. Таким образом, в современной медицинской практике отмечается тенденция не только к нарастанию отдельных нозологических единиц внутри популяции, но и к росту их сочетанного течения, особенно у больных старших возрастных групп, что взаимоотношает течение заболеваний и создает трудности диагностики и лечения [23,26].

Существенный вклад сердечно-сосудистая патология вносит в летальность больных, страдающих бронхиальной астмой, оттесняя с годами это заболевание на второй план.

Индивидуальная стратегия профилактики сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) подразумевает выявление и лечение лиц с повышенным кардиоваскулярным риском или больных с высоким риском фатальных осложнений. На современном этапе кардиологии активно изучается полиморфизм генов-кандидатов ССЗ, как один из потенциальных факторов риска развития атеросклеротического процесса, повышения артериального давления и, как следствие, ССЗ, вносящих высокий вклад в общую смертность. Однако, несмотря на высокую частоту сочетанной патологии дыхательной и сердечно-сосудистой систем, в литературе нет данных о

полиморфизме генов-кандидатов сердечно-сосудистой патологии при сочетанном течении заболеваний. В контексте настоящей работы интересным является изучение гена ангиотензиногена, играющего важную роль в регуляции артериального давления (АД), гена эндотелиальной синтазы оксида азота и гена эндотелина-1 как маркеров эндотелиальной дисфункции, в том числе и в сосудах бронхолегочной системы, гена аполипопротеина Е и липопротеиновой липазы, играющих важную роль в развитии дислипидемий. Нельзя не отметить существенную роль в этиопатогенезе гипертонической болезни (ГБ) и ИБС синдрома инсулинорезистентности и ожирения, в данном аспекте важная роль отведена изучению гена рецептора к глюкагону, являющегося также маркером бронхиальной гиперреактивности.

Анализ молекулярно-генетических маркеров, ассоциированных с повышенным риском заболевания, даёт возможность рекомендовать их носителям меры профилактики задолго до появления первых симптомов заболевания и, если не предотвратить его развитие, то хотя бы существенно отодвинуть срок его начала или уменьшить тяжесть клинических проявлений. Таким образом, изучение ассоциации генетических полиморфизмов в аспекте сочетанной патологии представляется наиболее актуальным.

На основании этого были определены цели и задачи настоящего исследования.

Цель исследования

Изучить клиническо-диагностическое значение полиморфизмов некоторых генов-кандидатов сердечно-сосудистых заболеваний у больных бронхиальной астмой при сопутствующей гипертонической болезни.

Задачи исследования

1) Оценить клинико-функциональные характеристики сочетанного течения бронхиальной астмы и гипертонической болезни.

- 2) Проанализировать особенности течения бронхиальной астмы при различных полиморфных вариантах генов сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с бронхиальной астмой при сочетанном течении с гипертонической болезнью.
- 3) Изучить особенности течения гипертонической болезни при различных полиморфных вариантах генов сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с бронхиальной астмой при сопутствующей гипертонической болезни.
- 4) Построить прогностическую модель оценки риска развития гипертонической болезни в зависимости от факторов риска и «задействованных» в развитии гипертонической болезни полиморфизмов генов сердечно-сосудистых заболеваний.

Научная новизна

- 1) Изучены генетические полиморфизмы генов сердечно-сосудистых заболеваний при изолированной бронхиальной астме и сочетанном течении бронхиальной астмы и гипертонической болезни.
- 2) Проанализирована и сопоставлена частота встречаемости различных генотипов изучаемых полиморфизмов генов сердечно-сосудистых заболеваний в группе пациентов с изолированной бронхиальной астмой и кардиореспираторной патологией.
- 3) Изучен вклад полиморфизмов изучаемых генов в реализацию гипертонической болезни и поражение органов-мишеней при гипертонической болезни у пациентов с бронхиальной астмой.
- 4) Выявлены полиморфизмы генов, ассоциированные со степенью контроля бронхиальной астмы, у пациентов с изолированной бронхиальной астмой и при сочетанном течении бронхиальной астмы и гипертонической болезни.

5) На основании медико-генетического анализа и факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний разработан алгоритм ранней диагностики гипертонической болезни у пациентов с бронхиальной астмой.

Теоретическая значимость работы

Полученные результаты расширяют представление о роли генетических маркеров сердечно-сосудистых заболеваний в формировании синдрома взаимного отягощения при сочетанном течении бронхиальной астмы и гипертонической болезни. Полученные данные могут послужить основой для разработки донозологической профилактики гипертонической болезни, дополняют имеющиеся и могут служить фундаментом для более углубленных дальнейших исследований, посвящённых изучению коморбидной патологии при бронхиальной астме.

Практическая значимость работы

Результаты исследования позволили оценить распространённость полиморфизмов генов Lys198Asn EDN1, Thr174Met AGT, Met235Thr AGT, C786T eNOS, Leu28Pro APOE, S447X LPL, Thr145Met GPIIb α , Asn363Ser GCCR у больных с изолированной бронхиальной астмой и у пациентов с бронхиальной астмой и гипертонической болезнью.

Данные о связи полиморфизмов Asn363Ser GCCR, C786T eNOS с неконтролируемым течением бронхиальной астмы позволят провести дальнейшие исследования с целью разработки персонализированного подхода ведения пациентов с неконтролируемым течением бронхиальной астмы.

Полученные сведения о связи полиморфизмов T174M AGT, Lys198Asn EDN1 с ранним дебютом гипертонической болезни у пациентов с бронхиальной астмой могут быть использованы для выявления лиц повышенного риска развития ГБ.

Степень достоверности результатов

Достоверность результатов работы обусловлена системной проработкой проблемы, достаточном объеме исследуемой выборки, достоверностью применяемых методов и тщательной обработкой полученных результатов. Имеет место качественное совпадение авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Коморбидные заболевания существенно влияют на формирование неконтролируемого течения бронхиальной астмы. У пациентов с кардиореспираторной патологией регистрировалось достоверно более тяжелое течение бронхиальной астмы ($p=0,00069$).
2. Носительство генотипа AA полиморфизма Asn363Ser GCCR ассоциировалось с меньшим стажем бронхиальной астмы ($p=0,02$) в группе сочетанного течения бронхиальной астмы и гипертонической болезни.
3. С неконтролируемым течением бронхиальной астмы при сопутствующей гипертонической болезни ассоциированы генотип AS полиморфизма Asn363Ser GCCR ($p=0,008$) и генотип СТ полиморфизма С786Т гена eNOS ($p=0,009$). В противоположность, генотип AA полиморфизма Asn363Ser GCCR ($p=0,035$) и генотип ТТ полиморфизма С786Т гена eNOS ($p=0,002$) следует рассматривать как протективные в отношении контроля бронхиальной астмы.
4. С ранним дебютом гипертонической болезни при бронхиальной астме ассоциированы: генотип ТМ полиморфизма Т174М AGT ($p=0,013$), генотип ТТ полиморфизма Lys198Asn EDN1 ($p=0,018$).
5. У пациентов с сочетанным течением бронхиальной астмы и гипертонической болезни генотипы SS и AS полиморфизма Asn363Ser GCCR оказывают воздействие на процесс ремоделирования миокарда ($p=0,011$ и $p=0,034$ соответственно), генотип SS ассоциируется с ранним дебютом гипертонической болезни ($p=0,018$), что обусловлено тяжелым течением

бронхиальной астмы у носителей данных генотипов с развитием синдрома «взаимного отягощения».

Внедрение результатов работы в практику

Результаты настоящего исследования внедрены в лечебно-диагностический процесс пульмонологического отделения филиала №3 ФГКУ «Главный военный клинический госпиталь им. Н.Н. Бурденко», пульмонологического отделения Государственного бюджетного учреждения Рязанской области «Областная клиническая больница», в учебный процесс кафедры факультетской терапии с курсами эндокринологии, клинической фармакологии, профессиональных болезней ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

Апробация работы

Основные результаты работы доложены на Юбилейной научной сессии, посвященной 20-летию Рязанской областной общественной организации «Ассоциация врачей-терапевтов» (Рязань, 2012); Шестой научно-практической конференции «Духовное и врачебное наследие святителя Луки (Войно-Ясенецкого)» (Москва-Купавна, 2014); Международной научно-практической конференции «Традиционная и инновационная наука: история, современное состояние, перспективы» (Уфа, 2018); межкафедральном совещания кафедр терапии и семейной медицины ФДПО с курсом медико-социальной экспертизы, поликлинической терапии и профилактической медицины, фтизиатрии с курсом лучевой диагностики, факультетской терапии, хирургии, акушерства и гинекологии ФДПО ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России (Рязань, 2018).

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 123 страницах машинописного текста, иллюстрирована 15 таблицами и 12 рисунками. Состоит из введения, 5 глав, 5 выводов, практических рекомендаций и списка литературы,

включающего 197 источников, в том числе 69 отечественных и 128 зарубежных авторов.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 10 печатных работ, в том числе 5 – в журналах, включенных Высшей аттестационной комиссией Минобрнауки России в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук.

Личный вклад автора

Теоретические положения и методика исследования, выводы и методические рекомендации, содержащиеся в диссертации, являются результатом самостоятельного исследования автора. В качестве общей методологии проведения исследования принят системный подход к проблемам, определяемым целью работы. Автором работы лично изучены, проанализированы и систематизированы отечественные и иностранные источники по теме диссертационного исследования. На основании полученной информации поставлены и определены цели диссертационной работы, выбран объект исследования, определена совокупность задач и их решение. Для решения поставленных задач автором разработана первичная документация, проведено физикальное, лабораторно-инструментальное и медико-генетическое обследование пациентов, включенных в исследование согласно разработанным критериям, составлена электронная база данных и проведена статистическая обработка и интерпретация полученных данных.

Автором в соавторстве подготовлены и опубликованы статьи по теме и результатам диссертационного исследования.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Коморбидность в современной клинике внутренних болезней

Настоящая действительность ввиду наличия множества факторов, в том числе неблагоприятная экологическая обстановка, превалирующая гиподинамия, стрессовые ситуации с постоянным напряжением адаптационных механизмов, приводят к срыву последних, и, соответственно, формированию у пациентов нескольких патологий. Распространенность сочетанной патологии среди пациентов составляет, в среднем, 78,6 %, причем полиморбидность у женщин встречается чаще - в 82 % случаев, чем у мужчин – в 72 % [6,11]. При этом количество сочетанного течения заболеваний значительно повышается с увеличением возраста пациентов. Так, мультиморбидность увеличивается с 10 % в возрасте до 19 лет, до 80 % – у лиц 80 лет и старше [158]. При этом риск смерти при наличии двух сопутствующих заболеваний составляет 5–10 %, а при увеличении их количества до пяти – возрастает до 70–80 %.

Термин «коморбидность» (comorbidity) предложен Feinstein в 1970 г. для отображения существования «любых клинических сущностей, которые выявляются или выявлялись в анамнезе заболевания пациента» [6]. В соответствии с современными представлениями различают следующие сочетания двух патологических состояний: если заболевания имеют общие этиологические или патогенетические механизмы (например, биохимические либо генетические), речь идет о синтропии; если же одно заболевание вызывает другое – об интерференции. Случайное сочетание двух заболеваний не расценивается, как коморбидная связь, однако согласно другим классификациям данная категория расценивается как нейтропения [54,55].

Согласно представлениям других авторов, коморбидность классифицируется на два основных вида: транснозологическая (например, ишемическая болезнь сердца в сочетании с гипертонической болезнью) и

транссиндромальная (например, хроническая почечная недостаточность, осложненная анемией). Однако, это разделение во многом условно и не отражает степень патогенетического родства между коморбидными заболеваниями [66].

В 1998 году Н.С. Крамер и М. van den Akker разработали еще одну классификацию коморбидности: причинная, осложненная, ятрогенная и неуточненная, «случайная» коморбидность.

В целом, в последнее десятилетие данной проблеме уделяется большое внимание: изданы многочисленные обзоры, посвященные проблеме полиморбидности, с 2010 года издается журнал “J. Comorbidity”, создано международное научное общество мультиморбидности (IRCM – International Research Community on Multimorbidity) [66].

Теоретические и практические аспекты коморбидности изучали и продолжают изучать многие авторы. Ф.А. Белялов и др. в клинических лекциях для врачей, изданных в Иркутске в 2011 г., сформулировали 12 тезисов коморбидности [6]:

- коморбидность встречается часто, особенно у пожилых;
- коморбидность неоднородна: случайная, причинная, осложненная, неуточненная;
- коморбидность увеличивает тяжесть состояния и ухудшает прогноз;
- коморбидность следует учитывать при диагностике болезней;
- при коморбидных заболеваниях следует уточнить лечение;
- лечение нескольких болезней требует учета сочетаемости препаратов;
- коморбидные болезни увеличивают затраты ресурсов;
- коморбидность повышает риск побочных эффектов медикаментов;
- коморбидные болезни снижают приверженность к лечению;
- необходимо расширить исследования коморбидности;
- важна оптимальная стратегия лечения коморбидных болезней (последовательная или параллельная);
- в рекомендации следует включать разделы коморбидности.

Показано, что нередко именно коморбидные нарушения являются ведущим фактором, ухудшающим течение основного заболевания и/или приводящим к его хронизации.

В настоящее время разработаны многочисленные индексы балльной оценки коморбидности для уточнения ее влияния на клиническое течение основного соматического заболевания, эффективности медикаментозной терапии, оценки ближайшего и отдаленного прогнозов [134].

Отечественные ученые выдвинули предположение о четкой прямой зависимости количества и частоты соматических заболеваний от возраста пациентов [27,35]. Однако, Л.Б. Лазебник, анализируя связь возрастного критерия с полиморбидностью, пришел к выводу, что возраст человека не является основным условием коморбидности. Автор показал, что полиморбидность формируется преимущественно в молодом (30 – 45 лет) и среднем (46 – 60 лет) возрасте, а ее аддитивный эффект реализуется в пожилом (61 – 75 лет) возрасте с последующим нарастанием количества нозологий с каждым прожитым годом. Проведенная Л.Б. Лазебником попытка математической оценки полиморбидности сформулирована в виде индекса полиморбидности: общее число болезней / один пациент в той или иной возрастной группе. Данный показатель позволяет судить о степени "обременённости" болезнями, или нозологической отягощённости. Проанализировав число заболеваний у больных геронтологического стационара в зависимости от возраста, Л. Б. Лазебник и др. [52] получили следующие данные: число заболеваний на одного пациента 60 – 65 лет составляет $5,2 \pm 1,7$; 66 – 70 лет – $5,4 \pm 1,4$; 71–75 лет – $7,6 \pm 1,7$; 76 – 80 лет – $5,8 \pm 1,6$; 81 – 85 лет – $5,8 \pm 1,8$; 86 – 90 лет – $4,4 \pm 1,6$; у долгожителей 91 – 95 лет – $3,2 \pm 0,5$ [рисунок 1].

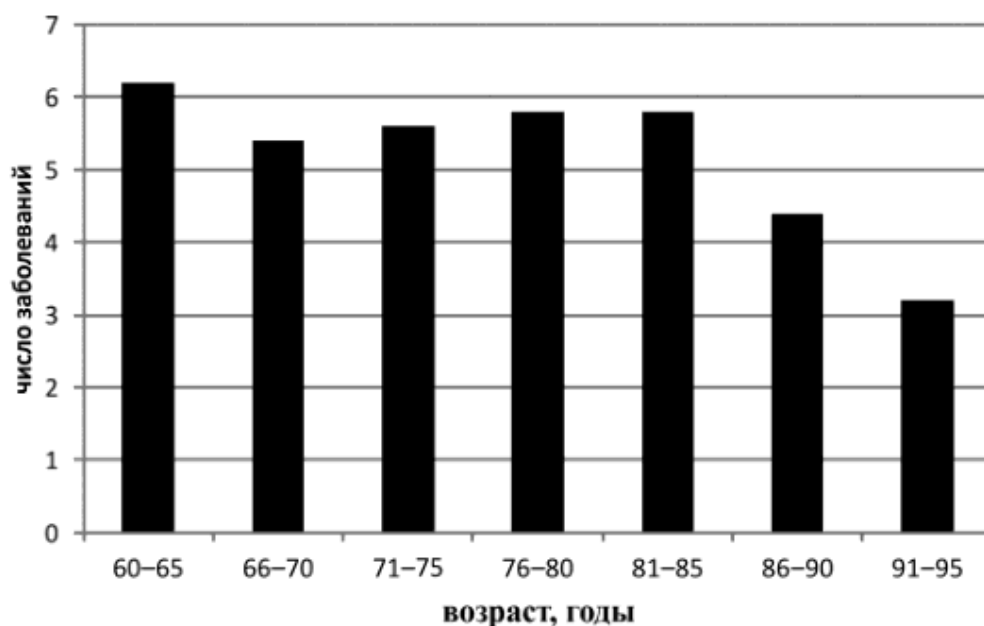


Рисунок 1 – Число заболеваний у терапевтических больных геронтологического стационара по возрастным когортам

Таким образом, видно, что индекс полиморбидности увеличивается с возрастом и наиболее выраженное явление полиморбидности («избыточность патологии») наблюдается в пожилом возрасте.

В последнее время отмечается неуклонный рост бронхиальной астмы. Рост показателей заболеваемости БА регистрируется уже с младшего школьного возраста. Согласно данным Научного центра здоровья детей, у каждого третьего ребенка подтверждается аллергологическая отягощенность, при этом необходимо отметить, что с возрастом проявление кожной аллергии уменьшается, а пищевой – сохраняется, заболеваемость БА при этом неуклонно растет.

Данные официальной статистики, базирующиеся на обращаемости пациентов по данному заболеванию, запаздывают в сравнении с истинной распространенностью, так как диагноз обычно сразу не верифицируется. При этом, согласно статистическим данным, наблюдается преобладание БА средней степени тяжести: легкие формы не превышают 20 %, тяжелая форма диагностируется в 10–15 %, в то время как астма средней тяжести регистрируется в 65–70 % случаев [193].

В связи с внедрением в России программы «Международное исследование астмы и аллергии у детей» (ISAAC) проведены исследования структуры, распространенности БА у детей в 1993–2007 гг. [193]. По данным проведенного исследования в отдельных регионах Российской Федерации в Москве за анализируемый период зафиксирован рост заболеваемости БА почти в 2,5 раза, в Новосибирске отмечена стабильная обстановка за аналогичный период, а у школьников в Томск выявлено снижение показателей распространенности БА [9,193].

Каждый год в одной из областей нашей страны выявляется около 700–900 пациентов с БА. К примеру, в Рязанской области на 2015 год у более 11 тысяч пациентов в возрасте старше 18 лет диагностирована БА, однако не все больные находятся под динамическим диспансерным наблюдением.

Явления коморбидности наблюдаются уже в детском и подростковом возрасте, сочетая первоначально, как правило, заболевания органов дыхания (например, БА и аллергический ринит) и кожные заболевания (например, БА и аллергический дерматит, диатез), однако с возрастом наблюдается присоединение хронической патологии со стороны других органов и систем. Относительно БА у лиц пожилого возраста почти 75 % больных с бронхиальной астмой имеют хотя бы одно сопутствующее хроническое заболевание [161,194], чаще всего среди сопутствующих нозологий регистрируются ИБС, АГ, катаракта, остеопороз, респираторные инфекции [161]. Кроме того, большой процент случайной коморбидности также приходится на неопластические процессы, сахарный диабет, заболевания желудочно-кишечного тракта [40]. Данные зарубежных и отечественных исследований показывают наиболее частое сочетание ССЗ и бронхолегочной патологии в старших возрастных группах. Так, сердечно-сосудистые заболевания диагностируются более чем у половины больных БА, при этом лидирующие позиции занимает гипертоническая болезнь [5]. В последнее время ввиду высокой сочетанной встречаемости ГБ и БА данной проблеме уделяется большее внимание.

При анализе сердечно-сосудистых заболеваний среди пациентов с БА у 52 % больных 60–75 лет выявлены АГ, ИБС, нарушения ритма сердца: сочетанное течение БА и ИБС у 23 % пациентов, БА и АГ – в 21 % случаев. Сопутствующие болезни часто видоизменяют клиническую картину астмы.

Наибольшую частоту осложнений в анамнезе со стороны сердечно-сосудистой системы (инфаркты миокарда, инсульты и др.) выявляли у больных с дебютом БА в пожилом возрасте. Согласно статистическим данным, 4,65 % пожилых больных с БА ранее перенесли инфаркт миокарда, в том числе и повторный [39,58]. Этот факт свидетельствует о том, что БА, развившаяся в 60 лет и старше, возникает нередко уже на фоне серьезной сердечно-сосудистой патологии [30]. Немаловажную роль коморбидной патологии играет экономическая составляющая. Так, негативным моментом течения БА у пожилых является увеличение риск госпитализации (в 2 раза и более), значительное снижение качество жизни пациентов, и она же является одной из причин летального исхода.

Однако на сегодняшний день большинство исследований носят преимущественно мононозологический характер, что не позволяет в полной мере проанализировать факторы риска, прогнозы развития какой-либо одной нозологической формы, эффективно решать вопросы профилактики и эффективного лечения заболеваний [185]. При этом синтропию нозологических единиц необходимо учитывать для проведения целенаправленной профилактики, адекватного лечения и прогнозирования осложнений.

1.2. Генетика комплексных заболеваний

Развитие и прогноз течения мультифакторных болезней, в том числе БА и сердечно-сосудистых заболеваний, являясь частично обусловленными генетическими факторами, напрямую зависят от воздействия факторов окружающей среды, образа жизни и рационального питания. Своевременная профилактика социально значимых заболеваний с применением

инновационных методов оценки генетической предрасположенности может позволить существенно снизить заболеваемость и продлить жизнь.

Таким образом, сегодня сформулирована «новая философия медицины» – концепция четырех «П» [53,56,170]:

Предиктивная (предсказательная);

Персонафицированная (индивидуализированная);

Предупредительная (профилактическая);

Партнерская (обозначающая участие врачей, пациентов и общества в сохранении и развитии здоровья).

Согласно современным представлениям, болезнь – это возникающие в ответ на действие патогенных факторов нарушения нормальной жизнедеятельности организма и его способности адаптироваться к постоянно меняющимся условиям внешней и внутренней сред при одновременной активации компенсаторно-приспособительных реакций и механизмов [129,173]. С точки зрения особенности фенотипического проявления качественных и количественных признаков во взаимодействии с факторами среды был введен термин «комплексное заболевание». Комплексное или сложноустроенное заболевание обозначает заболевание, вызванное различными сочетаниями структурных вариантов генома (полигенной природы) под влиянием факторов окружающей среды (мультифакторное) [55,126,128,170-173]. Важно отметить, что роль генетических и средовых факторов различна как для данной болезни, так и для каждого индивида [184]. Распространенность сложных заболеваний трудно определить, но, по современным оценкам, она варьирует от 5% у детей до более 60% у взрослых, независимо от этнического происхождения [133,169,184].

Патогенетика, будучи неотъемлемой частью общей патологии и клинической медицины, исследует наследственные механизмы развития патологических признаков и пути превращения аномального генома в фенотип болезни [56,162].

Уникальность каждого человека проявляется не только в морфологических различиях, но и в особенностях функционирования физиологических систем, которые объясняются полиаллельностью большинства генов и различного типа полиморфизма ДНК, взаимодействующих между собой и факторами среды. Таким образом, главной задачей современной медицинской генетики является разработка концепции предрасположенности к комплексному заболеванию с учетом полученных данных полномасштабных проектов исследований генома/ов и гаплотипов человека, метаболомики, фармакогенетики и т.п. [4,56,155,168,174].

Быстрое развитие биотехнологий привело к тому, что в 2001 году был полностью расшифрован геном человека. С того времени на основании накопленного материала связи отдельных генов с тем или иным заболеванием определены наиболее информативные генетические маркеры [164]. Еще до 1995 года было картировано более 500 генов простых менделевских заболеваний. Сегодня мировая база OMIM (On-line Mendelian Inheritance on the Man) уже содержит более 2500 генов-кандидатов для 3659 заболеваний [98]. Успехи генетики способствуют трансформации медицины и биотехнологий, появлению новых лекарств и методов диагностики. На настоящем этапе развития медицинская генетика переходит на новый этап – основное значение придается проблеме картирования генов, которые контролируют «комплексные признаки», проявления которых зависят от взаимодействия множества факторов, как генетических, так и негенетических. Эти гены обуславливают риск возникновения ИБС, ГБ, психических расстройств, злокачественных новообразований.

Таким образом, открывается реальная возможность развития индивидуализированных схем профилактики и лечения в той или иной популяции населения. При этом профилактика может проводиться наиболее эффективно на всех стадиях профилактического процесса. Знание индивидуальных генетических факторов развития поможет предотвратить

возникновение заболевания при проведении генетического консультирования.

1.3. Методы исследования генетической предрасположенности

В настоящее время основным подходом в изучении генетической предрасположенности к мультифакториальным заболеваниям является использование полиморфных маркеров генов-кандидатов.

Ген, продукт экспрессии которого (фермент, гормон, рецептор, структурный или транспортный белок) может прямо или косвенно участвовать в развитии патологии, принято называть геном-кандидатом. Под полиморфным маркером понимают вариабельный участок ДНК с уникальной хромосомной локализацией, который может быть связан с фенотипическим признаком. Полиморфизм гена выражается в эволюционно закрепленном существовании в популяции нескольких вариантов (аллелей) одного и того же гена. Под ассоциацией генетического маркера с заболеванием понимают достоверно различающуюся частоту встречаемости (распространенности) определенного аллеля или парного набора аллелей – генотипа этого маркера у больных и у здоровых лиц одной и той же популяции.

Полиморфизм – проявление индивидуальной прерывистой изменчивости живых организмов. Создатель концепции генетического полиморфизма Э. Форд определил это явление как «наличие в одном и том же местообитании двух или более дискретно отличающихся внутривидовых форм в таких количественных соотношениях, что самая редкая из них не может поддерживаться лишь давлением повторяющихся мутаций» [2].

Впервые полиморфизм ДНК был описан в 1978 году при исследовании участка ДНК, тесно сцепленного с β -глобиновым геном человека, для пренатальной диагностики серповидно-клеточной анемии [22]. Анализ полиморфных признаков – ключ к изучению генетических процессов в популяциях. Вопрос о числе полиморфных локусов геномов и механизмах поддержания этой изменчивости – одна из центральных проблем

популяционной генетики и главный источник противоречий между приверженцами типологической и популяционной концепции генетической структуры вида [2,4,53,100,131].

Существуют несколько типов полиморфизма: генетический – наблюдается, когда ген представлен более одним аллелем; хромосомный – возникающий в результате хромосомных aberrаций или генных мутаций; переходный – возникающий в результате замещения «старого» аллеля «новым», более выгодным в данной ситуации; сбалансированный.

Генетический полиморфизм – это итог процессов на любых уровнях: от молекулярного до популяционного и является основой клинического полиморфизма болезней. Различают два типа генетического полиморфизма.

Первый из них – генотипический – связан с изменениями в структуре ДНК на различных уровнях организации наследственного материала и, соответственно, изменением концентрации, структуры и/или функции продукта экспрессии.

Второй тип полиморфизма – фенотипический, обуславливающий разнообразие фенотипическое многообразие в популяции. Кроме того, генетический полиморфизм классифицируется как качественный, основой которого является замена нуклеотидов в ДНК, и количественный, о котором говорят, когда в ДНК варьирует число повторов, встречающихся как в смысловых участках ДНК, так и в неинформативных последовательностях.

Полиморфные маркеры могут быть однонуклеотидными полиморфизмами, а также полиморфными мини- и микросателлитами, представляющими собой тандемные повторы с изменяющимся числом повторяющихся единиц (ди-, три-, тетрануклеотидные повторы, а также повторы большей длины). Кроме того, в геноме встречаются и другие типы полиморфизмов, например, типа «вставка/отсутствие вставки» (insertion/deletion, I/D) размером от одного до нескольких десятков нуклеотидов. Такие виды полиморфных маркеров как микросателлиты и вставка/отсутствие вставки обычно не встречаются в кодирующих и

регуляторных участках генов, чаще они располагаются в интронах (некодирующие участки гена, чередующиеся с кодирующими участками, которые называют экзонами) и даже на некотором расстоянии от маркерного гена. В большинстве случаев полиморфные маркеры не являются *per se* собственно этиологическими вариантами – причиной предрасположенности или устойчивости носителя конкретного аллеля или генотипа к патологии, но часто они находятся в неравновесии по сцеплению с этими вариантами.

Таким образом, по наличию ассоциации или сцепления полиморфного маркера с ДНК можно судить и об ассоциации или сцеплении соответствующего этиологического варианта конкретного гена.

Однонуклеотидный полиморфизм (SNP, или полиморфизм единичного нуклеотидного сайта) чаще всего представлен двухаллельными вариантами (заменами) однонуклеотидного сайта какой-либо последовательности. Согласно данным некоторых авторов [2,4,103,125], в генах человека находится около 1 млн. SNP, из которых около 500 тыс. некодирующих, 200 тыс. синонимичных кодирующих и 200 тыс. несинонимичных кодирующих. Число SNP на ген у человека колеблется от 0 до 29, причем в кодирующих последовательностях гена содержится в среднем по четыре полиморфных сайта. Например, для 75 генов средний уровень гетерозиготности на белковом уровне связанный с SNP соответствовал 17% [2,119]. Отмечено, что полученная оценка примерно в 3-4 раза выше прежних и косвенно подтверждает известное положение, что электрофоретический анализ белков выявляет лишь часть аминокислотных замен. Однонуклеотидный полиморфизм, как прямое следствие мутаций, распределяется в геноме в соответствии с популяционно-генетическими моделями истории человека.

Плотность SNP составляет 1 на 1,91 Kb, общее число SNP в геноме не менее 3,2 млн. [2,4].

С эволюционной точки зрения, SNP представляет собой изменения отдельных нуклеотидов в последовательности ДНК, закрепляющиеся в популяции [2,22,169]. Так, наиболее часто встречающимся полиморфизмом

является вариация оснований одного типа – замена пурина на пурин или пиримидина на пиримидин. Полиморфизм с аллелями пурин/пиримидин встречается значительно реже из-за меньшей вероятности появления таких изменений в ДНК. Рассчитанная на основании накопленных к настоящему времени данных, частота встречаемости SNP разного типа в геноме человека следующая: A/G – 63%, T/C – 17%, G/C – 8%, A/T – 4%. Оставшиеся 8% приходятся на короткие (тетра-, три- и ди- нуклеотидные) вставки и делеции. Доминирование SNP типа A/G или T/C объясняют высокой частотой дезаминирования 5-метилцитозина, приводящей к его превращению в тимин [2,157].

Однонуклеотидный полиморфизм в некодирующих регионах также широко применяется в популяционных исследованиях при генетическом картировании [2,147]. Высокая плотность и эволюционная стабильность SNP делают их одним из наиболее привлекательных генетических и физических маркеров.

В последнее время распространены исследования, направленные на выявление полиморфизма, связанного с индивидуальной предрасположенностью к различным заболеваниям, устойчивостью организма к воздействию окружающей среды и определением конкретного биохимического профиля индивидуума. Например, появление нового практического направления генетики – фармакогенетики – основано на знании генетических особенностей индивида. Это позволяет предсказать влияние генетических факторов на эффективность лекарственных препаратов [4,56,118,124].

1.4. Стратегия поиска предполагаемых генов-кандидатов

Вследствие клинической гетерогенности и этиологической многофакторности артериальной гипертензии и бронхиальной астмы маловероятно наличие их сильной ассоциации с каким-либо одним геном. Об этом свидетельствует и противоречивость результатов генетических

исследований. По всей видимости, генетическая предрасположенность к данным заболеваниям имеет полигенный характер. Поэтому наиболее перспективным направлением генетических исследований во всем мире является изучение не одного конкретного гена, а комплекса маркеров нескольких генов-кандидатов.

Поиск генетических маркеров основан на патогенетическом подходе, который предполагает изучение генов, непосредственно участвующих в патогенезе той или иной патологии.

В настоящем исследовании выбраны следующие гены сердечно-сосудистых заболеваний – это гены, кодирующие ключевые компоненты ренин-ангиотензиновой системы (ген ангиотензиногена), регулирующие функцию эндотелия (ген эндотелиальной синтазы оксида азота, ген эндотелина-1), липидный обмен (ген липопротеиновой липазы, аполипопротеина E), тромбоцитарное звено (ген тромбоцитарного гликопротеина 1b, α -субъединицы).

1.4.1. Ген ангиотензиногена (AGT)

Ангиотензиноген вырабатывается в клетках печени и под действием ренина трансформируется в ангиотензин I. Последний в результате ферментативного воздействия киназы II (ангиотензин-превращающего фермента), проходя химическую трансформацию (потеря 2 аминокислот), превращается в активный пептид ангиотензин II, который является ключевой фигурой в реализации факторов риска развития сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе инфаркта миокарда (ИМ) [144,176].

Ген ангиотензиногена (AGT) картирован на коротком плече первой хромосомы в локусе 1q42. Описано более 30 однонуклеотидных полиморфизмов гена AGT. Наиболее исследованы полиморфизмы AGT с заменой нуклеотидов цитозина на тимина в кодирующей области 2 экзона (C704T, rs 699), с последующей заменой метионина (Met) на треонин (Thr) в 235 кодоне аминокислотной последовательности (Met→ Thr или Met235Thr;

M235T) и треонина на метионин в 174 кодоне (Thr → Met или Thr174Met; T174M). Также описан полиморфизм промоторной области гена - замена гуанина на аденин в положении -6 (-6G/A). Данная замена влияет на уровень транскрипции гена путем нарушения взаимосвязи между промотором гена и ядерным фактором (tras-acting nuclear factor).

Чаще всего в качестве генетических маркеров используются M235T и T174M полиморфизмы AGT.

Распространенность аллелей гена AGT (мутации M235T и T174M) в европейских популяциях для генотипа 174M составляет 10-5%, для генотипа 235T – 15-20%, в то время как полиморфизм M235T гена AGT не выявляют у негроидов и азиатов [127]. В русской и татарской популяциях распространенность генотипа 174M в 3-5 раз выше у больных АГ в возрасте старше 45 лет [36].

Польские исследователи при изучении полиморфизма M235T у лиц с АГ продемонстрировали достоверное преобладание генотипа ТТ и аллеля Т полиморфизма M235T гена AGT у данной категории пациентов, при этом особенно значимой эта взаимосвязь оказалась в группе больных с наследственной отягощенностью по АГ. Полученные данные согласуются с результатами индийских ученых [107], однако, прогностическая значимость M235T аллеля гена AGT в структуре сердечно-сосудистых заболеваний неоднозначна.

Влияние M235T полиморфизмов гена AGT на риск развития ССЗ в различных этнических группах отражено в трех крупных мета-анализах (X. Liang et al., 2013; X. Sui et al., 2013; Y.I. Wang et al., 2014), проведенных независимыми авторами в период с 2013 по 2014 гг. Установлено, что среди жителей Юго-Восточной Азии «патологический» полиморфизм T235T ассоциирован с трехкратным увеличением частоты развития инфаркта миокарда, однако среди европейской когорты населения данная закономерность не прослеживалась [163,187,196].

Данные ряда исследований показали, что наличие аллелей риска в полиморфизме T174M и M235T приводит к повышению экспрессии AGT [76]. Jeunemaitre et al. показали, что с M235T полиморфизмом также сцеплен полиморфизм промоторной области гена -6G/A, данные полиморфизмы влияли на уровень экспрессии ангиотензиногена и его концентрацию в плазме крови, и, соответственно, были ассоциированы с повышенным риском гипертензии во многих популяциях человека [92].

Исследуемые полиморфизмы наиболее часто встречались у лиц с АГ, а также были ассоциированы с повышенным систолическим и диастолическим давлением и рядом других сердечно-сосудистых патологий. Однако, в ранних исследованиях M. Caulfield et al. не выявили связь АГ с двумя полиморфными вариантами гена AGT (M235T и T174M) среди европейцев, что подтверждает опубликованный в последние годы мета-анализ [93].

Ассоциативные исследования в популяции американских негров также не показали связи M235T полиморфизма с артериальной гипертензией [122,179]. В то же время, изучение этнически однородной японской популяции продемонстрировало связь варианта 174T с АГ и уровнем систолического давления [75]. В ряде работ также показано, что TT - генотип M235T ассоциирован с более высокими уровнями систолического и диастолического артериального давления [37, 87]. При этом, T. Imaizumi et al. (2017) пришли к выводу, что артериальное давление в японской популяции не ассоциировано с соль-чувствительностью [90]. Отсутствие указанной ассоциации с полиморфизмами гена AGT показано также в системном мета-анализе, проведенном группой авторов в 2016 г. [164].

В Российской Федерации подобные исследования единичны, однако, в работах, проведенных в Республике Адыгея в 2000-2002 гг. З.Н. Калакуток и др. у адыгов выявлена ассоциация 174M аллели AGT с риском развития гипертонической болезни [18]. Данная ассоциация выявлена также в исследовании М.Г. Андреевой и др. (2003) [3].

Кроме того, проводились исследования, направленные на изучение молекулярных изменений в гене AGT с факторами риска ССЗ.

Так, в польском исследовании Buraczynska et al. выявили положительную корреляционную связь между полиморфизмом M235T гена AGT и повышенным риском развития АГ при гиперлипидемии. Данные были подтверждены в исследованиях Winkelmann et al. Ученые показали, что прогностическая значимость этой мутации не изменяется с учетом переменных факторов, таких как возраст, пол, курение и др. [175].

Среди российской популяции полиморфный маркер Met235Thr гена AGT исследовался в популяции жителей республики Дагестан, где генотип TT полиморфного маркера Met235Thr гена AGT ассоциировался с повышенным уровнем триглицеридов, липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) в крови, более выраженным нарушением геометрии сердца с увеличением размеров левого желудочка и с нарушением систолической функции [14]. Т. Зотова и др. в своих исследованиях (2015), анализируя изменения частоты генотипов и мутантных аллелей гена AGT у пациентов с АГ и метаболическим синдромом, отмечает, что аллель T гена AGT встречался у пациентов с сочетанием АГ и метаболическим синдромом [72].

В более ранних исследованиях также предпринималась попытка анализа влияния полиморфизма гена AGT на поражение органов-мишеней при АГ. Наиболее частой аномалией сердца при АГ является гипертрофия левого желудочка (ГЛЖ). Однако интересен факт, что, несмотря на единые гемодинамические механизмы воздействия на миокард левого желудочка при повышении АД, в миокарде развиваются неодинаковые морфологические изменения у отдельных индивидов [33]. Предполагается роль наследственной предрасположенности реализации гипертрофии левого желудочка у больных АГ [96]. ГЛЖ является также важным фактором риска внезапной смерти и других сердечно - сосудистых осложнений и высокой смертности.

Вероятность развития ГЛЖ у лиц с нормальной массой тела составляет 5,5% [15].

Для ГЛЖ выявлен ряд общих с АГ генов-кандидатов, роль которых в развитии ГЛЖ и ее регресса на фоне лечения активно изучается, однако результаты исследований противоречивы, что, вероятнее всего, обусловлено популяционными различиями. Так, в китайской популяции у больных АГ с гомозиготным вариантом по Т-аллелю при эхокардиографии регистрировался значительно больший индекс массы миокарда левого желудочка, соответственно и более выраженная степень ГЛЖ, чем у носителей гетерозиготного и гомозиготного по М-аллелю М235Т полиморфизма [192]. Другие ассоциативные исследования, в том числе и в нашей стране [145] не подтвердили данный факт.

Исследуя Т174М полиморфизм гена АГТ, Ж.Д. Кобалава и др. [25] выявили ассоциацию М-аллеля и ММ-генотипа с гипертрофией левого желудочка у больных АГ. Мутацию Т174М связывают с повышением уровня ангиотензиногена в плазме, приводящее к сосудистому ремоделированию и, соответственно, к повышению артериальной жесткости [156]. Вопрос о связи артериальной жесткости и полиморфизма АГТ остается малоизученным.

А.И. Чернявина и др. показали, что частота встречаемости полиморфизма гена АГТ одинакова у пациентов с поражением артерий вне зависимости от наличия АГ [64]. Таким образом, полиморфизм Thr174Met гена АГТ может рассматриваться как маркер раннего сосудистого ремоделирования.

Связь состояния брахиоцефальных артерий (толщина комплекса интима-медиа) с полиморфизмом Т174М гена АГТ изучалась саратовскими учеными. В исследовании впервые выявлена ассоциация полиморфизма Т174М С>Т с увеличением толщины комплекса интима-медиа общих сонных артерий и, соответственно, ухудшением результатов когнитивных тестов [50].

Как известно, увеличение толщины комплекса интима-медиа является признаком атеросклеротического поражения сонных артерий, однако остается не до конца ясным, каким образом гены, кодирующие белки

нейрогуморальных систем, в том числе и ренин-ангиотензиновой системы, могут способствовать развитию атеросклероза. Можно предположить, что активация ренин-ангиотензиновой системы, ассоциированная с наличием аллеля Т гена AGT (полиморфизм T174M C>T), может приводить к формированию и прогрессированию дисфункции эндотелия, который играет чрезвычайно важную роль в развитии атеросклеротических изменений сосудистой стенки.

В литературе также найдены немногочисленные исследования о связи полиморфизмов гена AGT с риском рестеноза после чрескожной транслюминальной коронарной ангиопластики (ЧТКА). Исследования, изучавшие ассоциацию M235T и T174M полиморфизмами гена AGT с рестенозом после ЧТКА (без коронарного стентирования), продемонстрировали связь Т аллеля с рестенозом после повторных ЧТКА [74]. Таким образом, носительство аллеля Т полиморфизма M235T гена AGT может рассматриваться как независимый предиктор рестеноза после ЧТКА [67,189]. Однако полученные результаты противоречивы, и ряд исследователей подобную ассоциацию не выявили [174,177].

На современном этапе предпринимаются попытки оптимизировать и персонализировать лечение. Были получены данные о наличии различного эффекта ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента в зависимости от генотипа M235T гена AGT. Так, в исследовании H.Yu et al. (2005) при обследовании 251 больного с АГ, получавшего беназеприл, было отмечено более выраженное снижение диастолического АД у лиц старше 60 лет с генотипом M235M по сравнению с таковым у лиц с генотипом M235T и T235T [197]. Однако по данным М.Г. Андреевой и др. (2003) у больных с артериальной гипертензией коррекция АД достоверно лучше проходила у носителей ТМ генотипа и более эффективными оказались ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента, в то время как больные с генотипом ТТ лучше реагировали на β-блокаторы [3]. В то время как V. Kolovou et al. (2015), не выявили влияния полиморфизмов гена ангиотензиногена на

эффективность терапии рамиприлом [73]. Фармакогенетические аспекты терапии также изучены для эпросартана [63]. Анализ антигипертензивной эффективности эпросартана с учетом M235T-полиморфного маркера гена AGT показал, что препарат был высоко эффективным независимо от носительства различных генотипов M235T-полиморфного маркера гена AGT.

1.4.2. Ген эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS)

Одна из основных ролей в нарушении сосудистого тонуса и атеросклеротического поражения артерий при АГ – дисфункция эндотелиальных клеток. На сегодняшний день пока еще не сформулирована единая точка зрения о первичности нарушений функции эндотелия при АГ [104]. Часть авторов предполагает первичность эндотелиальной дисфункции (ЭД): ее наличие у лиц без АГ и отсутствие четкой корреляции с величиной АД [140]; другие авторы считают ее следствием АГ [104].

Кроме того, предполагают, что ЭД опережает структурную перестройку сосуда и клиническую симптоматику атеросклероза, что наиболее четко проявляется в коронарных артериях при ишемической болезни сердца и остром коронарном синдроме. Нарушение эндотелий – зависимой вазодилатации регистрировали у пациентов с факторами риска развития атеросклероза, а у лиц с ангиографически неизменными и малоизмененными артериями в ответ на эндотелий – зависимые стимулы в ряде случаев происходила вазоконстрикция [105]. На начальных стадиях коронарного атеросклероза сосудодвигательная функция эндотелия прогрессивно ухудшается вследствие селективного нарушения вазодилатации при гиперхолестеринемии до полной потери эндотелий – зависимой вазодилатации в артериях с ангиографически определяемым атеросклерозом [21,183]. Это предполагает потенциальную возможность для использования маркеров эндотелиальной дисфункции в качестве предикторов развития атеросклероза.

В настоящее время доказано, что эндотелий сосудов является важным эндокринным органом, он продуцирует антикоагулянтные и прокоагулянтные факторы, вазодилатирующие и вазоконстрикторные вещества, играя немаловажную роль в регуляции дилатации и констрикции сосудов, адгезиии тромбоцитов, росте гладкомышечных клеток сосудов.

Среди большого количества биологически активных веществ, синтезируемых эндотелием, важнейшим является оксид азота (NO). Открытие ключевой роли NO в сердечно–сосудистом гомеостазе было удостоено Нобелевской премии в 1998 г. Молекула NO очень лабильная, время ее полужизни составляет всего несколько секунд.

Недостаточному образованию NO придают определенное значение в патогенезе многих заболеваний. При АГ развивается эндотелиальная дисфункция на различных уровнях циркуляции периферического, коронарного и почечного кровотока. Хроническое ингибирование NO в эксперименте приводило ко всем органическим последствиям тяжелой и продолжительной АГ, прежде всего к развитию атеросклероза и сосудистым органным поражениям [91]. Эти экспериментальные данные подтверждают участие NO в регуляции АД, следовательно, его недостаток может способствовать гипертензии.

Образование оксида азота осуществляется группой ферментов –NO-синтаз (таблица 1). NO- синтаза принадлежит к семейству оксидоредуктаз. На сегодняшний день описано 3 изоформы NO-синтаз [159]:

- нейрональная изоформа (nNOS, NOS1) – наиболее активна в нейронах мозжечка и в астроглии – представляет собой гомодимер, состоящий из двух одинаковых субъединиц с молекулярной массой 160 кДа;
- макрофагальная или индуцибельная изоформа (iNOS, NOS2) – представляет собой гомодимер с молекулярной массой 130 кДа;
- эндотелиальная изоформа (eNOS, NOS3) – гомодимер с молекулярной массой 133 кДа. Последние годы обращается внимание на образование данной изоформы в эндотелии.

Эти ферменты своим аминокислотным составом гомологичны лишь на 50-60% и кодируются разными генами, находящимися в разных хромосомах [110]. Однако, эндотелиальная и нейрональная изоформы являются конституциональными разновидностями фермента, а индуцибельная NO – синтаза экспрессируется преимущественно при воспалении или инфекционном процессе [106].

Таблица 1 – Клетки, содержащие NO – синтазу

Клетки, содержащие NO-синтазу

Тип I	Тип II	Тип III
Нейроны	Макрофаги	Эндотелий
Эпителий бронхов	Мышечные клетки сердца человека	
Эпителий желудка	Гладкомышечные элементы сосудов	
Скелетные мышцы человека	Гепатоциты (кальмодулинзависимая)	
Фоторецепторы	Эпителий кишечника	
	Мегакарициты, кератиноциты	

Ген I типа NO – синтазы человека занимает регион 12q24.2–12q24.31 в хромосоме 12, ген II типа – 17q11 в хромосоме 17, а ген III типа – 7q35-7q36 в хромосоме 7.

Так как в реализации патобиохимических механизмов развития ССЗ играет ЭД, наибольший интерес в аспекте предрасположенности к ССЗ представляет ген, кодирующий эндотелиальную NO-синтазу (eNOS) [159].

К. Miyahara et al. описали 26 экзонов eNOS [160].

В экзонах и интронах гена эндотелиальной синтазы оксида азота выявлен ряд полиморфных участков: интрон 18 локус A27C, интрон 23 локус G10T, интрон 4 eNOS 4a/b полиморфизм, экзон 7 Glu298Asp полиморфизм (структурный), мутация T786-C в 5'-конце (промоторная область) гена eNOS.

Украинские ученые исследовали распространенность полиморфизма T786C промотора гена eNOS у больных острым коронарным синдромом в украинской популяции [180]. Было установлено, что среди данной категории лиц приблизительно втрое чаще встречался патологический генотип CC полиморфизма T786C гена eNOS. Авторами выдвинута гипотеза о возможной патогенетической роли данного полиморфизма в реализации острого коронарного синдрома в украинской популяции. Это предположение

было подтверждено экспериментальными данными. В эксперименте было показано снижение активности промотора гена eNOS более чем на 50% при наличии аллеля С в положении 786, что способствует развитию ЭД в условиях недостаточной продукции NO [195].

Патологические генотипы СС и ТС промотора гена eNOS связаны с повышенным тонусом коронарных артерий, склонностью к коронарному спазму и атипичной реакцией коронарных артерий на введение ацетилхолина, что может являться основой для развития ИБС и острого коронарного синдрома [113]. Показано, что полиморфизм T786C промотора связан с повышенным риском рестеноза после стентирования коронарных артерий [165], также ассоциация с рестенозом стента доказана для полиморфизма гена eNOS - Glu298Asp [191]. Однако, в работе Н. Horibe et al. (2004) исследуемая ассоциация выявлена не была [123].

Согласно данным мета-анализа, проведенного по результатам 7 исследований, распространенность гомозигот СС промотора гена eNOS среди здорового азиатского населения составила 1,1%, в то время как среди неазиатского населения – 15,36%. Однако данные литературы относительно роли этого полиморфизма в развитии ИБС и ее острых проявлений противоречивы [190].

С.А. Тихонова и др. проанализировали встречаемость разных аллельных вариантов гена eNOS среди украинской молодежи с разным уровнем риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. Их данные статистически значимых различий между частотой СС- и ТС-вариантов в украинской популяции не выявили, но наличие данных генотипов ассоциировалось с нарушением сосудистого тонуса у молодых лиц больных артериальной гипертензией [61]. Подобное распределение генотипов отмечено и в Белоруссии при обследовании здоровых молодых мужчин [57].

Популяционное исследование, проведенное в 9 разных регионах Великобритании, показало наибольшее распространение гетерозигот полиморфизма T786C промотора гена eNOS, в то время как

распространенность нормальных и патологических гомозигот составила 37,7 и 14,5% соответственно. В противовес полученным данным, результаты наблюдения длительностью 8 лет с включением 2965 исследуемых, представленные J. S. Kim et al. (2007), не выявили влияние полиморфизма промотора гена eNOS на частоту развития ИБС [114].

Частота вариантов ТТ-, ТС-, СС-промотора в положении 786 у итальянцев приблизительно совпадает с таковой в Великобритании. При этом риск развития ИБС был достоверно выше среди носителей гомозигот СС. Было показано, что носительство патологического аллеля С является фактором риска ИБС, а среди больных ИБС у носителей патологического аллеля отмечалось более выраженное поражение коронарных артерий (верифицировано результатами коронароангиографии) [77]. Генотип СС также выявлялся вдвое чаще у больных, прооперированных по поводу стеноза внутренней сонной артерии, причем наибольшая частота патологического генотипа в этой группе отмечалась среди лиц с нестабильной бляшкой в сонной артерии [112,137].

Среди испанцев частота патологических гомозигот СС у испанцев в возрасте до 60 лет составила 14,3%, а у курящих мужчин в возрасте до 50 лет, страдающих ИБС, данный генотип выявлялся у 21,8% пациентов [143].

Таким образом, результаты проведенных исследований позволили оценить прогностически неблагоприятную роль генотипа СС промотора гена eNOS в генезе атеросклероза в условиях влияния неблагоприятных факторов внешней среды (курения).

В исследовании M.E. Hyndnan et al., проведенного в Канаде и включавшего 750 мужчин среднего возраста без ИБС в анамнезе, соотношение разных вариантов генотипов (ТТ, ТС, СС) промотора гена eNOS было близким к таковому у европейцев и распределялось соответственно 38,9; 46,1 и 15,0% [109]. При этом АГ и достоверно более высокие значения систолического АД выявляли у лиц с генотипом СС, что

позволило авторам рассматривать генотип CC промотора гена eNOS как фактор развития АГ.

В японской популяции среди здоровых лиц частота аллеля C, по данным исследования Suita et al., достаточно низкая (20,2% населения), а патологических гомозигот (CC) – около 1% всего населения [85]. В то время как у больных острым инфарктом миокарда распространенность разных вариантов промотора не отличалась от таковой в западной популяции, что позволило сделать вывод об отсутствии роли этого полиморфизма в патогенезе острого инфаркта миокарда у японцев [85]. Напротив, в исследовании M. Nakayama et al. мутация T786C ассоциировалась с коронаростазом и чаще выявлялась у больных острым инфарктом миокарда, особенно без верифицированного стенозирующего атеросклероза [188].

Полиморфизм в интроне 4 представлен двумя аллелями, состоящими из 4 (аллель 4a) или 5 (аллель 4b) тандемных повторов. Полиморфизм не является структурным. Анализ частот аллелей данного полиморфизма у пациентов с эссенциальной гипертензией в японской популяции выявил достоверно большую распространенность аллеля a [141], в том числе и среди пациентов с АГ и гипертрофией левого желудочка. Идентичная ситуация в японской популяции выявлена для аллеля 298Asp у больных АГ по сравнению со здоровой когортой [167].

В наиболее крупном исследовании H. Zhu et al. (2005) [138], проведенном в Соединенных Штатах Америки среди 579 подростков как негроидной, так и европеоидной расы (период наблюдения составлял 15 лет), выявлена ассоциация полиморфизма гена eNOS (интрон 4 eNOS 4a/b, Glu298Asp) с развитием АГ, причем эта взаимосвязь различалась в зависимости от гендерных и возрастных особенностей. Так, генотип aa полиморфизма eNOS 4a/b коррелировал с более низким диастолическим АД у мужчин, но более высоким диастолическим АД у женщин. У лиц с bb генотипом регистрировалось двукратное снижение уровня базального NO,

при этом выявлена ассоциация этого аллеля с ГЛЖ у больных эссенциальной АГ [13,46].

Colombo et al. показали, что генотип aa (4/4) сочетается с артериальной гипертензией, снижением эластичности сосудистой стенки и ГЛЖ.

Ассоциативное исследование Д.А. Чистякова и др. показано связь генотипов 4a/4a и 4a/4b с ИБС при достоверно большей распространенности аллеля 4a в популяции [51].

Подобные данные получены Ю.В. Котовской и др. у жителей Москвы. Исследователями показана ассоциация 4a/4b полиморфизма гена eNOS с риском развитием ИМ и острого нарушения мозгового кровоснабжения у больных сахарным диабетом (СД) 2 типа и АГ; при этом маркерами риска являются аллель 4a и генотипы, его содержащие [49].

Таким образом, минисателлит eNOS 4a/4b ассоциирован с ИБС и ишемической болезнью мозга в московской популяции.

В то же время, несколько исследований связь 4a/4b полиморфизма гена eNOS с риском развития ИБС, ИМ и ишемического инсульта не выявили [146].

В российской популяции Г.А. Силеверстовой и др. была продемонстрирована взаимосвязь ТТ варианта полиморфизма T786C гена eNOS с ремоделированием миокарда. Показано, что наличие в генотипе варианта ТТ гена NOS является также неблагоприятным маркером ГЛЖ и увеличения размеров левого предсердия [48].

В московской популяции у пациентов с АГ носители гомозиготного варианта Glu/Glu полиморфизма Glu298Asp по данным эхокардиографии регистрировалась более выраженная ГЛЖ, причем эта ассоциация была статистически достоверной только для группы больных с нормальным уровнем альдостерона крови.

Таким образом, в последние десятилетия появились первые работы о связи полиморфизма гена eNOS с поражением органов-мишеней при АГ [44], однако попытки связать структурную организацию этого гена с наличием

ремоделирования стенки крупных сосудов при АГ пока не привели к успеху [160]. Несмотря на множество интересных фактов генного полиморфизма eNOS, связь мутаций с развитием и прогрессированием атеросклероза, а также с генетической предрасположенностью к нему пока остается предположением, требующим дальнейшего изучения.

1.4.3. Ген эндотелина-1 (EDN1)

В последние годы резко увеличился интерес к семейству эндотелинов (ЕТ) – группе изопептидов, которые играют одну из центральных ролей в генезе патологий вазокардиального профиля. Известны: эндотелин-1 (ЕТ-1) и две его изоформы (ЕТ-2 и ЕТ-3). ЕТ-1 в большинстве случаев образуется в эндотелиальных клетках и является одним из важнейших регуляторов функционального состояния эндотелия [17].

ЕТ-1 представляет собой крупный бициклический полипептид, состоящий из 21 аминокислотного остатка с двумя внутримолекулярными дисульфидными связями. Внутри человеческого генома каждый из эндотелинов представлен отдельным геном, кодирующим специфический предшественник для зрелой изоформы. В гене имеются специальные участки связывания различных субстратов, регулирующих экспрессию эндотелинов.

Основными физиологическими эффектами эндотелина являются системная и лёгочная вазоконстрикция, положительный хроно- и инотропный эффект, в отдельных случаях возможна бронхоконстрикция, а также участие в регуляции почечного кровотока [95]. Эндотелин, как правило, секретируется из той части эндотелия, где расположены чувствительные к нему ЕТ А-рецепторы. Меньшая часть, взаимодействуя с рецепторами ЕТ В-типа, стимулирует синтез NO. Эндотелин изучался при различных сосудистых патологиях: ИБС, ИМ, атеросклеротическом повреждении сосудов [178], АГ, преэклампсии и эклампсии, почечной васкулярной патологии, ишемических повреждений мозга, неинфекционных легочных заболеваний, сахарном диабете. Кроме того, клинические

исследования подтвердили достоверное повышение уровня эндотелина у больных с врожденными пороками сердца, хроническими неспецифическими заболеваниями легких, первичной легочной гипертензией и резидуальной легочной гипертензией после радикальной хирургической коррекции пороков сердца. Так, микроинъекции эндотелина-1 нормотензивным крысам приводили к повышению артериального давления и систолического давления в левом желудочке. У пациентов с острым ИМ уровень эндотелина-1 служит предиктором исхода заболевания [17].

Ген EDN1, кодирующий эндотелин-1, находится на хромосоме 6p24-23. Хорошо изучено влияние однонуклеотидного полиморфизма этого гена, приводящего к замене аминокислот лизина (Lys) на аспарагин (Asn) в положении 198 полипептидной цепи (G → A), на развитие АГ и ее осложнений [16,88,111].

Для носителей аллеля Asn характерен более высокий уровень эндотелина-1 в плазме, в то время как генотип LysLys ассоциирован с наименьшим уровнем эндотелина-1. Также показана связь полиморфизма Lys198Asn EDN1 с риском развития хронической сердечной недостаточности [117].

Большое количество исследований показало, что плазменные уровни циркулирующего эндотелина-1 существенно повышены у пациентов с кардиальным синдромом Х. Более того, была обнаружена прямая связь между уровнем эндотелина-1 и нарушением коронарных сосудистых реакций у этих пациентов [47,99].

Tanaka et al. показали на культурах клеток, что полиморфизм Lys198Asn не влияет на уровень содержащегося в клеточном супернатанте эндотелина-1 и его предшественников, но содержание пептида в крови больных гипертензией, имеющих генотип TT было существенно выше, чем у больных с генотипом GG. Кроме того, наличие хотя бы одного аллеля T является фактором риска более низкого уровня липопротеидов высокой плотности,

что может служить дополнительным фактором в патогенезе атеросклероза и ИБС [101].

При обследовании ставропольской популяции выявлена отчётливая тенденция к повышению уровня эндотелина-1 в плазме у курящих пациентов старше 50 лет с ИМ в анамнезе и гиперхолестеринемией. Уровень эндотелина-1 в плазме существенно зависел и от варианта полиморфизма его гена: в частности, гомозиготность по аллелю Lys гена EDN1 характеризовалась содержанием эндотелина-1 в 1,5 раза большим, чем при генотипах Lys/Asn и Asn/Asn [69].

В немногочисленных исследованиях продемонстрирована корреляция данного полиморфизма Lys198Asn с индексом массы тела и уровнем АД у европейцев, страдающих ожирением [41]. В то же время, S. Wiltshire et al., проводя исследование среди австралийцев, не обнаружили ассоциации между данным полиморфизмом и риском развития гипертонии, резистентности к инсулину, метаболическим синдромом и атеросклерозом коронарных сосудов [139].

Наряду с ассоциациями повышенного уровня эндотелина с различными заболеваниями сердечно - сосудистой системы было показано, что эндотелин-1 является стимулятором гипертрофии миокарда и сосудистой стенки и принимает участие в реализации гипертрофического ответа на гемодинамические стимулы [115]. Единичные исследования практически здоровых лиц, проживающих в условиях Европейского Севера, выявили взаимосвязь генотипа ТТ с гипертонической реакцией на нагрузку и периферической вазоконстрикцией [32]. Влияние структурного полиморфизма гена эндотелина на ГЛЖ у больных ГБ пока не изучалось, в то же время имеются указания на более выраженную ГЛЖ у больных гипертрофической кардиомиопатией, носителей АА- и АG-генотипа в сравнении с GG [41].

Противоречивость данных исследований в различных популяциях требует дальнейшего исследования полиморфизмов гена эндотелина-1 на больших когортах исследуемых.

1.4.4. Ген тромбоцитарного гликопротеина Ib α -субъединицы (GPIb α)

Эндотелий стенки кровеносных сосудов, в том числе, является одним из звеньев системы гемостаза, нарушения в которой могут приводить в эндотелиальной дисфункции.

Рецепторы тромбоцитов представляют собой гликопротеины мембраны, большинство из которых относятся к семейству так называемых интегринов.

Посредством тромбоцитарного гликопротеина осуществляется взаимодействие тромбоцитов со стенкой поврежденного сосуда и атеросклеротической бляшкой, и, таким образом, повышается способность тромбоцитов к агрегации, что увеличивает риск инфаркта миокарда и инсульта [34].

Гликопротеин Ib (GPIb) – мембранный белок I типа кровяных пластинок, гетеродимер, состоящий из двух цепей: GPIb- α и GPIb- β , соединенных дисульфидной связью. Гликопротеин Ib входит в состав гликопротеинового комплекса GPIb/IX/V, который является продуктом четырех генов. Один из четырех генов – ген GPIb α , локализованный на коротком плече 17 хромосомы, кодирует α -субъединицу гликопротеина Ib, который в комплексе с GP-V и GP-IX образует уникальный тромбоцитарный рецептор GPIb/IX/V, основным лигандом которого является фактор Виллебранда (vWF).

К настоящему времени описано три различных полиморфизма гена GPIb α . Первый из них заключается в различном числе tandemных повторов (VNTR – variable number of tandem repeats) из 39 пар нуклеотидов, которые кодируют последовательность 13-ти аминокислот, входящих в состав N-концевого участка GPIb α (так называемого муциноподобного

макрогликопептида). Идентифицировано 4 аллеля VNTR (A, B, C, D), включающих 4, 3, 2 и 1 повтор соответственно из 39 пар нуклеотидов.

Результатом этого полиморфизма является возможность образования 4-х изоформ GPIIb с различной молекулярной массой [121].

Полиморфизм С434Т в кодирующей части GPIIb приводит к аминокислотной замене треонина на метионин в позиции 145 этого полипептида –Thr145Met.

Еще один полиморфный локус, расположенный в 5'-нетранслируемой области, приводит к нуклеотидной замене тимидина на цитозин в положении -5 (Т>С). Данная позиция затрагивает консенсус-последовательность Kozak, определяющую эффективность процесса трансляции матричной РНК. Как следствие, у носителей аллеля С уровень синтезируемого GPIIb, а также его плотность на тромбоцитарной мембране, оказываются выше, чем у лиц, не содержащих в генотипе данный вариант, что делает его наиболее привлекательным для изучения генетической ассоциации с острым коронарным синдромом.

Однако, немногочисленные работы не показали связь данных полиморфных локусов с острым коронарным синдромом [120].

Исследование частот встречаемости аллелей и генотипов VNTR-локуса гена GPIIb в исследуемой популяции г. Новосибирска показало увеличение частоты встречаемости аллеля D и снижение частоты встречаемости аллеля B по сравнению с европейскими популяциями. Наиболее близкое к Новосибирской популяции распределение частот встречаемости аллелей наблюдается у белых жителей США, что может отражать смешение генофондов разных рас, активно происходящее, как в Соединенных Штатах Америки, так и в Новосибирской области. В то время как гаплотип, содержащий аллель VNTR A, крайне редко встречается у лиц европеоидной расы [24].

В различных европейских популяциях носительство аллеля 434Т (HRA-2b) наблюдается у 10-15% жителей. В некоторых исследованиях показано,

что этот полиморфный аллельный вариант ассоциирован с риском развития острого инфаркта миокарда и ишемического инсульта, особенно у лиц молодого возраста или/и с положительным семейным анамнезом артериального тромбоза.

В нескольких исследованиях выявлена ассоциация между полиморфизмом Thr145Met GPIIb α и ИМ. Однако, в другие немногочисленных исследования данные результаты не подтвердили. Дальнейшее изучение данного вопроса реализовалось в предположение об ассоциации полиморфизма Thr145Met GPIIb α с ИМ только у лиц с дислипидемией. Так, T. Yoshida et al. (2007) в японской популяции провели многофакторный регрессионный анализ 164 полиморфизмов 137 генов-кандидатов факторов риска ИМ, показав наличие ассоциаций 7 полиморфизмов с факторами риска развития ИМ. Было выявлено, что полиморфизм GPIIb α Thr145Met связан с ИМ у лиц с высоким уровнем холестерина и низким уровнем триглицеридов [89]. Также было выявлена достоверная ассоциация полиморфизма Thr145Met GPIIb α с предрасположенностью к тромботическим заболеваниям у курящих и лиц молодого возраста.

Полиморфизм -5 T>C в гене GPIIb α (α -глобула) в исследовании P. MacCallum et al. был ассоциирован с сосудистыми заболеваниями, в том числе и с развитием ишемического инсульта [152,181]. Мета-анализ трех исследований выявил ассоциацию полиморфизма Kozak с риском развития инсульта [120]. В то же время, по данным R. Gonzalez-Conejero et al. распределение аллельного варианта C434T среди пациентов с венозным тромбозом сопоставимо со здоровыми лицами.

В целом, нужно отметить, что к настоящему времени имеются единичные исследования, изучавшие распространенность полиморфных вариантов гена GPIIb α у лиц с различными клиническими проявлениями артериального и венозного тромбоза, что не позволяют делать окончательные

выводы о роли этого полиморфизма в патогенезе тромбоэмболических заболеваний [24].

Предпринимались попытки изучения ассоциации данных полиморфизмов рестенозом в стенке, однако, достоверно значимых взаимосвязей выявлено не было [132], что требует дальнейшего изучения.

1.4.5. Ген липопротеиновой липазы (LPL)

Известно, что дислипидемия, преимущественно за счет атерогенных фракций липидов, является фактором риска развития атеросклероза и прочих сердечно - сосудистых патологий.

Одним из ключевых ферментом метаболизма липидов является липопротеиновая липаза. Липаза липопротеинов – это гликопротеин, состоящий из двух доменов. N-концевой домен обладает каталитической активностью и содержит участок связывания кофактора - аполипопротеина С II, тогда как С-концевой домен фермента отвечает за связывание субстрата. Для осуществления липолитической активности липаза липопротеинов образует гомодимер, в котором С - концевой домен одной субъединицы взаимодействует с N-концевым доменом другой субъединицы.

Липопротеиновая липаза синтезируется адипоцитами, миоцитами в скелетных и в сердечной мышцах, макрофагами. После секреции липопротеиновая липаза транспортируется на поверхность эндотелиальных клеток капилляров, прикрепляется к гепарин-сульфат протеогликанам, взаимодействует с хиломикронами и липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП) в кровотоке, опосредуя гидролиз их триглицеридов с образованием свободных жирных кислот для использования тканями. Жирные кислоты сохраняются в виде триглицеридов в адипоцитах и используются в качестве источника энергии в мышцах и для синтеза триглицеридов при образовании печеночных ЛПОНП [29]. Снижение активности липопротеиновой липазы сопровождается повышением уровня триглицеридов и снижением уровня холестерина липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), оба этих состояния

являются факторами риска ССЗ. Кроме того, активность липопротеиновой липазы связана с регуляцией энергетического баланса, массы тела и действия инсулина. Таким образом, генетические изменения, снижающие активность липопротеиновой липазы, могут повышать предрасположенность к атеросклерозу и ССЗ, влиять на предрасположенность к СД 2-го типа, АГ и ожирению [130].

Ген липопротеиновой липазы (LPL) расположен на хромосоме 8p22, состоит из 10 экзонов и кодирует предшественник фермента длиной 474 аминокислот.

Известны несколько мутаций гена LPL. Самая распространенная мутация встречается у 16 - 22 % населения. Это точечная мутация замены нуклеотида цитозина на гуанин 1595 C>G (Ser447Stop), которая приводит к образованию стоп - кодона на месте серина-447, и, таким образом, синтезируется сокращенная копия фермента. Полиморфный маркер Ser447Ter находится в экзоне 9. Наличие аллеля 447Ter, приводящего к потере двух С - концевых аминокислот, связано с повышением каталитической активности липазы липопротеинов и, как следствие, к 8%-ному снижению среднего уровня триглицеридов в плазме крови [150].

Недавний масштабный мета-анализ 89 исследований выявил общую защитную роль носительства аллеля Ter447 гена LPL по отношению к раннему развитию ИБС. Показано, что мутация 1595 C>G является маркером пониженного риска инфаркта [166]. Также обнаружено, что аллель G связана со снижением уровня триглицеридов [148].

Французские ученые при изучении полиморфизма Ser447Ter гена LPL выявили ассоциативную связь аллеля 447Ter с низким уровнем триглицеридов и ЛПОНП. В японском исследовании носительство генотипа 447Ter явилось протективным фактором в развитии ишемических инсультов с уменьшением частоты событий в 2 раза [166].

Ассоциация полиморфного маркера Ser447Ter гена LPL с сосудистыми патологиями в российской популяции была исследована Ю.В. Агапкиной и

др. В исследовании не было выявлено ассоциации данного полиморфизма с развитием неблагоприятного исхода у больных, перенесших острый коронарный синдром [1].

Кроме этого исследовались и другие полиморфизмы гена LPL (T-93G (rs1800590), D9N (rs1801177), G188E, N291S (rs268), PvuII (rs285), HindIII (rs320), S447X (rs328) и другие.

Распространенность второго по значимости полиморфизма N291S (A>G) составляет 3-5%. Было показано, что вариант N291S гена LPL (генотип S+) характеризуется развитием атерогенной дислипидемии, характеризующейся повышенным уровнем триглицеридов и пониженным уровнем ЛПВП, увеличивая риск развития ИБС и инсультов [7]. Причем, риск развития ИМ почти в 3 раза превышает аналогичные показатели для носителей не мутантных A/A или гетерозиготных A/G генотипов полиморфных вариантов N291S гена LPL. Гетерозиготный вариант A/G N291S проявляет выраженные защитные свойства, уменьшая вероятность развития ССЗ. Кроме того, данный генотип определяется у 70% долгожителей (старше 90 лет), что свидетельствует о его позитивном вкладе в прогноз жизни человека.

В исследовании REGRESS было показано, что у носителей D9N (Asp9→Asn) в семейном анамнезе чаще встречались сердечно-сосудистые заболевания, высокий уровень триглицеридов и сниженный уровень холестерина ЛПВП. В другом исследовании у мужчин до 50 лет носительство D9N было тесно связано с ранними сердечно-сосудистыми событиями, включая инфаркт миокарда.

Результаты исследования GOLD, в котором участвовали пациенты с СД 2-го типа показали значительно частую встречаемость генотипа DN гена LPL и аллеля N у пациентов, перенесших ИМ, чем у пациентов без такового [97,130,166]. Исследование пациентов с ангиографически подтвержденной коронарной болезнью сердца продемонстрировало ассоциацию варианта 291S с повышенным в 2,8 раза риском коронарной болезни сердца [149]. Другое исследование среди пациентов с ИБС и здоровых доноров,

проводимое во Франции, показало, что вариант 291S также ассоциирован с повышенной степенью атеросклероза коронарной артерии [86]. На основании этого был сделан вывод о том, что полиморфизм D9N гена LPL может служить маркером повышенного риска инфаркта миокарда.

У якутов, больных ишемическим инсультом, связь между развитием заболевания и наличием аллеля +495G(H-) полиморфизма HindIII гена LPL, детерминирующим возрастание концентрации триглицеридов, определялась только у женщин. У японцев, китайцев, финнов выявлено, что при увеличении частоты аллеля G полиморфизма C1595G гена LPL возрастает концентрация липопротеинов высокой плотности [19].

1.4.6. Ген аполиipoproteина E (APOE)

Аполиipoprotein E (APOE) представляет собой 299-аминокислотный гликопротеин плазмы, связанный с ЛПНП, ЛПОНП и ЛПВП. APOE играет несколько ролей в регуляции уровня липидов и липопротеинов в крови. Он служит в лигандом для семейства рецепторов ЛПНП и участвует в удалении ЛПНП и хиломикроннов из кровяного русла. APOE также влияет на активность других связанных с липидом метаболизма белков и ферментов, таких как липаза печени и липопротеин липаза. Новое исследование показало, что изоформные функции APOE могут выходить за пределы метаболизма липидов, включая поддержание нормальной функции головного мозга. Ориентация на APOE может быть потенциальным подходом к диагностике, оценке риска, профилактике и лечению различных заболеваний, в том числе сердечно-сосудистых.

Ген APOE, размером 3,7 кб, расположен на 19q13.2 хромосоме вместе с генами APO C1, C2, и недалеко от гена рецептора ЛПНП. Он содержит четыре экзона и три интрона, всего 3,597 пар оснований в кластере с аполиipoproteином C1 и аполиipoproteином C2. Были идентифицированы несколько человеческих SNP в гене APOE человека. В частности, два SNP, rs7412 (C/ T) и rs429358 (C/T), отвечают за три основных аллеля: epsilon-2

($\epsilon 2$), epsilon-3 ($\epsilon 3$) и epsilon-4 ($\epsilon 4$). Поскольку человеческие клетки имеют две копии каждого гена, существует шесть генотипов АРОЕ: $\epsilon 2 / \epsilon 2$, $\epsilon 2 / \epsilon 3$, $\epsilon 2 / \epsilon 4$, $\epsilon 3 / \epsilon 3$, $\epsilon 3 / \epsilon 4$ и $\epsilon 4 / \epsilon 4$. Они отвечают за три гомозиготных ($\epsilon 2 / \epsilon 2$, $\epsilon 3 / \epsilon 3$ и $\epsilon 4 / \epsilon 4$) и три гетерозиготных ($\epsilon 2 / \epsilon 3$, $\epsilon 2 / \epsilon 4$ и $\epsilon 3 / \epsilon 4$) генотипа. Три основные белковые изоформы: АРОЕ2, АРОЕ3, и АРОЕ4, отличаются друг от друга только одной или двумя аминокислотами в положениях 112 и 158. Эти различия изменяют структуру и функцию АРОЕ соответственно.

Предполагается, что АРОЕ4 получен из АРОЕ3 заменой цистеин-аргинин (Cys \rightarrow Arg) в положении 112 и обозначается как E4 (Cys112 \rightarrow Arg). До сих пор были описаны три формы АРОЕ2: E2 (Arg158 \rightarrow Cys), E2 (Arg145 \rightarrow Cys) и E2 (Lys146 \rightarrow Gln). Сообщается, что АРОЕ2 (Arg158 \rightarrow Cys) является наиболее распространенным из $\epsilon 4,5,6$. АРОЕ1 содержит Cys вместо Arg в положении 158, аналогично АРОЕ2, а также дополнительную аминокислотную замену, которая, вероятно, не имеет какое-либо функциональное значение. Помимо этих общих полиморфизмов были описаны еще несколько мутаций. АРОЕ3 является наиболее распространенной изоформой, тогда как АРОЕ4 и АРОЕ2 менее часто наблюдаются. Аллель АРОЕ $\epsilon 3$ присутствует в 79% всей популяции, тогда как АРОЕ $\epsilon 4$ присутствует только в 13,3% и АРОЕ $\epsilon 2$ у 7,3% населения [186]. Кроме того, существует два редких аллеля гена, $\epsilon 1$ и $\epsilon 5$, их распространенность $<0,1\%$ в популяции. Частоты наиболее распространенных аллелей АРОЕ в разных популяциях по всему миру показывают, что климато-географические условия, социально-экономическая изоляция, генетический дрейф отвечают за формирование спектра генетических вариаций АРОЕ.

АРОЕ $\epsilon 2$ изучали при нарушениях, связанных с повышенными уровнями холестерина или липидными нарушениями, такими как гиперлипидемия III типа, ишемическая болезнь сердца, инсульт, болезнь периферических артерий и сахарный диабет [82], что позволило использовать АРОЕ $\epsilon 2$ как важный диагностический маркер ССЗ. АРОЕ $\epsilon 4$

является основным генетическим фактором риска развития нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера и болезнь Паркинсона [70,79,142], однако, эпидемиологические исследования также показали прямую связь между APOE 4 и ССЗ.

В исследовании, проведенном среди мужчин среднего возраста, было продемонстрировано, что 40% популяции несущих $\epsilon 4$ имели повышенный риск смертности от ССЗ по сравнению с мужчинами, имевшими генотипы $\epsilon 3/\epsilon 3$ или $\epsilon 2$ [172]. Некоторые исследования связывают аллель $\epsilon 4$ с большим риском развития ишемической болезни сердца и инфаркта миокарда [83].

Показано, что более высокая частота $\epsilon 4$ была связана с более высокими уровнями холестерина и более высокими показателями ССЗ в Финляндии, Шотландии и Северной Ирландии [84].

Полиморфизм гена APOE также влиял на риск развития инфаркта миокарда у лиц старше 45 лет русской и татарской популяций [45]. Кроме того, повышенный риск ССЗ также был связан с аллелем $\epsilon 2$.

Отчет о частоте генотипов APOE и связанных с ними ССЗ показал, что среди американских индейцев, азиатов и мексиканских американцев самая высокая частота носительства $\epsilon 3$ ($> 84\%$), в то время как среди африканцев и афроамериканцев отмечена самая высокая частота носительства $\epsilon 4$ (20,1% и 31%, соответственно).

Афроамериканцы и кавказцы (кроме финнов) представили когорту с самой высокой частотой $\epsilon 2$ (7,3% -13,1%) [82].

Среди долгожителей распространенность $\epsilon 4$ аллеля APOE значительно меньше по сравнению с молодыми [116]. Вероятно, это объясняется ассоциацией аллеля $\epsilon 4$ APOE с высоким риском развития социально значимых заболеваний, прежде всего ИБС, обуславливающих высокую смертность населения. В противовес $\epsilon 4$ аллелю у долгожителей наблюдается высокая распространенность $\epsilon 2$ аллеля [182], что позволяет рассматривать $\epsilon 2$ аллель как маркер долголетия.

Показана четкая ассоциация $\epsilon 4$ аллеля гена АРОЕ с ИБС у лиц моложе 40 лет, причем сочетание аллеля $\epsilon 4$ гена АРОЕ с курением ухудшает прогноз и обуславливает риск раннего развития ИБС [80].

Литературные данные отражают частоту аллеля $\epsilon 4$ в Японской популяции вдвое ниже, нежели в европейской популяции. Принимая во внимание низкую распространенность ИБС и низкий уровень холестерина крови в восточной популяции, в совокупности с медико-генетическими данными предполагается негативная предиктивная роль аллеля $\epsilon 4$ в генезе ССЗ. Данное предположение подтверждает и распространенность аллеля $\epsilon 4$ у аборигенов Австралии, где регистрируется высокая заболеваемость ИБС. Там частота аллеля $\epsilon 4$ в 2 раза выше, чем в Западной Европе [78].

В многочисленных исследованиях, изучавших ассоциации полиморфизмов АРОЕ с атеросклерозом коронарных артерий, получены противоречивые результаты. Так, в исследовании van Vockxmeer и Mamotte (1992) у 5 из 19 австралийских мужчин в возрасте от 30 до 50 лет, которые были направлены на коронарную ангиопластику (26%), наблюдали гомозиготность по $\epsilon 4$ аллелю, что представляло собой 16-кратное увеличение его частоты в сравнении с контрольной группой.

В большой когорте пациентов с ангиографически верифицированным стенозирующим атеросклерозом Ye et al. (2003) показали, что аллель АРОЕ -219Т и аллель $\epsilon 4$ оказывают независимое влияние на тяжесть коронарной болезни. Выявлена прямо пропорциональная зависимость частот аллелей $\epsilon 4$ и аллеля -219Т с количеством пораженных артерий. Полученные данные свидетельствуют о том, что полиморфизмы -219Т и $\epsilon 4$, влияют на количество и качество АРОЕ соответственно и оказывают независимое, а, возможно, и аддитивное влияние на тяжесть ИБС [136].

Однако, Payne et al. (1992), O'Malley et al. (1992) и de Knijff et al. (1992) высказали сомнения относительно взаимосвязи между аллелем $\epsilon 4$ АРОЕ с атеросклерозом.

Молекулярно-генетические исследования с целью подбора персонализированной схемы лечения оценивали ответ на проводимую липидснижающую терапию (диетотерапия, статины) у лиц с различными аллелями гена APOE. При этом, аллель $\epsilon 2$ гена ассоциировалась с плохим ответом на диетотерапию, что обуславливало применение медикаментозной коррекции липидного профиля у данной категории исследуемых. В то время как эффективность диетотерапии у носителей аллеля $\epsilon 4$ оказалась максимальна [81]. Таким образом, очередной раз высказана гипотеза о прогностической роли аллеля $\epsilon 4$ гена APOE в развитии ИБС и может служить маркером ее предрасположенности.

Leu28Pro полиморфизм гена APOE (ApoE4Freiburg) впервые описан M. Orth et al. (1999) является одним из наименее изученных среди мутаций аполипопротеина E [153].

Исследования по Leu28Pro полиморфизму гена APOE немногочисленны и в основном направлены на анализ их ассоциации с нарушением липидного обмена. У лиц, предрасположенных к функциональным отклонениям в работе сердечно – сосудистой системы, отмечена более высокая частота «мутантной» 28Pro аллели, чем в случайных выборках населения. При наличии 28Pro риск развития ИБС повышается в 5,3 раза, а при совместном наследовании 28Pro аллеля гена APOE и его изоформы APOE4 - более чем в 20 раз [38].

В последнее время было обнаружено, что с предрасположенностью к атеросклерозу, помимо полиморфизма в кодирующей области гена APOE, также может быть связана вариабельность структуры его промотора, в частности полиморфизма промоторной зоны -491A/T. По результатам первых исследований он связан с развитием инфаркта миокарда и нейродегенеративными заболеваниями [135].

Полученные на сегодня результаты свидетельствуют о специфичности связи полиморфизмов гена APOE с ССЗ в разных популяциях и этнических группах, проживающих в специфических социально-экономических и

климатогеографических условиях, обуславливают актуальность изучения данного вопроса и требуют дальнейшего изучения.

1.4.7. Ген рецептора к глюкагону (GCGR)

Глюкагон для гепатоцитов служит внешним сигналом о необходимости выделения в кровь глюкозы за счёт распада гликогена (гликогенолиза) или синтеза глюкозы из других веществ – глюконеогенеза.

Глюкагон оказывает своё специфическое действие через рецепторы. Рецепторы к глюкагону, изолированные из плазматических мембран печени крысы, относятся к гликолипопротеидам (молекулярная масса около 190 000 D) и состоят из нескольких субъединиц (молекулярная масса около 25 000 D).

Способность рецепторов к глюкагону взаимодействовать с соответствующим гормоном непостоянна и зависит от нескольких факторов. Связывание глюкагона с рецепторами уменьшается при гиперглюкагонемии, вызванной длительным голоданием, инсулиновой недостаточностью или экзогенным введением глюкагона. Однако, несмотря на такую обратную регуляцию, процесс активирования аденилатциклазы под влиянием глюкагона не изменяется. Это состояние достигается тем, что оставшиеся рецепторы приобретают повышенную способность к комплексованию с гормоном.

К настоящему времени установлена роль глюкагона в патогенезе БА. При изучении его содержания в периферической крови у больных БА Ю.А. Ландышевым и др. (2013) была установлена тенденция к повышению его уровня, возрастающего по мере увеличения степени тяжести БА [31]. По ряду причин данное явление можно считать компенсаторным. Во-первых, глюкагон увеличивает чувствительность β -адренорецепторов, опосредующих влияние катехоламинов, что особенно актуально при БА, так как с утяжелением ее течения прогрессирует блокада вышеуказанных рецепторов. Во-вторых, глюкагон повышает чувствительность к стимуляции

катехоламинами клеточной аденилатциклазы, реализующей эффекты адреналина и норадреналина на уровне различных тканей, в том числе, их бронхолитический эффект. В-третьих, обладая гликолитической активностью, стимулируя глюконеогенез, глюкагон обеспечивает организм энергетическими ресурсами, потребность в которых возрастает по мере утяжеления течения бронхиальной астмы.

В 1994 году Lok et al. выделили ДНК, кодирующую рецептор глюкагона человека из ДНК клеток печени сочетанием полимеразной цепной реакции и гибридизации колоний. Они обнаружили, что последовательность белка представлена 477 аминокислотами, данный белок на 80% идентичен крысиному рецептору глюкагона.

Тогда же S. Menzel et al. (1994) [151] определили локализацию гена рецептора к глюкагону (GCGR) в 17q25.

Известны несколько мутацией гена GCCR. В литературе имеются данные об ассоциации гетерозиготной миссенс - мутации (G40S) в гене GCGR с сахарным диабетом II типа [71]. Имеются единичные работы о вкладе данной мутации в развитие артериальной гипертензии [102].

Малоизученной является мутация гена GCCR Asn363Ser. При изучении данной мутации в ставропольской популяции О.Ю. Позднякова и др. (2014) получили данные о связи аллеля 363Ser гена GCCR с выраженным воспалительным процессом и тяжелым неконтролируемым течением бронхиальной астмы [43].

Изучение полиморфизмов гена GCCR требует дальнейшего углубленного изучения в различных аспектах мультифакторных заболеваний.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общая характеристика исследования

В поперечное (cross-sectional studies) исследование были включены пациенты, находившиеся на плановом стационарном лечении в пульмонологическом отделении Государственное бюджетное учреждение Рязанской области «Областная клиническая больница» с 2012 по 2015 гг. с верифицированным диагнозом бронхиальной астмы.

Обследованные пациенты были разделены на 2 группы: в первую группу был включен 61 пациент с бронхиальной астмой и сопутствующей гипертонической болезнью, во вторую – 29 больных изолированной БА. По данным литературы, частота встречаемости гипертонической болезни у лиц, страдающих бронхиальной астмой, составляет около 30% [28], а ишемическая болезнь сердца у больных бронхиальной астмой старше 60 лет встречается более чем в 60% случаев, а после 75 лет - в 85%. Как известно, комбинация АГ с ИБС встречается более чем у половины пациентов пожилого возраста, в связи с чем, посчитали целесообразным исключать из исследования пациентов с ИБС в виде стенокардии напряжения.

В основной группе пациенты соответствовали следующим **критериям включения:**

- Возраст от 18 до 70 лет
- Верифицированный диагноз БА
- Наличие гипертонической болезни 1, 2 стадии
- лица европеоидной расы, проживающие на территории Рязанской области, не состоящие в родстве;
- Письменное информированное согласие больного на участие в исследовании

Критерии исключения из исследования:

- Значимые поражения клапанного аппарата сердца: митральная регургитация более II степени; трикуспидальной регургитации более II степени; аортальная регургитация более II степени, аортальный стеноз с трансортальным градиентом давления более 25 мм рт. ст.; аортальная недостаточность более I степени;
- Кардиомиопатии (гипертрофическая, дилатационная, рестриктивная);
- Наличие диагностированной ишемической болезни сердца в виде стенокардии напряжения, перенесенных инфарктов миокарда, нарушений ритма, хронической сердечной недостаточности;
- Анамнестические данные с указанием на тромбоэмболию легочной артерии, острое нарушение мозгового кровообращения;
- Острые воспалительные и хронические заболевания в фазе обострения и неполной ремиссии;
- Онкологические заболевания и болезни крови;
- Сахарный диабет 1–го и 2–го типа;
- Неконтролируемые заболевания щитовидной железы;
- Наличие тяжелых нарушений функции почек в анамнезе, сопровождающихся снижением скорости клубочковой фильтрации ниже 60 мл/мин (рассчитанной по формуле СКД–ЕРІ);
- Наличие нарушений функции печени в анамнезе, сопровождавшихся повышением уровня АЛТ, АСТ, общего билирубина более чем в 3 раза выше верхней границы нормы;
- Хронического алкоголизма, психических расстройств;
- Беременность и период лактации.

Полное соответствие пациентов вышеперечисленным критериям позволило изучить медико-генетические особенности течения бронхиальной астмы при сопутствующей гипертонической болезни у относительно однородной группы пациентов.

Диагноз БА, оценка степени тяжести и контроля БА устанавливались на основании клинико-anamnestических данных, объективного обследования пациента, данных спирографии в соответствии с критериями GINA, пересмотра 2011 года.

АГ классифицировали в соответствии с рекомендациями Европейского Общества Гипертонии (European Society of Hypertension, ESH – 2013) и Европейского Общества кардиологов (European Society of Cardiology, ESC – 2013).

Все обследования проводились на добровольной основе с согласия участников исследования. После подписания информированного согласия проводилась оценка соответствия участников исследования критериям включения и исключения.

Проведение исследования одобрено Локальным Этическим Комитетом ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России от 2012 года, выполнена в соответствии с требованиями Национального стандарта Российской Федерации «Надлежащая клиническая практика - Good Clinical Practice (GCP) ГОСТ Р 52379-2005» и Хельсинкской декларации Всемирной Медицинской Ассоциации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов исследования» с поправками 2008 года.

2.2. Методы исследования

Всем пациентам было выполнено общеклиническое обследование, включающее сбор жалоб, анамнеза жизни и анамнеза заболевания, объективное исследование с использованием методов пальпации, перкуссии и аускультации, измерение артериального давления, согласно правилам измерения артериального давления, изложенным в рекомендациях Всероссийского научного общества кардиологов. Помимо клинического обследования пациентам было проведено лабораторное исследование, включающее общеклинический анализ крови, оценку липидного спектра,

выполнена оценка функции внешнего дыхания (спирометрия), электрокардиографии (ЭКГ), эхокардиографии (ЭхоКГ), проведено генетическое исследование- определение полиморфизмов гена ангиотензиногена AGT (T174M, M235T), гена эндотелина-1 EDN1 (Lys198Asn), гена эндотелиальной синтазы оксида азота eNOS (C786T), гена аполипротеина E APOE (Leu28Pro), гена липопротеиновой липазы LPL (Ser477Ter), гена тромбоцитарного гликопротеина 1b, α -субъединицы GP1ba (Thr145Met), гена рецептора к глюкагону GCCR (Asn363Ser).

Исследование функции внешнего дыхания проводилось с помощью спирографа Spirovit SP-1 “Schiller” (Швейцария).

Обследование проводилось в утренние часы после 30- минутного отдыха натошак. Исследование проводилось в положении пациентов сидя. На результаты спирометрии могут влиять некоторые факторы, во избежание чего перед проведением исследования пациенты были предупреждены о необходимости воздержаться от курения не менее чем за час до процедуры; не принимать алкоголь не менее чем за 4 часа до исследования. Бронхолитические препараты отменялись в соответствии с их фармакокинетикой: β_2 -агонисты короткого действия и комбинированные препараты, включающие β_2 -агонисты короткого действия, за 6 часов до исследования, длительно действующие β_2 -агонисты – за 12 часов, пролонгированные теофиллины – за 24 часа.

До начала теста была расстегнута плотно прилегающая одежда. Зубные протезы, при их наличии у пациента, были удалены только в том случае, если они прилегают неплотно, так как могли помешать проведению исследования.

При исследовании определялись основные дыхательные объемы (ЖЕЛ, ФЖЕЛ, ОФВ₁, индекс Тиффно, МОС_{25%}, МОС_{50%}, МОС_{75%}).

Электрокардиография (ЭКГ) выполнялась с помощью портативного трёхканального электрокардиографа SCHILLER Cardiovit AT-1 по общепринятой методике. По результатам ЭКГ исключались нарушения

сердечного ритма и проводимости, наличие ишемических и рубцовых изменений миокарда.

Трансторакальная эхокардиография проводилась всем пациентам на аппарате Vivid 3 Pro Vingmed technology (General electric, США) в одномерном и двухмерном режимах с применением непрерывноволнового и импульсноволнового доплера. Оценивались размеры полостей сердца, толщина миокарда, состояние перегородок и клапанного аппарата.

Постоянноволновая доплерография использовалась для расчета градиентов давления на клапанах и дефектах перегородок. Для оценки насосной функции сердца проводился расчет гемодинамических показателей по данным импульсноволновой доплерографии.

Для определения ремоделирования левого желудочка (ЛЖ) рассчитывали массу миокарда левого желудочка (ММЛЖ): $ММЛЖ = 1,04 ((ТМЖПд, см + КДР, см + ТЗСЛЖд, см)^3 - (КДР, см)^3) - 13,6$, где ТМЖПд – толщина межжелудочковой перегородки в диастолу; ТЗСЛЖд – толщина задней стенки ЛЖ в диастолу; КДР – конечный диастолический размер ЛЖ.

Подсчитывали индекс массы миокарда левого желудочка (ИММЛЖ), индексированный на площадь поверхности тела: $ИММЛЖ = ММЛЖ/ПТ$, где ПТ – площадь поверхности тела (м²), которую определяли по формуле: $ПТ = М^{0,423} \cdot p^{0,752} \cdot 0,007184$ (г/м²), где М – масса тела (кг), p – рост (см). ГЛЖ определяли при $ИММЛЖ > 124$ г/м² у мужчин и при 109 г/м² – у женщин.

Общий анализ крови выполнялся на автоматическом анализаторе и на основании оценки лейкоцитарной формулы и скорости оседания эритроцитов исключали наличие острого инфекционного процесса и обострения хронических заболеваний.

Биохимический анализ крови выполнялся для всех пациентов централизованно с помощью биохимического анализатора Reflotron-plus (Roche, Швейцария) с обязательной оценкой липидограммы: общего холестерина (ХС), холестерина высокой плотности (ЛПВП), холестерина низкой плотности (ЛПНП), триглицеридов (ТГ). Уровень общего

холестерина сыворотки крови, ТГ и холестерина основных классов липопротеинов выражали в ммоль/л. Забор крови у обследуемых проводили утром натощак после 12-часового голодания.

Полиморфизмы генов исследованы методом SNP (single nucleotide polymorphism – единичные нуклеотидные замены) на тест-системах «SPN-экспресс» НПФ «Литех».

Забор крови осуществляли с использованием вакуумных пробирок, содержащих нанесённый на стенки антикоагулянт ЭДТА-К3. Геномная ДНК человека для анализа выделялась из лейкоцитов цельной крови с помощью реагента «ДНК-экспресс-кровь» фирмы ООО НПФ «Литех» (г. Москва). Анализ генетического полиморфизма осуществляли методом аллель-специфичной ПЦР с последующим электрофоретическим разделением продуктов амплификации. С образцом выделенной ДНК выполняли две параллельные реакции амплификации – по одной с каждой парой аллель-специфичных праймеров. Разделение продуктов амплификации проводили в 3% агарозном геле, приготовленном на TAE буфере, методом горизонтального электрофореза. Для визуализации результатов электрофореза в качестве красителя использовали 1% раствор бромистого этидия. Фрагменты анализируемой ДНК визуализировались под УФ-излучением с длиной волны 310 нм. Результаты анализа флуоресцентного сигнала для каждого из образцов позволяют дать ответ о наличии или отсутствии каждого аллеля в гетеро- или гомозиготной форме. Определение полиморфизмов проводилось на базе Центральной Научно-Исследовательской Лаборатории (ЦНИЛ) ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

В соответствии с методом «SPN-экспресс» полиморфные «мутантные» и нормальные аллели определены на основании интенсивности и сочетания полос ампликонов в «норме» и «патологии», трактуемые как нормальный гомозиготный, гетерозиготный и патологический гомозиготный генотипы.

Использованные полиморфные маркеры представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Гены-кандидаты, изученные в настоящем исследовании

Ген	Полиморфизм	Генотип
Ген ангиотензиногена (AGT)	Thr 174 Met	TT
		TM
		MM
	Met 235 Thr	MM
		MT
		TT
Ген эндотелина-1 (EDN1)	Lys 198 Asn	GG
		GT
		TT
Ген эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS)	C 786 T	TT
		TC
		CC
Ген аполипопротеина E (APOE)	Leu 28 Pro	Leu28Leu
		Leu28Pro
		Pro28Pro
Ген липопротеиновой липазы (LPL)	Ser 477 Ter	GG
		CG
Ген тромбоцитарного гликопротеина 1b, α -субъединицы (GP1b α)	Thr 145 Met	TT
		CT
		CC
Ген рецептора к глюкогону (GCCR)	Asn 363 Ser	AA
		AS
		SS

При создании первичной базы данных использовался редактор электронных таблиц MS Excel 2010. Статистическая обработка данных выполнена с использованием пакетов прикладных программ Statistica 10 и SAS JMP 10.

Статистическая значимость различий значений признаков в двух группах определялась с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни. При сравнении категориальных переменных оценка значимости различия долей проводилась с использованием критерия хи-квадрат Пирсона. При описании данных, распределение которых отличалось

от нормального закона, рассчитывались медиана и квартили. Проверка гипотезы о распределении данных по нормальному закону производилась с помощью критерия согласия Шапиро-Уилка. Количественные данные в тексте представлены в виде «медиана (25-й перцентиль; 75-й перцентиль), а также как среднее значение и стандартное отклонение ($M \pm \sigma$). Статистическая значимость была зафиксирована на уровне 0,05.

Для моделирования оценки риска артериальной гипертензии у пациентов в зависимости от ряда показателей, использовались деревья классификаций. Для оценки качества построенных деревьев применялся ROC-анализ.

Для определения диагностической ценности прогностической модели рассчитаны следующие операционные характеристики: диагностическая чувствительность (ДЧ), диагностическая специфичность (ДС), диагностическая эффективность (ДЭ).

$$\text{ДЧ} = a/(a+c) \times 100\%,$$

$$\text{ДС} = d/(d+b) \times 100\%,$$

$$\text{ДЭ} = (\text{ДЧ} + \text{ДС}\%)/2.$$

где: a – истинно положительный результат, b – ложно положительный результат, c – ложно отрицательный результат, d – истинно отрицательный результат.

ГЛАВА 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУПП

В исследование было включено 90 больных. В основную группу, страдающих бронхиальной астмой и гипертонической болезнью, включен 61 пациент (25 мужчин (41%) и 36 женщин (59%)) в возрасте от 51 до 62 лет. Медиана возраста пациентов основной группы составила 57 [51; 62] лет. Все пациенты имели артериальную гипертензию 1 и 2 стадии (наличие у пациентов 3 стадии ГБ являлось критерием исключения).

В группу сравнения вошли 29 человек (16 мужчин (55%) и 13 женщин (45%)) с изолированной бронхиальной астмой в возрасте от 33 до 53 лет. Медиана возраста группы сравнения составила 50 [33; 53] лет [рисунок 2].

Результаты статистического анализа показали достоверные различия ($p < 0,05$) по возрасту в исследуемых группах, что исключило возрастной показатель в сравнительной оценке групп.

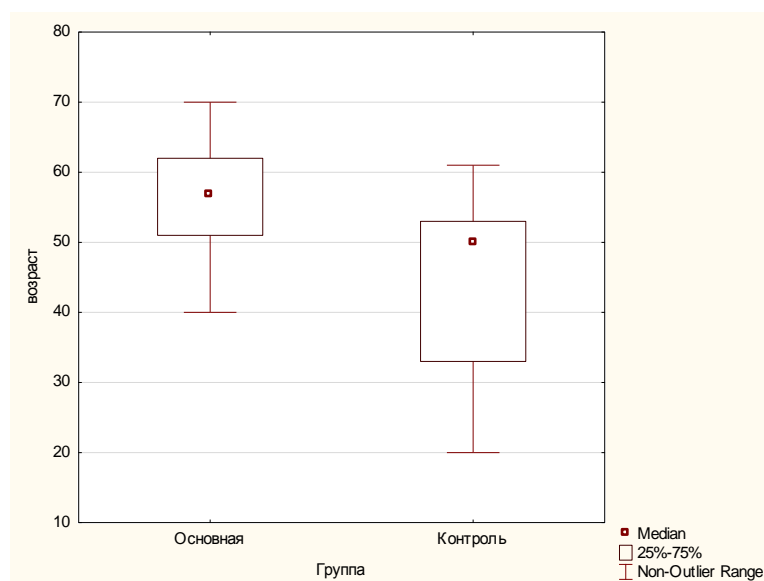


Рисунок 2 – Возрастной состав исследуемых групп пациентов

Основные клинические характеристики основной группы и группы сравнения представлены в таблице 3.

Среди пациентов, страдающих бронхиальной астмой (основная группа и группа сравнения), у большинства обследованных больных диагностирована

смешанная форма БА – 61 пациента (100%) основной группы и у 24 (82,8%) – группы сравнения. Значительно реже встречалась аллергическая (5 пациентов (17,2%) группы контроля) БА, в основной группе аллергическая БА не диагностирована [рисунок 3].

Таблица 3 – Клиническая характеристика больных исследуемых групп

Показатель	Основная группа (n=61)	Группа сравнения (n =29)	Уровень Р
Возраст, лет	57 [51; 62]	50 [33; 53]	0,00000
Длительность БА	27,9	31,0	0,19799
До 5 лет, %	29,5	44,8	
5-10 лет, %	42,6	24,1	
Болезнь более 10 лет, %			
Атопическая форма, %	0	17,2	0,00085
Смешанная форма, %	100	82,8	
Контролируемая, %	0	13,8	0,00069
Частично контролируемая, %	55,7	69,0	
Неконтролируемая, %	44,3	17,2	
общий холестерин, ммоль/л	5,8 [4,9; 6,2]	5,5 [5,08; 6,3]	0,62874
ЛПНП, ммоль/л	3,5 [3,07; 4,2]	3,1 [2,61; 3,62]	0,00352
Триглицериды, ммоль/л	1,8 [1,5; 2,1]	1,96 [1,15; 2,13]	0,80898
КДР левого желудочка, см	5,4 [5,1; 5,6]	4,4 [4,2; 4,5]	0,00000
КСР левого желудочка, см	4,0 [3,5; 4,1]	3,2 [3,1; 3,6]	0,00001
фракция выброса, %	56 [54; 60]	61 [58; 64]	0,00042
толщина МЖП, см	1,12 [1,0; 1,2]	0,8 [0,7; 0,9]	0,00000
толщина ЗСДЖ, см	1,1 [1,0; 1,2]	0,8 [0,7; 0,9]	0,00000
ММЛЖ, г	303,7 [218,0; 333,7]	125,9 [114,8; 138,1]	0,00000
ИММЛЖ	150,9 [108,3; 178,4]	66,8 [58,3; 76]	0,00000
ИМТ, кг/м ²	28,1 [25,8; 33,8]	25,8 [21,5; 29,4]	0,00581

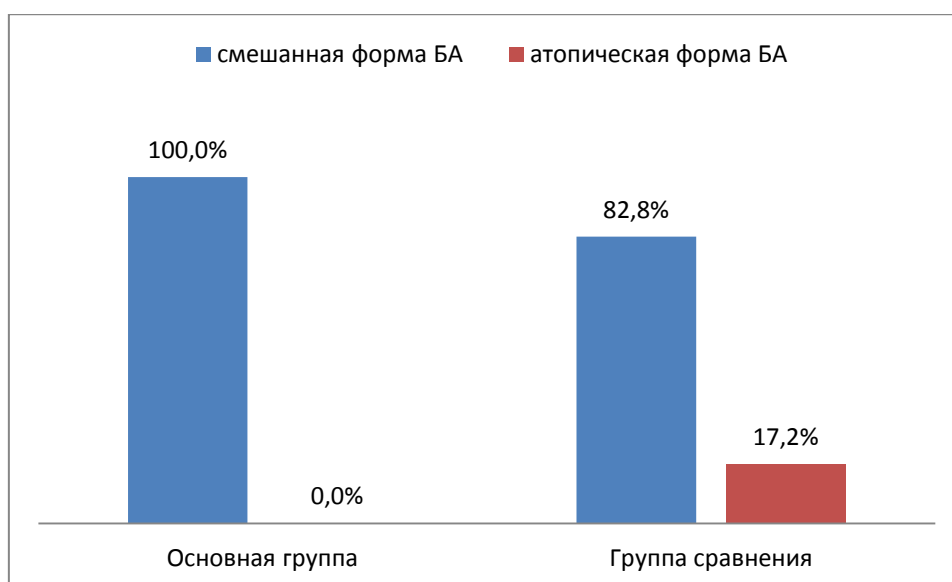


Рисунок 3 – Распределение пациентов исследуемых групп по форме бронхиальной астмы

При изучении анамнестических и спирометрических данных в основной исследуемой группе у 44 больных (72,1%) наблюдалось тяжелое течение БА и у 17 (27,9%) пациентов БА средней степени тяжести, в то время как в группе сравнения тяжелое течение БА и течение средней тяжести диагностировано у 11 (37,9%) и 14 (48,3%) соответственно, кроме того в группе сравнения у 4 (13,8%) пациентов диагностирована БА легкой степени тяжести. Степень тяжести согласуется со степенью контроля в исследуемых группах. Так, у 27 больных основной исследуемой группы (44,3%) наблюдалось неконтролируемая БА, у 34 (55,7%) пациентов – частично контролируемая БА, полный контроль БА в основной группе не отмечен. В группе сравнения у 4 больных (13,8%) регистрировалась контролируемая БА, частично контролируемая и неконтролируемая БА в группе сравнения диагностированы у 20 пациентов (69,0%) и 5 пациентов (17,2%) соответственно [рисунок 4]. При проведении статистического анализа в группе пациентов с кардиореспираторной патологией отмечалось достоверно более тяжелое течение БА ($p = 0,00069$). Отмеченная тенденция усиливается по мере утяжеления сердечно - сосудистой патологии.

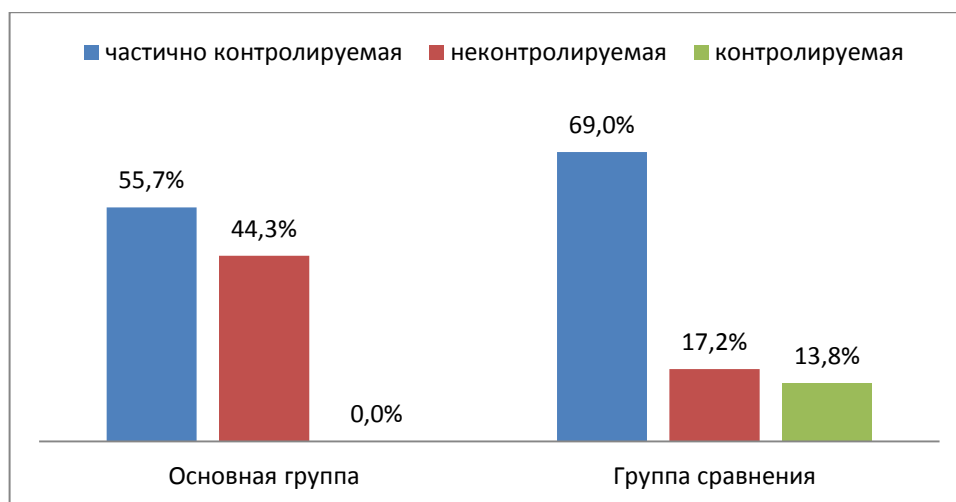


Рисунок 4 – Распределение больных основной группы и группы сравнения по степени контроля бронхиальной астмы

Относительно факторов риска, прежде всего, ССЗ, оценивался ИМТ и липидный спектр. Медиана ИМТ у больных изолированной БА и в группе сочетанного течения БА+ГБ составили 25,8 [21,5; 29,4] кг/ м² и 28,1 [25,8; 33,8] кг/м² соответственно. Пациенты с коморбидной патологией имели достоверно более высокий ИМТ ($p=0,0058$). Значения ИМТ закономерно увеличивались с возрастом, причем более выражено у женщин. Выявленные гендерные особенности, вероятнее всего, обусловлены гормональными нарушениями, предопределяющими риск развития ожирения у женщин.

Анализируя результаты липидограммы в исследуемых группах не выявлено достоверно значимых различий холестеринемии ($p=0,63$). Медиана общего холестерина в основной группе составил 5,8 [4,9; 6,2] ммоль/л, в группе сравнения 5,5 [5,08; 6,3] ммоль/л; однако выявлены статистически значимые различия ($p=0,0035$) в отношении уровня ЛПНП у пациентов основной группы и группы сравнения - 3,5 [3,07; 4,2] ммоль/л и 3,1 [2,61; 3,62] ммоль/л соответственно [рисунок 5]. Данные различия вероятнее всего связаны с возрастным критерием и наличием АГ, способствующей развитию эндотелиальной дисфункции, в группе кардиореспираторной патологии.

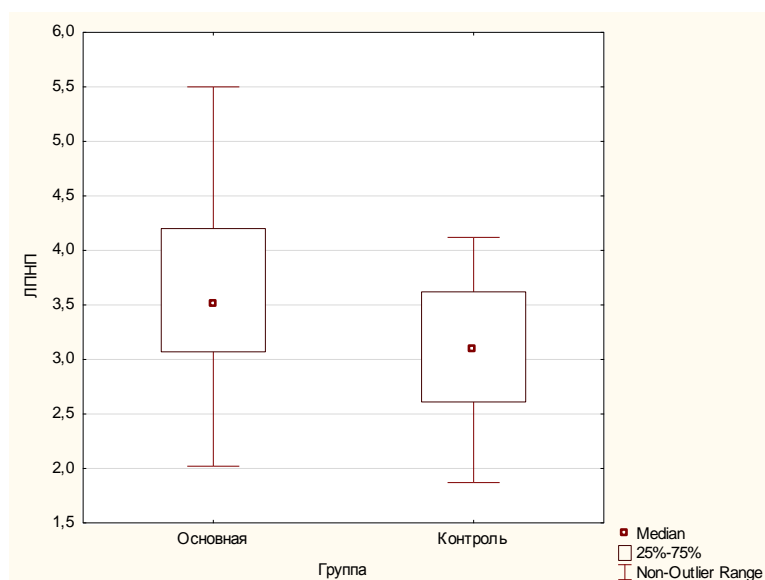


Рисунок 5 – Уровень ЛПНП в крови в исследуемых группах

Распределение частот генотипов полиморфных вариантов генов в основной группе и группе сравнения представлено в таблице 4.

Распространение частот полиморфных вариантов изучаемых генов достоверно не отличались в исследуемых группах, что предопределило проведение углубленного анализа с выявлением ассоциаций полиморфных вариантов генов с течением БА и ГБ.

БА гетерогенна по природе, вариабельна по своему течению, и с целью достижения контроля требуется персонализированный подход к пациенту.

Результаты фундаментальных исследований в области поиска генов у пациентов с БА важны для практического здравоохранения, так как позволяют в определенной мере предсказывать болезнь, предупреждать ее тяжелое, неконтролируемое течение, эффективно проводить лечение на основе представления о механизмах взаимодействия в системе генетических и средовых факторов риска; а при высокой распространенности коморбидности, ухудшающей прогноз, в старших возрастных группах - эта проблема становится наиболее актуальной.

Таблица 4 – Частоты аллелей и генотипов изучаемых полиморфных вариантов генов в основной группе и группе сравнения

Ген	Полиморфизм	Распределение генотипов, n (%)			χ^2	p
		Генотип	Основная группа	Группа сравнения		
Ген ангиотензиногена (AGT)	Thr 174 Met	ТТ	29 (47,5 %)	17 (58,6%)	0,9656	0,3258
		ТМ	26 (42,6%)	12 (41,4%)	0,0125	0,9111
		ММ	6 (9,8%)	0 (0%)	3,0562	0,0804
		Аллель Т	84 (68,9%)	46 (79,3%)	2,1431	0,1432
		Аллель М	38 (31,1%)	12 (20,7%)	2,1431	0,1432
	Met 235 Thr	ММ	29 (47,5%)	18 (62,1%)	1,6627	0,1972
		МТ	32 (52,5%)	11 (37,9%)	1,6627	0,1972
		Аллель М	90 (73,8%)	47 (81,0%)	1,1408	0,2855
Аллель Т		32 (26,2%)	11 (19,0%)	1,1408	0,2855	
Ген эндотелина-1 (EDN1)	Lys 198 Asn	GG	40 (65,6%)	16 (55,2%)	0,9047	0,3415
		GT	18 (29,5%)	7 (24,1%)	0,2826	0,5950
		ТТ	3 (4,9%)	4 (13,8%)	2,1584	0,1418
		Аллель G	89 (78,8%)	39 (72,2%)	0,8728	0,3502
		Аллель T	24 (21,2 %)	15 (27,8%)	0,8728	0,3502
Ген эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS)	C 786 T	ТТ	34 (55,7%)	20 (69,0%)	1,4330	0,2313
		ТС	27 (44,3%)	9 (31,0%)	1,4330	0,2313
		Аллель Т	95 (77,9%)	49 (84,5%)	1,0748	0,2999
		Аллель С	27 (22,1%)	9 (15,5%)	1,0748	0,2999
Ген аполиipoproteина E (APOE)	Leu 28 Pro	Leu28Leu	55 (90,2%)	25 (86,2%)	0,3116	0,5767
		Leu28Pro	6 (9,8%)	4 (13,8%)	0,3116	0,5767

		28Leu	116 (95%)	54 (93%)	0,2933	0,5881
		28Pro	6 (5%)	4 (7%)	0,2951	0,5870
Ген липопротеиновой липазы (LPL)	Ser477Ter	GG	14 (23,0%)	8 (27,6%)	0,2287	0,6325
		CG	47 (77,0%)	21 (72,4%)	0,2287	0,6325
		Аллель G	75 (61,5%)	37 (63,8%)	0,0898	0,7644
		Аллель C	47 (38,5%)	21 (36,2%)	0,0898	0,7644
Ген тромбоцитарного гликопротеина 1b, α - субъединицы (GP1b α)	Thr 145 Met	TT	29 (47,5%)	13 (44,8%)	0,0581	0,8095
		CT	32 (52,5%)	16 (55,2%)	0,0581	0,8095
		Аллель T	90 (73,8%)	42 (72,4%)	0,0370	0,8475
		Аллель C	32 (26,2%)	16 (27,6%)	0,0370	0,8475
Ген рецептора к глюкагону (GCCR)	Asn 363 Ser	AA	50 (82,0%)	20 (68,97%)	1,9224	0,1656
		AS	8 (13,1%)	9 (31,03%)	4,1197	0,0424
		SS	3 (4,9%)	0 (0%)	1,4754	0,2245
		Аллель A	108 (88,5%)	49 (84,5%)	0,5762	0,4478
		Аллель S	14 (11,5%)	9 (15,5%)	0,5762	0,4478

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

4.1. Изучение полиморфизмов генов в зависимости от степени контроля, длительности бронхиальной астмы

4.1.1. Ассоциация полиморфизма Asn363Ser гена рецептора к глюкагону (GCCR) со степенью контроля и стажем бронхиальной астмы

Сегодня генетические данные могут быть ключом к персонализированной диагностике и терапии БА, так как они позволяют в определенной мере предсказать болезнь, предупредить ее тяжелое неконтролируемое течение и более эффективно проводить лечение.

Ген GCCR участвует в процессах, связанных с некоторыми параметрами функции легких, ремоделированием дыхательных путей, тяжестью заболевания и эффективностью лекарственной терапии БА.

Генетическая информация по полиморфному маркеру GCCR (Asn363Ser) в основной группе распределилась следующим образом: генотип AA – 50 (81,97%) человек, генотип AS – 8 (13,11%) человек и генотип SS – у 3 (4,92%) человек. Распределение соответствовало равновесию Харди-Вайнберга ($\chi^2 = 0,01$, $p = 0,9$).

В группе сравнения генотип AA встречался у 20 (68,97%) человек, генотип AS – у 9 (31,03%) человек. Распределение генетического материала в группе сравнения не соответствует равновесию Харди-Вайнберга ($\chi^2 = 6,8$, $p = 0,009$).

Распределение генетической информации по исследуемым группам представлено в таблице [таблица 4].

Для сравнения встречаемости аллелей A и S полиморфизма Asn363Ser GCCR между основной группой и больными с изолированной бронхиальной астмой может быть использована только общая модель наследования, так как распределение генетической информации у больных изолированной БА не соответствует равновесию Харди-Вайнберга ($\chi^2 = 6,8$, $p = 0,009$). Общая модель наследования предполагает, что значение наблюдаемого признака зависит от определяемого генотипа и для оценки используется сравнение частот генотипов.

При сравнении частот генотипов в паре БА и БА – ГБ генотип AS достоверно чаще встречался в группе пациентов с изолированной БА ($\chi^2 = 4,12$, $p = 0,04$), по остальным генотипам достоверно статистически значимых отличий в распределении частотах генотипов не выявлено ($p > 0,05$) [таблица 4].

Интересными оказались результаты сравнительного анализа полиморфных вариантов гена рецептора к глюкагону (GCCR, полиморфизм Asn363Ser) у больных БА с различной степенью контроля. Для оценки влияния полиморфизма Asn363Ser GCCR на течение бронхиальной астмы больные распределены на группы по степени контроля БА. Установлено, что у носителей генотипа AS по полиморфизму Asn363Ser GCCR среди пациентов основной группы достоверно чаще ($p = 0,008$) диагностировалась неконтролируемая бронхиальная астма, в то время как у носителей генотипа AA достоверно чаще ($p = 0,035$) выявлялась частично контролируемая БА [таблица 5]. В группе сравнения статистически значимых связей со степенью контроля БА в зависимости от генетического материала не получено, вероятнее всего ввиду малочисленности пациентов с неконтролируемой БА.

Таблица 5 – Частоты аллелей и генотипов полиморфизма Asn363Ser гена GCCR в основной группе в зависимости от степени контроля БА

Степень контроля БА	Генотип			Аллели	
	AA	AS	SS	A	S
Частично контролируемая БА (n=37)	31 (91,2%)	1 (2,9%)	2 (5,9%)	63 (92,6%)	5 (7,4%)
Неконтролируемая БА (n=27)	19 (70,4%)	7 (25,9%)	1 (3,7%)	45 (83,3%)	9 (16,7%)
P	$\chi^2 = 4,4$ $p = 0,0358$	$\chi^2 = 6,98$ $p = 0,0083$	$\chi^2 = 0,15$ $p = 0,6959$	$\chi^2 = 2,57$ $p = 0,1089$	

Связь полиморфизма Asn363Ser гена GCCR со степенью контроля впервые была показана в исследовании О.А. Поздняковой и др. (2013) при изучении популяции г. Саратова. Исследователями были получены результаты, подобные настоящим, что позволяет использовать определение полиморфизма Asn363Ser гена GCCR в качестве дополнительного критерия при оценке индивидуального

прогноза формирования тяжелого неконтролируемого течения у пациентов с бронхиальной астмой [43].

Таблица 6 – Частоты аллелей и генотипов полиморфизма Asn363Ser гена GCCR в основной группе в зависимости от длительности заболевания БА основной группе

Длительность БА	Генотип			Аллели	
	AA	AS	SS	A	S
До 5 лет (n=17)	17 (100,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	34 (100,0%)	0 (0,0%)
Более 5 лет (n=44)	33 (77,0%)	3 (6,8%)	8 (18,2%)	74 (84,1%)	14 (15,9%)
P	$\chi^2 = 5,19$ p = 0,0228	$\chi^2 = 1,2$ p = 0,2695	$\chi^2 = 3,6$ p = 0,0593	$\chi^2 = 6,11$ p = 0,0134	

Оценивая связь полиморфизма Asn363Ser гена GCCR со стажем БА, у пациентов основной группы в рамках общей модели наследования носители генотипа AA по полиморфизму гена GCCR достоверно чаще ($p < 0,05$) имели меньший стаж (длительность заболевания до 5 лет) бронхиальной астмы в сравнении с носителями патологического гомозиготного и гетерозиготного вариантов [таблица 6], что, вероятно, ассоциировано с лучшей степенью контроля у носителей AA-генотипа. Полученные данные позволяют рассматривать генотип AA как протективный в отношении контроля и прогрессирования бронхообструктивной патологии, а генотип SS как предиктор неблагоприятного течения БА.

4.1.2. Ассоциация полиморфизма T786C гена эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) со степенью контроля бронхиальной астмы

Генетическая информация по полиморфному гену eNOS (T786C) имела следующее распределение в основной группе: генотип TT – 34 (55,7%) человек, генотип TC – 27 (44,3%) человек. Распределение не соответствовало равновесию Харди-Вайнберга ($\chi^2 = 8,1$, $p = 0,004$). В группе сравнения генотип TT встречался у 20 (69,0%) человек, генотип TC – у 9 (31,0%) человек. Распределение генетического материала в группе сравнения соответствовало равновесию Харди-

Вайнберга ($\chi^2=3,4$, $p=0,07$). Распределение генетической информации по исследуемым группам представлено в таблице [таблица 4].

Для сравнения встречаемости аллелей Т и С полиморфизма T786C eNOS среди пациентов основной группой и группы сравнения использована общая модель наследования, так как распределение генетической информации у больных основной группы не соответствует равновесию Харди-Вайнберга ($\chi^2=8,1$, $p=0,004$). При сравнении частот генотипов в паре БА и БА – ГБ не выявлено статистически значимых отличий в частотах генотипов [таблица 4].

Проведен анализ влияния полиморфизма T786C eNOS на степень контроля БА в исследуемых группах. Для этого пациенты обеих исследуемых группы были разделены на подгруппы в зависимости от степени контроля БА. Анализируя полученные данные, в основной группе статистически достоверных ассоциаций между степенью контроля и полиморфизмом T786C eNOS не выявлено ($p>0,05$). В группе пациентов с изолированной БА выявлено, что у носителей ТТ-генотипа по полиморфизму T786C eNOS достоверно чаще ($p=0,0017$) выявлялась контролируемая и частично контролируемая БА, тогда как неконтролируемая бронхиальная астма достоверно чаще ($p=0,0093$) диагностировалась у носителей ТС-генотипа [таблица 7].

Таблица 7 – Частоты аллелей и генотипов полиморфизма T786C гена eNOS в группе сравнения в зависимости от степени контроля БА

Степень контроля БА	Генотип		Аллели	
	ТТ	ТС	Т	С
Контролируемая БА (n=4)	4 (100%)	0 (0%)	8 (100%)	0 (0%)
Частично контролируемая БА (n=20)	16 (80,%)	4 (20,0%)	36 (90,0%)	4 (10,0%)
Неконтролируемая БА (n=5)	0 (0,0%)	5 (100,0%)	5 (50,0%)	5 (50,0%)
Р	$\chi^2 = 9,9$ $p = 0,0017$	$\chi^2 = 6,8$ $p = 0,0093$	$\chi^2 = 11,47$ $p = 0,0032$	

Согласно литературным данным, у людей с патологическим генотипом промотора гена eNOS (CC) наблюдается увеличение тонуса венечных артерий,

повышенная склонность к коронарораспазму, вазоконстриктивному эффекту сосудов бронхолегочного дерева. Распространенность данного генотипа у больных БА в немногочисленных исследованиях была достоверно выше [42], чем у здоровых доноров, что указывает на роль полиморфизма T786C NOS3 в патогенезе БА, прогрессировании эндотелиальной дисфункции и тканевой гипоксии бронхоальвеолярного комплекса.

В нашем исследовании патологический генотип CC гена eNOS не выявлен, однако отмечается достоверно частая встречаемость гетерозиготного TC - варианта полиморфизма гена эндотелиальной синтазы азота у лиц с неконтролируемой БА при статистически достоверно частой встречаемости нормального гомозиготного TT- варианта полиморфизма изучаемого гена в группе частичного контроля БА и контролируемой БА. Таким образом, носительство генотипа TC гена eNOS вызывает прогрессирование БА, что выражается в отсутствии должного контроля БА у лиц с данным генотипом, возможно, ассоциируется с более ранним развитием осложнений (легочной гипертензии, хронического легочного сердца). В противоположность генотипу TT следует рассматривать как протективный в отношении прогрессирования и прогноза БА.

4.2. Гены–кандидаты, ассоциированные с ранним началом гипертонической болезни при бронхиальной астме

4.2.1. Клиническая характеристика подгрупп с ранним и поздним дебютом гипертонической болезни при бронхиальной астме

Дизайн нашего исследования предусматривал также изучение анализ вклада полиморфизмов генов в реализацию АГ. Для выявления ассоциативной связи полиморфизма генов с артериальной гипертензией у пациентов группы БА-ГБ пациенты были разделены на 2 подгруппы – подгруппа с ранним и поздним дебютом ГБ.

Под «ранним» началом ГБ понимали возникновение заболевания в возрасте менее 45 лет у мужчин и менее 55 лет у женщин. В обследованной группе было 22 пациента с ранним началом ГБ (20 женщин (90,9%) и 2 мужчин (9,1%)) и 39 больных (у 16 женщин (41,0%) и 23 мужчин (59,0%)) с поздним началом ГБ. Медиана возраста подгруппы больных с ранним дебютом ГБ составила 49,5 [45; 52] лет, в группе позднего дебюта – 61 [58; 65] лет. Основные лабораторно-инструментальные показатели подгрупп больных бронхиальной астмой с ранним и поздним дебютом гипертонической болезни представлены в таблице 9.

В группе позднего дебюта ГБ отмечены достоверно большие ($p < 0,05$) показатели эхокардиографии, характеризующие гипертрофию миокарда левого желудочка (ТЗСЛЖ, ТМЖП, ММЛЖ, ИММЛЖ), что вероятнее всего указывает на длительное бессимптомное течение артериальной гипертензии, предшествующее клинической манифестации, при отсутствии адекватной медикаментозной терапии.

Кроме того, у лиц с БА при позднем дебюте ГБ регистрировались достоверно большие значения общего холестерина ($p = 0,0002$) и его атерогенных фракций (ЛПНП) ($p = 0,0003$), что вероятно связано с возрастным критерием и наличием у больных старших возрастных групп нескольких коморбидных состояний, в том числе и АГ, способствующей развитию эндотелиальной дисфункции.

Таблица 9 – Лабораторно-инструментальные показатели подгрупп больных бронхиальной астмой с ранним и поздним дебютом гипертонической болезни

Показатель	Ранний дебют (n=22)	Поздний дебют (n =39)	Уровень P
Возраст, лет	49,5 [45; 52]	61 [58; 65]	0,00000
общий холестерин, ммоль/л	5,1 [4,8; 5,68]	6,02 [5,6; 6,33]	0,00021
ЛПНП, ммоль/л	3,1 [2,8; 3,1]	4,06 [3,4; 4,3]	0,00030
Триглицериды, ммоль/л	1,85 [1,7; 2,4]	1,79 [1,44; 2,1]	0,19909
КДР левого желудочка, см	5,15 [5,1; 5,4]	5,4 [5,1; 5,6]	0,07150
КСР левого желудочка, см	3,65 [3,4; 3,9]	4 [3,8; 4,2]	0,00366
фракция выброса, %	58 [56; 62]	55 [52; 60]	0,01729
толщина МЖП, см	1 [0,9; 1,1]	1,2 [1,1; 1,26]	0,00004
толщина ЗСДЖ, см	1 [0,9; 1,1]	1,2 [1,1; 1,3]	0,00000
ММЛЖ, г	218,05 [188,6; 301,9]	317,9 [287,2; 341,7]	0,00009
ИММЛЖ	107,85 [104,4; 133,6]	167,6 [146,7; 182]	0,00012
ИМТ, кг/м ²	29,55 [27,3; 33,8]	27,9 [24,5; 32,5]	0,12928

Распределение генотипов изучаемых полиморфизмов генов-кандидатов, ассоциированных с ранним началом ГБ у больных БА представлено в таблице 10.

Таблица 10 – Частоты аллелей и генотипов гена ангиотензиногена, гена рецептора к глюкагону и гена эндотелина-1 у больных с БА с сопутствующей ГБ при раннем и позднем дебюте артериальной гипертензии

Генотипы	Больные с поздним началом ГБ (n=39)	Больные с ранним началом ГБ (n=22)	χ^2	Уровень Р
Полиморфный маркер M174T гена ангиотензиногена AGT				
ТТ	21 (53,8%)	8 (36,4%)	1,7238	0,1892
ТМ	12 (30,8%)	14 (63,4%)	6,2130	0,0127
ММ	6 (15,4%)	0 (0,0%)	3,7538	0,0527
Аллель Т	54 (69,2%)	30 (68,2%)	0,0144	0,9044
Аллель М	24 (30,8%)	14 (31,8%)		
Полиморфный маркер Ans363Ser гена рецептора к глюкагону GCCR				
АА	33 (84,6%)	17 (77,3%)	0,5131	0,4738
AS	6 (15,4%)	2 (9,1%)	0,4889	0,4844
SS	0 (0,0%)	3 (13,6%)	5,5933	0,0180
Аллель А	72 (92,3%)	36 (81,8%)	3,0470	0,0809
Аллель S	6 (7,7%)	8 (18,2%)		
Полиморфный маркер Lys198Asn гена эндотелина-1 (EDN1)				
GG	25 (64,1%)	15 (68,2%)	0,1037	0,7475
GT	14 (35,9%)	4 (18,2%)	2,1222	0,1452
ТТ	0 (0,0%)	3 (13,6%)	5,5933	0,0180
Аллель G	64 (82,1%)	34 (77,3%)	0,4065	0,5238
Аллель Т	14 (17,9%)	10 (22,7%)		

4.2.2. Анализ вклада полиморфизмов гена ангиотензиногена (AGT) в развитие артериальной гипертензии при бронхиальной астме

Носители полиморфных вариантов гена AGT имеют разную экспрессию гена, связанную с наличием или отсутствием мутантного аллеля. Установленный в ряде популяций более высокий уровень ангиотензиногена в плазме крови, ассоциированный с развитием гипертензии, связан с носительством М-аллеля.

Распределение генетической информации по полиморфному маркеру AGT (T174M) представлено в таблице 10. В исследуемых группах распределение генетического материала не соответствовало равновесию Харди-Вайнберга ($p < 0,05$), в связи с чем для сравнения встречаемости аллелей Т и М полиморфизма T174M AGT подгрупп пациентов с БА при раннем и позднем дебюте ГБ использована общая модель наследования.

При попарном сравнении частот генотипов значительно различались частоты полиморфизма T174M гена AGT ($p=0,013$) у пациентов с ранним дебютом ГБ при сопутствующей БА по ТМ-генотипу [рисунок 6], что подтверждает предикторную роль данного полиморфизма в развитии гипертонической болезни и согласуется с данными литературы.

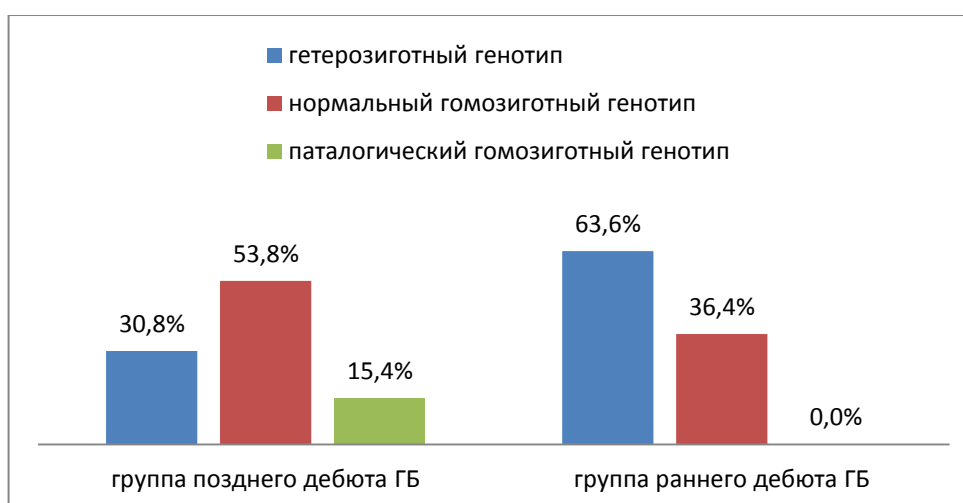


Рисунок 6 – Распределение генотипов полиморфизма T174M гена ангиотензиногена (AGT) у больных БА в зависимости от дебюта ГБ

4.2.3. Анализ вклада полиморфизма Lys198Asn гена эндотелина-1 (EDN1) в развитие артериальной гипертензии при бронхиальной астме

Анализ исследуемого генетического материала по полиморфному гену EDN1 (Lys198Asn) показал следующее распределение: среди 22 пациента с ранним началом ГБ выявил вариант ТТ у 3 (13,6 %), GT – в 14 случаях (18,2 %), 15 пациентов (68,2 %) имели генотип GG. В подгруппе позднего начала ГБ генотип GG выявлен у 25 пациентов (64,1 %), генотип GT – у 14 пациентов (35,9%), патологический гомозиготный ТТ генотип не выявлен [рисунок 6]. В обеих подгруппах распределение генотипов не соответствовало распределению равновесию Харди-Вайнберга ($p < 0,05$), что предопределило использование общей модели наследования.

При проведении статистического анализа в подгруппе раннего начала достоверно чаще ($p=0,018$) встречался патологический гомозиготный ТТ-генотип. Частота встречаемости гетерозиготного GT генотипа достоверно не отличалась в исследуемых подгруппах, однако в группе позднего начала ГБ в 2 раза превышала таковую в группе раннего начала ГБ.

Повышенная частота гетерозигот в группе позднего начала ГБ возможно объясняется тем, что, согласно данным литературы, носители гетерозиготного генотипа имеют промежуточный уровень эндотелина-1 в крови в сравнении с таковыми у гомозигот GG и ТТ. С одной стороны, это снижает риск развития сердечно-сосудистых заболеваний по сравнению с гомозиготами ТТ, с другой стороны, уровень эндотелина-1 в крови гетерозигот выше по сравнению с гомозиготами GG, что, вероятно, предрасполагает к наращиванию мышечной массы и развитию гипертрофии левого желудочка.

Выявление достоверно значимого повышения патологического генотипа в группе раннего развития ГБ подтверждает связь ТТ генотипа с ранним развитием сердечно-сосудистой патологии, в том числе и у больных БА.

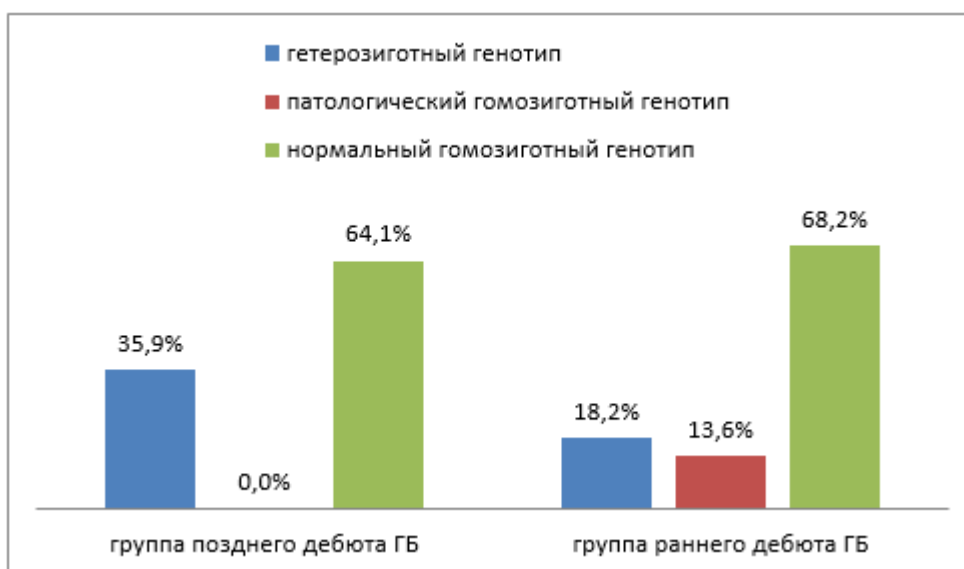


Рисунок 7 – Распределение генотипов полиморфизма Lys198Asn гена эндотелина-1 (EDN1) у больных БА в зависимости от дебюта ГБ

4.2.4. Анализ вклада полиморфизма Asn363Ser гена рецептора к глюкагону (GCCR) в развитие артериальной гипертензии при бронхиальной астме

Для оценки связи полиморфизма Asn363Ser GCCR использована общая модель наследования, так как распределение частот генотипов в подгруппе раннего дебюта ГБ не соответствовало равновесию Харди-Вайнберга ($p < 0,05$). При сравнении частот генотипов полиморфизма Asn363Ser GCCR отмечено, что раннее начало ГБ при сопутствующей БА ассоциировано с носительством генотипа SS полиморфного маркера гена GCCR ($p=0,018$) [таблица 10]. Однако, по нашему мнению, полученные данные не столько отражают вклад данного полиморфизма гена GCCR в реализацию АГ, сколько связаны с более тяжелым течением бронхиальной астмы при сопутствующей ГБ, отсутствием должного контроля БА у носителей патологического гомозиготного SS генотипа, и, как следствие, развитием синдрома «взаимного отягощения». Данное обстоятельство подтверждает мысль о возможности рассмотрения патологического гомозиготного варианта полиморфизма Asn363Ser GCCR гена GCCR в качестве маркера неблагоприятного прогноза БА, в том числе и при сопутствующей артериальной гипертензии.

При изучении ассоциаций других полиморфных маркеров изучаемых генов с артериальной гипертензией у пациентов с БА не выявлено.

4.3. Ассоциация полиморфизмов генов-кандидатов со стадией гипертонической болезни при бронхиальной астме

4.3.1. Клиническая характеристика подгрупп с первой и второй стадией гипертонической болезни при бронхиальной астме.

Оценка полиморфизмов генов-кандидатов со степенью АГ не проводилась, так как все больные основной группы получали медикаментозную терапию с достижением целевых значений артериального давления

Для выявления возможного негативного влияния генетических факторов на процесс ремоделирования сердечной мышцы на фоне гипертонической болезни нами была проведена оценка влияния полиморфизмов изучаемых генов на поражение органов-мишеней, прежде всего в виде ГМЛЖ. Реализуя поставленную задачу, группа БА-ГБ, включающая 61 человек, разделена на подгруппу БА-ГБ 1 стадии (20 пациентов (32,8%)) и БА-ГБ 2 стадии (41 пациент (67,2%)).

Больные с ГБ 2 стадии имели достоверно больший возраст на момент исследования в сравнении с больными ГБ 1 стадии ($p < 0,05$), по индексу массы тела статистически значимых различий не получено [таблица 11].

При сопоставлении результатов общеклинического исследования [таблица 11], выявлено закономерно достоверно значимые различия показателей, характеризующих гипертрофию левого желудочка, что отражает поражение органов-мишеней при ГБ 2 стадии. Кроме того, у пациентов со 2 стадией гипертонической болезни отмечались достоверно более значимые нарушения липидного спектра (у 35 пациентов (85,4%) в сравнении с 4 (20%) пациентами 1 подгруппы ($p < 0,05$)), что согласуется с данными о АГ как фактора риска атеросклеротического процесса, вероятнее всего за счет ЭД. Причем данная тенденция четко ассоциирована с возрастом пациентов.

Таблица 11 – Лабораторно-инструментальные показатели больных БА с ГБ 1 и 2 стадий

Лабораторно-инструментальные характеристики	БА и ГБ 1 стадии (n =20)	БА и ГБ 2 стадии (n =41)	Уровень Р
Возраст, лет	49,5 [46; 54]	61 [57; 64]	0,00000
общий холестерин, ммоль/л	5,45 [4,7; 5,965]	5,9 [5,6; 6,2]	0,02802
ЛПНП, ммоль/л	3,05 [2,8; 3,75]	4 [3,2; 4,3]	0,00542
Триглицериды, ммоль/л	1,8 [1,65; 2,05]	1,8 [1,44; 2,3]	0,96936
КДП левого желудочка, см	5,1 [5; 5,15]	5,52 [5,4; 5,6]	0,00003
КСР левого желудочка, см	3,5 [3,4; 3,85]	4 [3,8; 4,2]	0,01338
фракция выброса, %	58 [55,5; 61,5]	56 [52; 60]	0,07856
толщина МЖП, см	1 [0,9; 1]	1,2 [1,12; 1,2]	0,00000
толщина ЗСДЖ, см	0,95 [0,8; 1]	1,2 [1,1; 1,2]	0,00000
ММЛЖ, г	207,4 [188,6; 226]	323,5 [303,7; 341,7]	0,00000
ИММЛЖ, г/м ²	107,5 [104,4; 113,05]	170,9 [150,9; 180,5]	0,00000
ИМТ, кг/м ²	30,05 [27,75; 33,95]	27,9 [24,5; 31,7]	0,05880

С другой стороны, статистически достоверные различия уровня холестерина в исследуемых подгруппах подтверждают литературные данные о том, что холестерин повышает адаптивные возможности организма, не только участвуя в энергетических реакциях. Являясь структурным компонентом клеточных мембран, он выполняет роль антиоксиданта [20], активизирует синтез ферментов, участвующих в метаболизме белков, оказывает стимулирующее влияние на фагоцитоз, в том числе в легких, выполняет метаболическую функцию, являясь продуктом синтеза стероидных гормонов и сурфактанта.

Так как все перечисленные сферы действия холестерина являются составными частями патогенеза бронхиальной астмы, не исключено, что повышение его уровня в крови при этом заболевании носит и приспособительный характер.

По другим клиническим характеристикам исследуемые группы достоверно не отличались.

Больные БА с сопутствующей ГБ 2 стадии имели достоверно большую длительность ГБ ($p < 0,05$) на момент включения в исследование [рисунок 8].

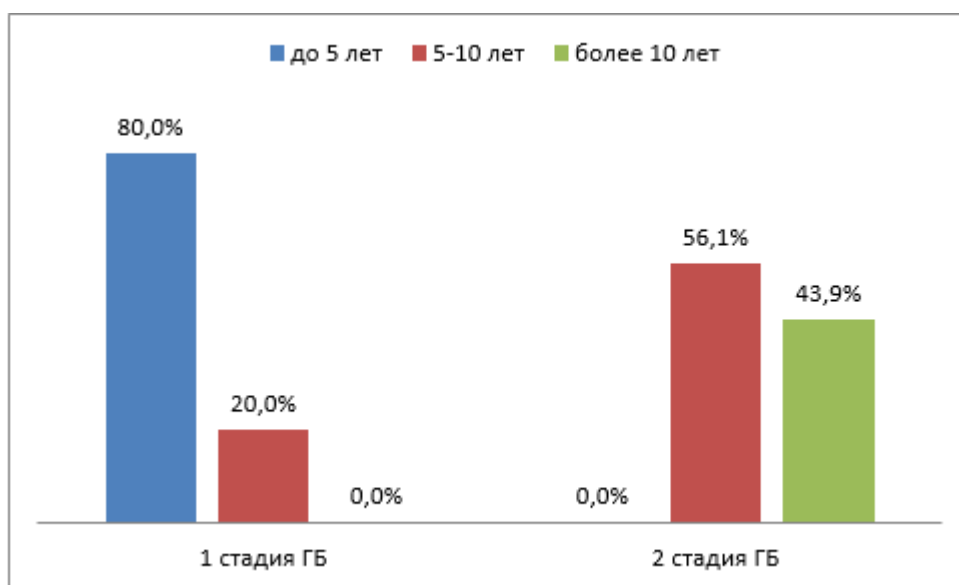


Рисунок 8 – Длительность ГБ у больных БА в зависимости от стадии ГБ

4.3.2. Ассоциация полиморфизма Asn363Ser гена рецептора к глюкагону (GCCR) со стадией гипертонической болезни при бронхиальной астме

В исследуемой выборке по полиморфному гену GCCR (Asn363Ser) генетическая информация носила следующее распределение: в подгруппе 1 стадии встречался только генотип AA у 20 (100,0%) человек; в подгруппе БА-ГБ 2 стадии генотип AA выявлен у 30 (73,2%) человек, генотип AS – у 8 (19,5%) человек, генотип SS – у 3 (7,3%) пациентов [таблица 12]. Распределение генетического материала в исследуемых группах не соответствовало равновесию Харди-Вайнберга ($p < 0,05$), в связи с чем для сравнения встречаемости аллелей полиморфизма Asn363Ser GCCR использована общая модель наследования. При

сравнении частот генотипов в подгруппе БА-ГБ 1 стадии и БА-ГБ 2 стадии встречаемость генотипа AA достоверно не отличалась, в то время носительство AS- и SS-генотипов ассоциировалась со 2 стадия ГБ ($p=0,034$ и $p=0,011$ соответственно) [таблица 12]. Так как AS- и SS-генотипы рассматриваются как маркёры неконтролируемого течения БА, полученные данные, вероятнее всего, обусловлены развитием синдрома «взаимного отягощения» при сочетанной кардиореспираторной патологии. Литературные данные подтверждают наличие структурно-функциональных изменений ЛЖ у пациентов при БА с сердечно-сосудистой патологией. Причем нарушения диастолической функции ЛЖ, согласно литературным данным, отмечаются у больных с сердечно-сосудистой патологией уже при легкой степени БА, достигая наибольшей выраженности при тяжелом течении БА. При этом изменения в ЛЖ усугубляются с ростом степени тяжести БА. Это способствует более тяжелому течению как основного, так и сопутствующего заболевания [62].

Таблица 12 – Частоты аллелей и генотипов полиморфизма Asn363Ser гена рецептора к глюкагону (GCCR) у больных БА в зависимости от стадии ГБ

Генотип	1 стадия ГБ (n=20)	2 стадия ГБ (n=41)	χ^2	P
AA	20 (100,0%)	30 (73,2%)	0,185	0,6670
AS	0 (0%)	8 (19,5%)	4,492	0,0341
SS	0 (0%)	3 (7,3%)	6,468	0,011
Аллель А	40 (100%)	68 (82,9%)	7,715	0,0055
Аллель S	0 (0%)	14 (17,1%)		

При анализе частоты генотипов других полиморфных маркеров изучаемых генов статистически значимых ассоциаций не выявлено.

4.4. Прогнозирование риска развития гипертонической болезни при бронхиальной астме

Конечным этапом нашего исследования явилась разработка модели прогнозирования риска развития ГБ при БА у жителей Рязанского региона на основании данных молекулярно-генетического анализа.

Для получения наглядной модели классификации использован метод «деревьев классификации». Качество построенной модели с помощью дерева классификаций характеризуется двумя основными признаками: точность распознавания и ошибка. Процесс построения дерева происходит сверху вниз, то есть, по нисходящей. В ходе процесса алгоритм должен иметь такой критерий разветвления, который бы ассоциировался с узлом проверки. В работе использован полный перебор деревьев с одномерным ветвлением по алгоритму CART, направленного на построение бинарного дерева решений. Каждый узел бинарного дерева при разбиении имеет только двух потомков, называемых дочерними ветвями. Дальнейшее распределение ветви зависит от исходных данных, которые описывает данная ветвь. На каждом шаге построения, согласно правилу, формируемому в узле, происходит деление указанного множества объектов на две части. Остановка ветвления осуществлялась прямой остановкой по методу FACT.

По данному алгоритму построены 2 «деревья классификаций», оценивающих риск развития гипертонической болезни у больных бронхиальной астмы в зависимости от ряда условий.

Посредством линейного регрессионного анализа для построения собственной модели стратификации риска развития гипертонической болезни у больных БА проведена оценка абсолютного и относительного риска развития гипертонической болезни с расчетом значимости каждого фактора с помощью критерия χ^2 Пирсона [таблица 13]. Относительный риск представляет собой отношение риска наступления определенного события у лиц, подвергшихся воздействию факторов риска, по сравнению с контрольной группой.

Таблица 13 – Оценка абсолютных и относительных рисков развития ГБ по ключевым клиническим факторам

Признак	БА (абс. риск)	БА-ГБ (абс. риск)	ОР	95% ДИ	p
Возраст ≥ 55 лет	23 (48,9%)	38 (88,4%)	1,81	1,32 - 2,47	<0,0001
ИМТ $\geq 23,5$ кг/м ²	6 (35,3%)	55 (75,3%)	2,13	1,11 - 4,12	0,0015
Тяжелое течение БА	17 (48,6%)	44 (80,0%)	1,65	1,14 - 2,37	0,0019
Неконтролируемое течение БА	34 (58,6%)	27 (84,4%)	1,44	1,11 - 1,87	0,0123

При анализе показателей группы сравнения и основной группы выяснилось, что риск возникновения ГБ значительно выше у лиц с ИМТ у лиц $\geq 23,5$ кг/м² - ОР 2,13 (95% ДИ 1,11-4,12, p <0,0015), в возрасте старше 55 лет – ОР 1,81 (95% ДИ 1,32-2,47, p <0,0001), с тяжелым течением БА - ОР 1,65 (95% ДИ 1,14-2,37, p <0,0019) и/или неконтролируемым ее – ОР 1,44 (95% ДИ 1,11-1,87, p <0,0123).

Для расчетов использовались качественные признаки, поэтому количественные показатели кодировались по уровню прогностической значимости, определенной в ROC- анализе. В качестве независимых факторов, выявленных в ходе однофакторного анализа, в многофакторный анализ включены: степень контроля БА, длительность БА, ИМТ $\geq 23,5$ кг/м², наличие или отсутствие полиморфизма T174M и M235T гена ангиотензиногена AGT.

На рисунке 9 представлена прогностическая модель диагностики ГБ у лиц с БА в зависимости от степени контроля, длительности БА, параметров ИМТ и наличия различных полиморфных вариантов полиморфизма T174M гена ангиотензиногена с отражением результатов моделирования и прогнозирования в таблице 14.

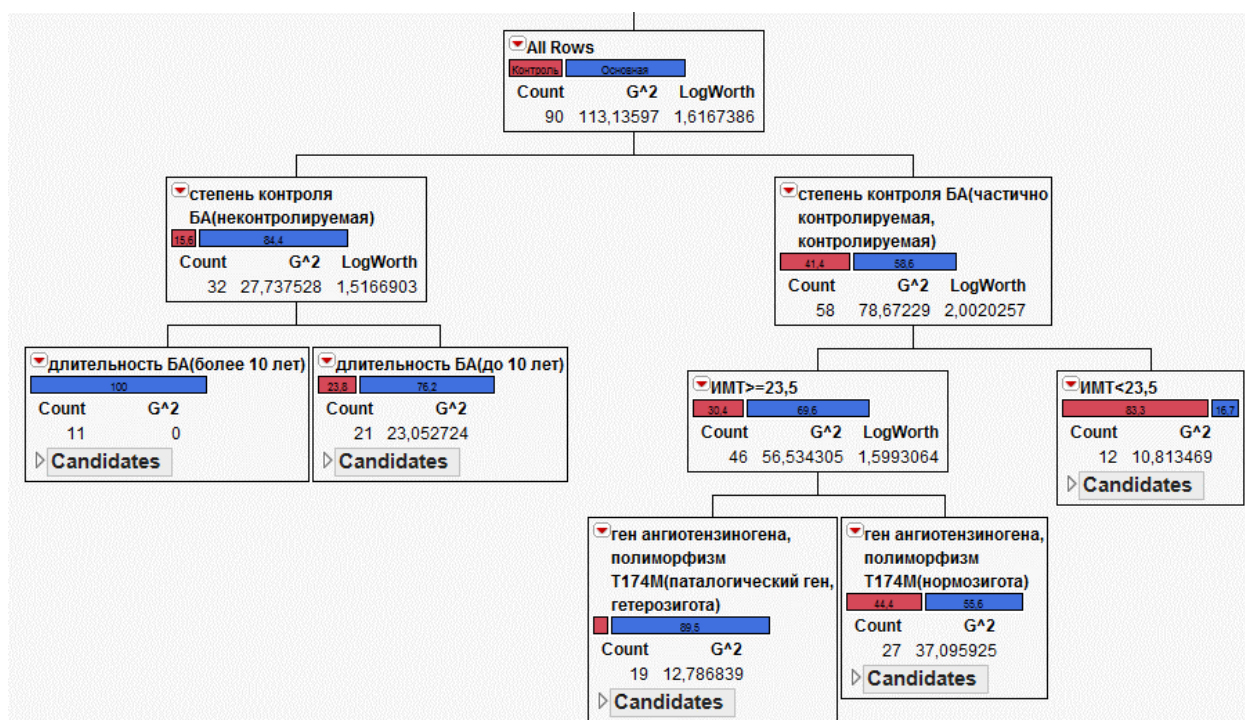


Рисунок 9 – Дерево решений №1 с указанием условий ветвления

Таблица 14 – Результат моделирования и прогнозирование

№	Правило	Объем выборки	Риск развития ГБ
1	Неконтролируемая БА & длительность БА более 10 лет	11	100,0%
2	частично контролируемая / контролируемая БА & ИМТ \geq 23,5 & ММ/ ТМ генотип T174М АGТ	19	89,5%
3	Неконтролируемая БА & длительность БА до 10 лет	21	76,20%
4	частично контролируема / контролируемая БА & ИМТ \geq 23,5 & ТТ генотип T174М АGТ	27	56%
5	частично контролируемая / контролируемая БА & ИМТ<23,5	12	16,7%

В результате проведенного ROC-анализа [рисунок 10] были получены данные о высокой диагностической значимости таких факторов как неконтролируемая БА, длительность БА более 10 лет, наличие ИМТ \geq 23,5 кг/м², выявление патологического гомозиготного и гетерозиготного вариантов полиморфизма T174M гена АGТ, сопряженных с высоким риском развития ГБ у больных БА.

Данная модель обладает чувствительностью 72,1% и специфичностью 75,9% в отношении диагностики ГБ у лиц с БА (площадь под кривой 0,812). Прогностическая ценность положительного результата данной модели составила 86,3%, отрицательного результата – 56,4%.

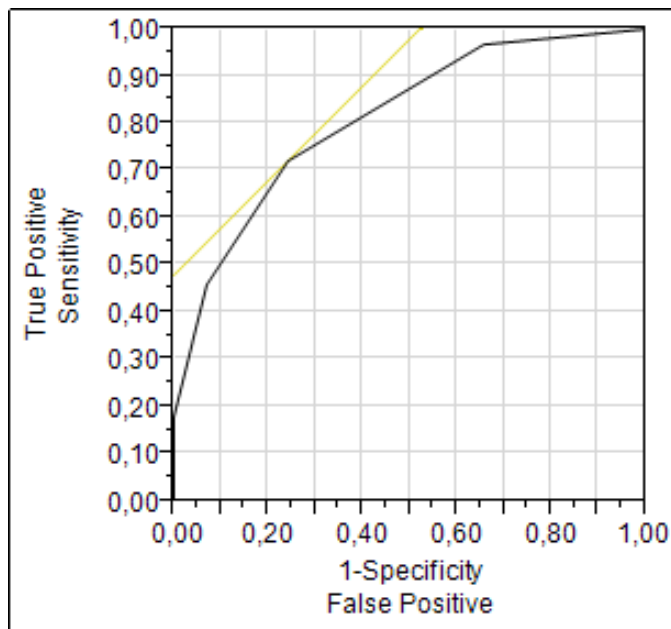


Рисунок 10 – ROC-кривая оценки прогностической ценности дерева классификаций №1

На рисунке 11 представлена прогностическая модель диагностики ГБ у лиц с БА в зависимости от тех же клинических факторов при наличии различных полиморфных вариантов полиморфизма M235T гена ангиотензиногена AGT. Результаты моделирования и прогнозирования данной модели представлены в таблице 15.

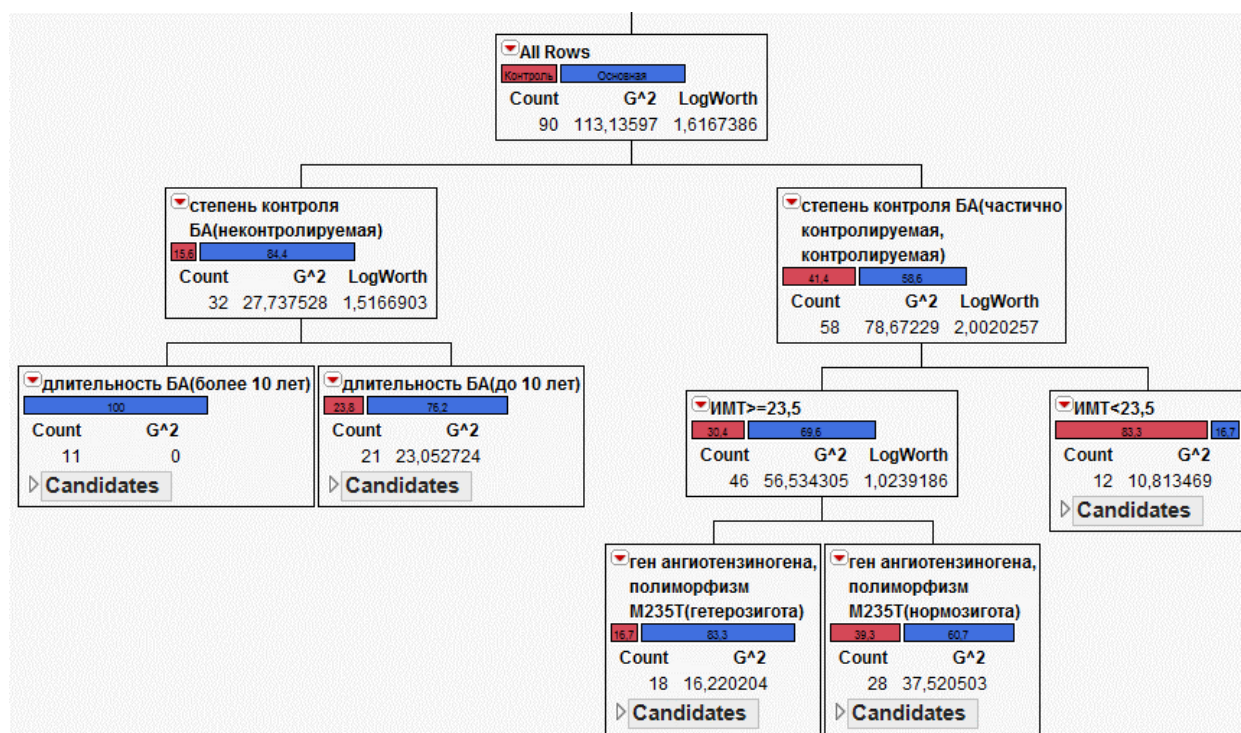


Рисунок 11 – Дерево решений №2 с указанием условий ветвления

Таблица 15 – Результат моделирования и прогнозирования

№	Правило	Объем выборки	Риск развития ГБ
1	Неконтролируемая БА & длительность БА более 10 лет	11	100,0%
2	Частично контролируемая / контролируемая & ИМТ≥23,5 & МТ генотип M235T AGT	18	83,3%
3	Неконтролируемая БА & длительность БА до 10 лет	21	76,20%
4	Частично контролируемая / контролируемая БА & ИМТ≥23,5 & ММ генотип M235T AGT	28	61%
5	Частично контролируемая / контролируемая БА & ИМТ<23,5	12	16,7%

В результате проведенного ROC-анализа [рисунок 12] дерева классификаций №2 также получены данные о высокой диагностической информативности

используемых критериев (степени контроля, длительности БА, наличия гетерозиготного варианта полиморфизма M235T гена ангиотензиногена AGT) в отношении риска развития ГБ у больных БА.

Данная модель обладает чувствительностью 68,9% и специфичностью 72,4% в отношении диагностики ГБ у лиц с БА (площадь под кривой 0,78). Прогностическая ценность положительного результата данной модели составила 84,0%, отрицательного результата – 52,5%.

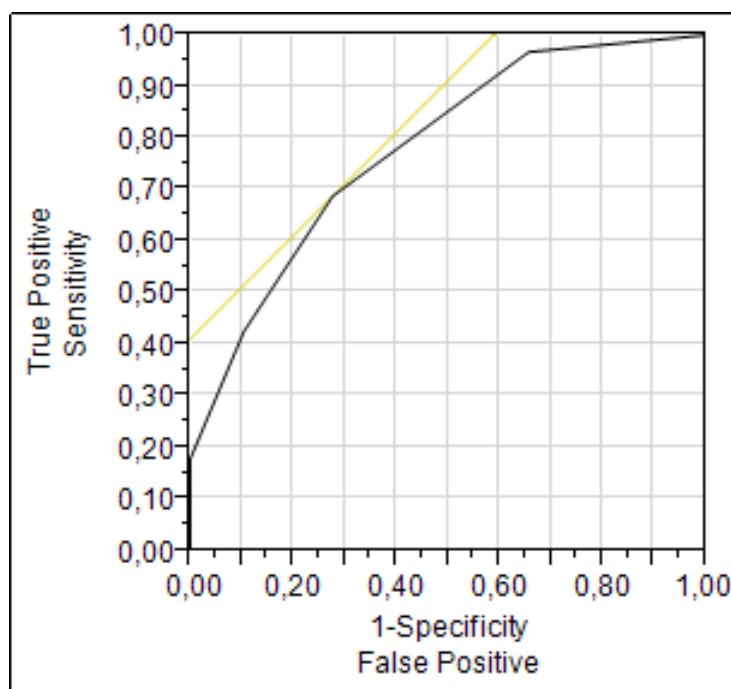


Рисунок 12 – ROC-кривая оценки прогностической ценности дерева классификаций №2

Вероятность правильной классификации моделей составила около 80,0%. Таким образом, независимыми прогностическими факторами развития гипертонической болезни у больных БА явились: степень контроля БА, длительность БА, ИМТ, полиморфизм M235T и T174M гена AGT, что требует проведение комплексной оценки анамнестических, клинических, генетических факторов в оценке прогноза ГБ. Остальные факторы риска и полиморфизмы генов не вошли в прогностическую модель в виду малой прогностической силы по результатам многофакторного анализа.

Алгоритм определения склонности к развитию гипертонической болезни у больных бронхиальной астмой можно разделить на 2 этапа.

На первом этапе проводится клиническое обследование больных БА с определением анамнестических данных (длительность заболевания), факторов риска (степень контроля БА, определение антропометрических данных - ИМТ).

На втором этапе проводится определение генотипа полиморфизмов гена AGT с учетом выявленных факторов риска, определение степени риска развития ГБ.

Система профилактики ГБ в группе жителей Рязани и Рязанской области условно может быть разделена на четыре этапа:

I этап – скрининг АГ, направленный на своевременное выявление группы риска среди лиц без клинических признаков АГ с учетом воздействия внешних факторов среды, провоцирующих манифестацию заболевания, анамнестических и клинических данных.

II этап – организация медико-генетического консультирования больных БА среди лиц с повышенным риском развития ГБ.

III этап – первичная профилактика АГ, направленная на наблюдение за больными БА и лицами с генетической предрасположенностью к ГБ. Первичная профилактика должна проводиться с целью раннего выявления заболевания и/или пролонгации сроков его развития.

IV этап – вторичная профилактика у больных ГБ, направленная на предупреждение поражения органов-мишеней, развития ассоциированных клинических состояний.

Учитывая известные факторы риска развития ГБ при БА, особенности клинического проявления заболевания и данные молекулярной генетики, нами разработан скрининг, как первый этап в профилактике развития гипертонической болезни (таблицы 13,14) с формированием групп риска.

Группы высокого риска развития ГБ при БА в рязанской популяции:

- Больные с неконтролируемой БА вне зависимости от длительности заболевания;

- Больные с контролируемой или частично контролируемой БА, ИМТ \geq 23,5 кг/м², являющиеся носителями патологического гомозиготного или гетерозиготного вариантов полиморфизма T174M гена AGT;
- Больные с контролируемой или частично контролируемой БА, ИМТ \geq 23,5 кг/м², являющиеся носителями гетерозиготного варианта полиморфизма M235T гена AGT.

Данный метод может быть использован в кардиологии, пульмонологии для прогнозирования развития и профилактики ГБ при БА у жителей г. Рязани и Рязанской области.

ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Современная действительность характеризуется неуклонным ростом заболеваемости бронхиальной астмы, что связано с социально-экономическими, демографическими и экологическими проблемами. Причем всё чаще диагностируются тяжелые формы заболевания [12,62]. Немаловажным является тот факт, что ежегодно увеличивается количество больных, у которых манифестация бронхиальной астмы возникает после 40-50 лет, что предрасполагает к коморбидности у данной категории лиц.

Высокая частота кардиореспираторной коморбидности обусловлена прежде всего значительным «омоложением» сердечно-сосудистых заболеваниями [8,23].

Полиморбидность существенно меняет клиническую картину каждой из нозологий, взаимоотношает течение заболевания и существенно затрудняет диагностику и лечение [10,65].

Механизмы, определяющие хронизацию болезни, зачастую являются общими, в связи с чем большее понимание единых звеньев сочетанной патологии позволит преодолеть известные трудности её терапии [59].

Согласно литературным данным, частота обнаружения артериальной гипертензии у лиц, страдающих бронхиальной астмой, составляет около 30% [28]. Высокая частота встречаемости обусловлена как тесными функциональными связями дыхательной и сердечно-сосудистой систем, так и взаимным патологическим влиянием артериальной гипертензии и бронхиальной астмы на системную и внутрисердечную гемодинамику.

На сегодняшний день существует потребность в современных доступных скрининговых методах объективного исследования архитектоники сосудов и функции эндотелия у больных бронхиальной астмой, в том числе и на доклиническом этапе.

Таковыми методами являются медико-генетический скрининг для разработки эффективных мер профилактики, достижения контроля бронхиальной астмы и предотвращения прогрессирования заболевания.

Уделяя большое внимание персонифицированному подходу, современная медицина диктует изучение молекулярно-генетических аспектов заболеваний: изучается роль полиморфизмов генов-кандидатов сердечно-сосудистых заболеваний при кардиальной патологии, генетические механизмы реализации бронхиальной астмы, однако данные о генетических особенностях при сочетанной патологии наиболее распространенных заболеваний дыхательной и сердечно-сосудистой систем в современной литературе немногочисленны.

Исходя из вышеизложенного, представлялось актуальным изучение клинико-функциональных особенностей при сочетанном течении бронхиальной астмы и гипертонической болезни у пациентов с различными полиморфными вариантами генов-кандидатов сердечно-сосудистых заболеваний.

Целью нашего исследования явилось изучение клинико-диагностического значения полиморфизмов некоторых генов-кандидатов сердечно-сосудистых заболеваний у больных бронхиальной астмой при сопутствующей гипертонической болезни.

Исходя из поставленной цели, были определены следующие задачи: оценить клинико-функциональные характеристики сочетанного течения бронхиальной астмы и гипертонической болезни; проанализировать особенности течения бронхиальной астмы при различных полиморфных вариантах генов сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с бронхиальной астмой при сочетанном течении с гипертонической болезнью; изучить особенности течения гипертонической болезни при различных полиморфных вариантах генов сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с бронхиальной астмой при сопутствующей гипертонической болезни; построить прогностическую модель оценки риска развития гипертонической болезни в зависимости от факторов риска и «задействованных» в развитии гипертонической болезни полиморфизмов генов сердечно-сосудистых заболеваний.

Для решения поставленных задач было проведено комплексное клинико-инструментальное обследование, в которое включены 90 больных. Обследованные пациенты были разделены на 2 группы: в первую группу был

включен 61 пациент с бронхиальной астмой и сопутствующей гипертонической болезнью, во вторую - 29 больных «изолированной» бронхиальной астмой.

После подписания информированного согласия проводилась оценка соответствия участников исследования критериям включения и исключения.

Всем больным, включенным в исследование, после ознакомления и подписания ими информированного согласия проводилось физикальное, лабораторно-инструментальное и генетическое обследование.

Оценка тяжести бронхообструктивной патологии у пациентов обеих групп проводилась посредством изучения анамнеза, общеклинического исследования, выполнения ФВД; выраженность кардиоваскулярной патологии определялась по данным самоконтроля артериального давления, выполнения ЭКГ, Эхо-КГ, а также лабораторного исследования, включающего оценку липидного спектра. Полиморфизмы генов исследованы методом SNP (single nucleotide polymorphism – единичные нуклеотидные замены) на тест-системах «SPN-экспресс» НПФ «Литех». Выполнялось определение полиморфизмов генов эндотелина-1 (EDN1, Lys198Asn), ангиотензиногена (AGT, Thr174Met, Met235Thr), эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS C786T), аполипопротеина E (APOE, Leu28Pro), липопротеиновой липазы (LPL, S447X), тромбоцитарного гликопротеина 1b, α -субъединицы (GPIb α , Thr145Met), рецептора к глюкагону (GCCR, Asn363Ser).

Статистическая обработка данных выполнялась с использованием пакетов прикладных программ Statistica 10 и SAS JMP 10. Использовались непараметрический критерий Манна-Уитни, критерий хи-квадрат Пирсона, критерия согласия Шапиро-Уилка, рассчитывались медиана и квартили.

Для моделирования оценки риска артериальной гипертензии у пациентов в зависимости от ряда показателей, использовались деревья классификаций. Для оценки качества построенных деревьев применялся ROC-анализ.

Анализируя влияние сочетанной патологии на функцию внешнего дыхания у больных, страдающих бронхиальной астмой, установлено, что у больных с сочетанной патологией БА и ГБ отмечается более тяжелое течение бронхиальной астмы ($p=0,00069$). В литературе имеются противоречивые результаты влияния

кардиальной патологии на функция внешнего дыхания. Часть работ указывает на ухудшение показателей функции внешнего дыхания у больных сочетанной патологией в зависимости от степени артериальной гипертензии [43]. В то время как ряд исследователей не подтвердили взаимосвязь ухудшения функции внешнего дыхания у пациентов с кардиореспираторной патологией [12,62]. Вероятно, данный факт обусловлен фазой течения заболевания, во время которого проводились исследования, так как некоторыми авторами было показано что коморбидные заболевания, в том числе и артериальная гипертензия, оказывают влияние не только на формирование неконтролируемого течения бронхиальной астмы, но и на развитие частых обострение бронхиальной астмы [43].

Анализируя распределение генетической информации полиморфизмов изучаемых генов-кандидатов сердечно-сосудистых заболеваний, в исследуемых группах не определялось достоверного отличия частот генотипов в зависимости от групп пациентов ($p>0,05$), за исключением превалирования генотипа AS полиморфизма Asn363Ser гена GCCR в группе сравнения ($p=0,04$), что предопределило проведение углубленного анализа с выявлением ассоциаций полиморфных вариантов генов с течением бронхиальной астмы и гипертонической болезни.

Оценивая взаимосвязь длительности течения и степени контроля бронхиальной астмы при сопутствующей гипертонической болезни с полиморфизмом Asn363Ser гена GCCR, установлено, что генотип AS по данному полиморфизму ассоциирован с неконтролируемым течением бронхиальной астмы при сопутствующей артериальной гипертензии ($p=0,008$). Кроме того, носители патологического гомозиготного и гетерозиготного вариантов полиморфизма Asn363Ser имеют больший стаж бронхиальной астмы. В противовес, у носителей генотипа AA по полиморфизму Asn363Ser гена GCCR достоверно чаще диагностировалась частично контролируемая бронхиальная астма ($p=0,035$), а носительство генотипа AA ассоциировалось с меньшим стажем бронхиальной астмы в группе сочетанного течения бронхиальной астмы и гипертонической болезни ($p=0,02$). Достоверных различий по генотипу SS в исследуемой группе не

получено, вероятнее всего, за счет недостаточного количества пациентов с носительством данного генотипа. Полученные результаты позволяют рассматривать генотип AA как протективный в отношении контроля и прогрессирования бронхообструктивной патологии, в то время как генотип AS – как маркер неконтролируемого течения бронхиальной астмы при сочетанной кардиореспираторной патологии. Представленные данные позволяют использовать определение полиморфизма Asn363Serгена GCCR в качестве дополнительного критерия при оценке индивидуального прогноза формирования тяжелого неконтролируемого течения у пациентов с бронхиальной астмой [43].

NO играет важную роль в регуляции функций легких и в патофизиологии заболеваний системы дыхания. Активные радикалы азота увеличивают продукцию муцина и эпителиальной слизи, ускоряют движения ресничек реснитчатого эпителия, индуцируют активность апикальных анионных и базолатеральных калиевых каналов эпителиоцитов, способствуя механической элиминации инфекционных агентов. Результаты многочисленных исследований отражают прогрессирование бронхолегочных заболеваний при недостаточном синтезе NO. Анализируя связь полиморфизма T786C гена eNOS и степени контроля бронхиальной астмы установлено, что носительство TT генотипа ассоциировалось с контролируемым и частично контролируемым течением бронхиальной астмы ($p=0,0017$), тогда как TC генотип достоверно чаще выявлялся у лиц с неконтролируемой БА ($p=0,0093$). Полученные данные позволяют предположить предикторную роль TC генотипа в формировании феномена неконтролируемой БА, в то время как TT генотип следует рассматривать как протективный в отношении контроля над бронхообструктивной патологией.

Для анализа полиморфизмов изучаемых генов сердечно-сосудистых заболеваний и течения гипертонической болезни у пациентов с бронхиальной астмой пациенты группы с сочетанным течением бронхиальной астмы и гипертонической болезни разделены на группы в зависимости от дебюта гипертонической болезни: группу с ранним дебютом и группу с поздним дебютом

артериальной гипертензии. Под «ранним» началом гипертонической болезни понимали возникновение заболевания в возрасте менее 45 лет у мужчин и менее 55 лет у женщин. У пациентов группы позднего дебюта гипертонической болезни выявлены достоверно большие ($p < 0,05$) показатели эхокардиографии, характеризующие гипертрофию миокарда левого желудочка (ТЗСЛЖ, ТМЖП, ММЛЖ, ИММЛЖ). Кроме того, у лиц с бронхиальной астмой при позднем дебюте гипертонической болезни регистрировались достоверно большие значения общего холестерина ($p = 0,0002$) и его атерогенных фракций (ЛПНП) ($p = 0,0003$), что, по нашему мнению, связано прежде всего с возрастным критерием. Полученные результаты, вероятнее всего, обусловлены длительным бессимптомным течением артериальной гипертензии до клинической манифестации заболевания, отсутствием должного комплаенса и адекватной медикаментозной терапии у данной категории пациентов.

Оценивая связь полиморфизма Lys198Asn гена EDN1 с течением гипертонической болезни, выявлено, что раннее начало гипертонической болезни у пациентов с бронхиальной астмой ассоциировано с носительством ТТ-генотипа ($p = 0,0018$). Частота встречаемости гетерозиготного GT генотипа в исследуемых подгруппах отличалась статистически не достоверно, однако в группе позднего начала гипертонической болезни доля гетерозиготного генотипа в 2 раза превышала таковую в группе раннего дебюта гипертонической болезни. По данным литературы вариант rs5370 (Т) приводит к формированию эндотелина-1 повышенной активности. Наличие хотя бы одного аллеля Т является фактором риска выраженного вазоконстрикторного эффекта, что определяло трехкратный риск развития гипертонической болезни у носителей ТТ генотипа [17]. Полученные данные могут указывать на предикторную роль ТТ генотипа в реализации гипертонической болезни, в том числе и у пациентов с бронхиальной астмой.

Анализируя влияние полиморфизма T174M гена AGT на течение гипертонической болезни у пациентов с бронхиальной астмой, установлено, что ТМ-генотип изучаемого полиморфизма также ассоциирован с ранним дебютом

гипертонической болезни при сочетанном течении бронхиальной астмы и гипертонической болезни ($p=0,013$). Полученные результаты в целом соотносятся с описанными ранее. Так, в исследовании З.Н. Калакуток и др. показано, что генотип ТМ полиморфизма Т174М гена АГТ ассоциирован с повышенным риском развития АГ у мужчин в возрасте до 45 лет [18]. Это позволяет рекомендовать определение полиморфизма для оценки риска развития гипертонической болезни у больных бронхиальной астмой.

При анализе связи полиморфизма Asn363Ser гена GCCR установлена взаимосвязь генотипа SS с ранним началом гипертонической болезни у больных бронхиальной астмой ($p=0,018$). Кроме того, в нашем исследовании AS- и SS-генотипы ассоциировались со 2 стадией гипертонической болезни у пациентов с сочетанным течением бронхиальной астмы и гипертонической болезни ($p < 0,05$). Однако, по нашему мнению, полученные данные не столько отражают вклад данного полиморфизма гена GCCR в реализацию артериальной гипертензии, сколько связаны с более тяжелым течением бронхиальной астмы при сопутствующей гипертонической болезни, отсутствием должного контроля бронхиальной астмы у носителей патологического гомозиготного SS генотипа, и, как следствие, развитием синдрома «взаимного отягощения». Данное обстоятельство подтверждает мысль о возможности рассмотрения патологического гомозиготного варианта полиморфизма Asn363Ser GCCR гена GCCR в качестве маркера неблагоприятного прогноза бронхиальной астмы, в том числе и при сопутствующей артериальной гипертензии.

В целом, полученные результаты еще раз подчеркивают целесообразность определения и дальнейшего изучения полиморфизмов вышеописанных генов у пациентов с кардиореспираторной патологией. В данном исследовании показана клиническая значимость выявления некоторых полиморфных вариантов генов GCCR, eNOS, EDN1, АГТ и их взаимосвязь со степенью контроля и длительностью БА, вклад в реализацию артериальной гипертензии и влияние на ее течение у пациентов с бронхиальной астмой. Продемонстрирована связь полиморфных вариантов генов GCCR, eNOS, EDN1 с ранним началом

гипертонической болезни у пациентов с бронхиальной астмой. Выявлена связь полиморфных вариантов гена GCCR не только с особенностями течения сердечно-сосудистой патологии, но и со степенью контроля и стажем бронхиальной астмы.

Таким образом, ранняя диагностика гипертонической болезни, определение генетических маркеров неблагоприятного прогноза у больных бронхиальной астмой целесообразно для проведения профилактики или доклинической диагностики возможных осложнений бронхо-легочной патологии, прежде всего легочного сердца и атеросклероза. Выявление факторов риска развития неконтролируемого течения бронхиальной астмы – это насущная потребность сегодняшнего дня, способствующая оптимизации и персонализации стандартной терапии, а также улучшению качества жизни пациентов. Поскольку бронхиальная астма является полигенным мультифакторным заболеванием, для построения достоверной шкалы предикторов неконтролируемого течения заболевания необходим анализ большого числа показателей.

Нами предпринята попытка разработки алгоритма прогнозирования риска развития гипертонической болезни у больных бронхиальной астмой в зависимости от ряда факторов, ориентированного на врачей-терапевтов, кардиологов, пульмонологов.

Посредством однофакторного регрессионного анализа для построения модели стратификации риска развития гипертонической болезни у больных бронхиальной астмой проведена оценка абсолютного и относительного риска развития гипертонической болезни с расчетом значимости каждого фактора с помощью критерия χ^2 Пирсона. При анализе показателей исследуемых групп выяснилось, что риск возникновения гипертонической болезни значительно выше у лиц с ИМТ $\geq 23,5$ кг/м² - ОР 2,13 (95% ДИ 1,11-4,12, $p = 0,0015$), в возрасте старше 55 лет – ОР 1,81 (95% ДИ 1,32-2,47, $p = 0,0001$), с тяжелым течением БА - ОР 1,65 (95% ДИ 1,14-2,37, $p = 0,0019$) и/или неконтролируемым ее течением - ОР 1,44 (95% ДИ 1,11-1,87, $p = 0,0123$). Признаки, прошедшие однофакторный анализ, были включены в многофакторный анализ, из генетических маркеров выбраны

полиморфизмы T174M и M235T AGT, в связи с чем смоделировано 2 дерева решений.

Чувствительность построенных моделей в отношении диагностики гипертонической болезни у пациентов с бронхиальной астмой составила для полиморфизма T174M AGT с учетом факторов риска, значимость которых была выявлена при однофакторном анализе, 72,1%, для полиморфизма M235T AGT – 68,9%, специфичность – 75,9% (площадь под кривой AuROC=0,812) и 72,4% (площадь под кривой AuROC=0,78) соответственно.

Статистический анализ показывает, что группу высокого риска гипертонической болезни составляют пациенты с неконтролируемой БА, ее длительностью более 10 лет, $ИМТ \geq 23,5 м^2$, носители генотипа MM и генотипа TM полиморфизма T174M и генотипа MT полиморфизма M235T гена AGT.

Внедрение данного алгоритма в клиническую практику позволит оценить риски развития гипертонической болезни, определить генетические маркеры «плохого» контроля бронхиальной астмы, и, следовательно, своевременно проводить профилактические меры с целью достижения более стойкой ремиссии бронхиальной астмы, в том числе и у лиц с кардиореспираторной патологией, уменьшить затраты пациента на терапию обострений и обеспечить меньшее число госпитализаций.

С этой позиции большое значение придается проведению диспансерных осмотров населения для выявления лиц повышенного риска, и комплексной оценке их состояния с использованием современных методов исследования, в том числе и генетических.

ВЫВОДЫ

1. Коморбидные заболевания существенно влияют на формирование неконтролируемого течения бронхиальной астмы. У пациентов с кардиореспираторной патологией регистрировалось достоверно более тяжелое течение бронхиальной астмы ($p=0,00069$).
2. Носительство генотипа AA полиморфизма Asn363Ser GCCR ассоциировалось с меньшим стажем бронхиальной астмы ($p=0,02$) в группе сочетанного течения бронхиальной астмы и гипертонической болезни.
3. С неконтролируемым течением бронхиальной астмы при сопутствующей гипертонической болезни ассоциированы генотип AS полиморфизма Asn363Ser GCCR ($p=0,008$) и генотип CT полиморфизма C786T гена eNOS ($p=0,009$). В противоположность, генотип AA полиморфизма Asn363Ser GCCR ($p=0,035$) и генотип TT полиморфизма C786T гена eNOS ($p=0,002$) следует рассматривать как протективные в отношении контроля бронхиальной астмы.
4. С ранним дебютом гипертонической болезни при бронхиальной астме ассоциированы: генотип TM полиморфизма T174M AGT ($p=0,013$), генотип TT полиморфизма Lys198Asn EDN1 ($p=0,018$).
5. У пациентов с сочетанным течением бронхиальной астмы и гипертонической болезни генотипы SS и AS полиморфизма Asn363Ser GCCR оказывают воздействие на процесс ремоделирования миокарда ($p=0,011$ и $p=0,034$ соответственно), генотип SS ассоциируется с ранним дебютом гипертонической болезни ($p=0,018$), что обусловлено тяжелым течением бронхиальной астмы у носителей данных генотипов с развитием синдрома «взаимного отягощения».

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У пациентов с сочетанным течением бронхиальной астмы и гипертонической болезни отмечается достоверно более тяжелое течение бронхиальной астмы, что предопределяет более детальное обследование и тщательное наблюдение данной группы пациентов.
2. Оценка полиморфизмов Asn363Ser GCCR, C786T eNOS могут быть использованы для выявления группы риска неконтролируемого течения бронхиальной астмы.
3. Оценку полиморфизмов T174M AGT, Lys198Asn EDN1 можно рекомендовать для выявления больных бронхиальной астмой с повышенным риском развития гипертонической болезни.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГ – артериальная гипертензия

АД – артериальное давление

БА – бронхиальная астма

ГБ – гипертоническая болезнь

ГКС – глюкокортикостероиды

ГЛЖ – гипертрофия левого желудочка

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ДС – диагностическая специфичность

ДЧ – диагностическая чувствительность

ДЭ – диагностическая эффективность

ЖЕЛ – жизненная емкость легких

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИМ – инфаркт миокарда

ИММЛЖ – индекс массы миокарда левого желудочка

ИМТ – индекс массы тела

КДР – конечный диастолический размер левого желудочка

КСР – конечный систолический размер левого желудочка

ЛЖ – левый желудочек

ЛПВП – липопротеины высокой плотности

ЛПНП – липопротеины низкой плотности

ЛПОНП – липопротеины очень низкой плотности

ММЛЖ – масса миокарда левого желудочка

МОС_{25%} – мгновенная объёмная скорость после выдоха 25% форсированной жизненной ёмкости лёгких

МОС_{50%} – мгновенная объёмная скорость после выдоха 50% форсированной жизненной ёмкости лёгких

МОС_{75%} – мгновенная объёмная скорость после выдоха 75% форсированной жизненной ёмкости лёгких

ОФВ₁ – объём форсированного выдоха за 1 секунду

ПТ – площадь поверхности тела

СД – сахарный диабет

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

ТГ – триглицериды

ТЗСЛЖ – толщина задней стенки левого желудочка

ТМЖП – толщина межжелудочковой перегородки

ФЖЕЛ – форсированная жизненная ёмкость легких

ХС – общий холестерин

ЧТКА – чрескожная транслюминальная ангиопластика

ЭД – эндотелиальная дисфункция

ЭКГ – электрокардиография

ЭхоКГ – эхокардиография

АГТ – ангиотензиноген

АПОЕ – аполипопротеин Е

EDN1 – эндотелин – 1

ESC – European Society of Cardiology / Европейское Общество кардиологов

ESH – European Society of Hypertension / Европейское Общество Гипертонии

ЕТ – эндотелин

eNOS – эндотелиальная синтаза оксида азота

GCCR – ген рецептора к глюкагону

GINA – Global Initiative for Asthma

GPIb α – гликопротеин Ib α -субъединицы

iNOS – макрофагальную синтаза оксида азота

nNOS – нейрональная синтаза оксида азота

NO – оксид азота

NOS – ген синтазы оксида азота

NOS1 – ген нейрональной синтазы оксида азота

NOS2 – ген макрофагальной синтазы оксида азота

NOS3 – ген эндотелиальной синтазы оксида азота

NO-синтаза – синтаза оксида азота

OMIM – On-line Mendelian Inheritance on the Man

SNP – полиморфизм единичного нуклеотидного сайта

VNTR – различное число tandemных повторов

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агапкина, Ю.В. Полиморфные маркеры генов-кандидатов и генетическая предрасположенность к неблагоприятному исходу у больных, перенесших острый коронарный синдром [Текст]: автореф. дис. ... канд. биол. наук / Ю.В. Агапкина. – М., 2010. – 20 с.
2. Алтухов, Ю.П. Генетические процессы в популяциях [Текст] / Ю.П. Алтухов. – М.: ИКЦ «Академкнига», 2003. – 432 с.
3. Андреева, М.Г. Роль полиморфизма T174M в формировании предрасположенности к артериальной гипертензии, особенностях ее течения и выборе гипотензивной терапии в зависимости от генотипа [Текст]: автореф. дис. ... канд. мед. наук / М.Г. Андреева. – Казань, 2003. – 16 с.
4. Аульченко, Ю. Методологические подходы и стратегии в картировании генов, контролирующих комплексные признаки [Текст] / Ю. Аульченко, Т. Аксенович // Инф. вестник ВОГиС. – 2006. – Т.10, №1. – С.189-203.
5. Бельских, Э.С. Распространенность коморбидных состояний у пациентов с бронхиальной астмой [Текст] / Э.С. Бельских, О.М. Урясьев, С.А. Куликов // Материалы ежегодной научной конференции Рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова. – Рязань: ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России, 2016. – С. 232-235.
6. Беялов, Ф.И. Лечение внутренних болезней в условиях коморбидности [Текст] / Ф.И. Беялов. – Иркутск: РИО ИГИУВ, 2011. – 305 с.
7. Болезни сердца и сосудов: руководство Европейского общества кардиологов [Текст] / под ред. А. Кэмма. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 1480 с.
8. Бронхиальная астма в России: результаты национального исследования качества медицинской помощи больным бронхиальной астмой [Текст] / А.Г. Чучалин [и др.] // Пульмонология. – 2006. – № 6. – С. 94-102.
9. Бронхиальная астма у детей: клинические рекомендации [Текст]. – М., 2017. – 67 с.

10. Ватутин, Н.Т. Коморбидность хронической обструктивной болезни легких и сердечно-сосудистой патологии: особенности лечения [Текст] / Н.Т. Ватутин, А.С. Смирнова // Пульмонология. – 2016. – Т. 26, № 3. – С.357-363.
11. Верткин, А.Л. Коморбидность – новая патология. Технология ее профилактики и лечения [Текст] / А.Л. Верткин, Н.О. Ховасова // Архив внутренней медицины. – 2013. – № 4. – С. 68–72.
12. Вильчинская, Н.В. Особенности течения и принципы медикаментозной коррекции гипертонической болезни у больных с хронической обструктивной болезнью легких [Текст]: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Н.В. Вильчинская. – М., 2005. – 30 с.
13. Влияние полиморфизмов генов эндотелиальной NO-синтазы и NADPH-оксидазы на развитие осложнений артериальной гипертензии [Текст] / Т.Ю. Кузнецова [и др.] // Кардиология. – 2008. – № 3. – С. 27–33.
14. Влияние полиморфизма генов ренин-ангиотензиновой системы на развитие хронической сердечной недостаточности у жителей Республики Дагестан [Текст] / Э.А. Касаева [и др.] // Дневник казанской медицинской школы. – 2017. – № 3 (17). – С.46-48.
15. Гарбузова, М.А. Роль генетических маркеров в формировании кластерных особенностей метаболического синдрома [Текст]: автореф. дис. ... канд. мед. наук / М.А. Гарбузова. – М., 2010. – 26 с.
16. Гены ангиотензинпревращающего фермента, NO-синтетазы и эндотелина-1 и гипертрофия миокарда левого желудочка у больных гипертонической болезнью коренных жителей Якутии [Текст] / Л.О. Минушкина [и др.] // Кардиология. – 2005. – №1. – С.41–46.
17. Дисфункция эндотелия как краеугольный камень сердечно-сосудистых событий: молекулярно- и фармакогенетические аспекты [Текст] / В.В. Киреева [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2014. – №10. – С.64-68.
18. Калакуток, З.Н. Полиморфизм генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и риск эссенциальной гипертензии у адыгов и русских [Текст]: автореф. дис...канд. мед. наук / З.Н. Калакуток. – Краснодар, 2002. – 23 с.

19. Кимельфельд, Е. И. Клинико-генетические аспекты ишемического инсульта у пациентов в возрасте до 50 лет [Текст]: дис ... канд. мед. наук / Е.И. Кимельфельд. – М., 2014. – 170 с.
20. Коррекция окислительного стресса природными антиоксидантами [Текст] / Н.В. Смирнова [и др.] // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2014. – №53. – С. 84-88.
21. Кузнецова, В.Л. Оксид азота: свойства, биологическая роль, механизмы действия [Электронный ресурс] / В.Л. Кузнецова, А.Г. Соловьева // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – №4. – Режим доступа: <https://www.science-education.ru/ru/issue/view?id=127>
22. Хедрик, Ф. Генетика популяций [Текст]: пер. с англ. / Ф. Хедрик. – М.: Техносфера, 2003. – 592 с.
23. Качество жизни больных с начальной стадией гипертонической болезни [Текст] / А.В. Бурсигов [и др.] // Клинич. медицина. – 2004. – № 7. – С.20-22.
24. Качество жизни населения Сибири [Текст] / Г.И. Симонова [и др.] // Бюллетень СО РАМН. – 2006. – №4. – С. 52-55.
25. Клинико-генетические детерминанты гипертрофии левого желудочка у больных эссенциальной гипертензией [Текст] / Ж.Д. Кобалава [и др.] // Кардиология. – 2001. – Т. 41, № 7. – С. 39–44.
26. Клинико - функциональная характеристика фенотипов тяжелой неконтролируемой бронхиальной астмы [Текст] / О.С. Кобякова [и др.] // Клинич. медицина. – 2006. – Т.84, № 2. – С. 24-27.
27. Коморбидные и мультиморбидные состояния в гериатрии [Текст] / Г.Т. Арьева [и др.] // Успехи геронтологии. – 2011. – №4. – С. 612–619.
28. Коррекция повышенного артериального давления антагонистами кальция у пациентов с бронхиальной астмой и хроническим бронхитом [Текст] / Г.Б. Федосеев [и др.] // Новые СПб. врачебные ведомости. – 2002. – Т.4, № 4. – С.35–37.
29. Кроненберг, Г. Ожирение и нарушения липидного обмена [Текст] / Г. Кроненберг [и др.]. – М.: ООО «Рид Элсивер», 2010. – 264 с.

30. Куандыкова, М.В. Бронхиальная астма у лиц пожилого и старческого возраста: клинические особенности и влияние на сердечно-сосудистую систему [Текст] / М.В. Куандыкова, В.Л. Баранов, М.А. Харитонов // Особенности течения и лечения заболеваний у жителей блокадного Ленинграда, лиц пожилого и старческого возраста. – СПб., 2008. – Вып. 4: Сердечно-сосудистые и ассоциированные заболевания. – С. 149–163.
31. Ландышев, Ю.С. Функциональное состояние внутрисекреторного аппарата поджелудочной железы и гипофизарно-надпочечниковой системы у больных бронхиальной астмой при лечении глюкокортикоидами [Текст] / Ю.С. Ландышев, Ю.В. Вахненко // Амурский медицинский журнал. – 2013. – Т.1, № 1. – С.11-18.
32. Левицкий, С.Н. Полиморфизм в гене *END1* и периферическая вазоконстрикция [Текст] / С.Н. Левицкий // Достижения науки 2017: сборник материалов Международной научно-практической конференции. – Кемерово, 2017. – С.31-35.
33. Мазур, В.В. Ремоделирование левого желудочка сердца у больных гипертонической болезнью [Текст] / В.В. Мазур // Клиническая медицина. – 2009. – № 2. – С. 24–27.
34. Мембранные рецепторы тромбоцитов: функции и полиморфизм [Текст] / Е.Н. Воронина [и др.] // Вестник ВОГиС. – 2006. – Т. 10, № 3. – С. 553-564.
35. Методические подходы к комплексной оценке состояния здоровья лиц пожилого и старческого возраста [Текст] / Е.А. Модестов [и др.] // Сиб. мед. обозрение. – 2001. – №2. – С. 23–25.
36. Мустафина, О.Е. Ассоциация T174M полиморфизма ангиотензиногена и эссенциальной гипертензии в русской и татарской популяции Башкортостана [Текст] / О.Е. Мустафина, Т.Р. Насибуллин, Э.К. Хуснутдинова // Молекулярная биология. – 2002. – Т.36, №4. – С.599-604.
37. Максимов, В.Н. Ассоциация генетических маркеров с артериальной гипертензией в сибирской популяции [Текст] / В.Н. Максимов, П.С. Орлов, С.К. Малютин // Российский кардиологический журнал. – 2014. – №10. – С.73-76.

38. Нгуен, Тхи Чанг. Особенности развития окислительного стресса и генетические маркеры предрасположенности к ишемической болезни сердца у лиц пожилого и старческого возраста Ростовской области [Текст]: автореф. дис. ... канд. биол. наук / Тхи Чанг Нгуен. – Ростов н/Д., 2012. – 22 с.
39. Овчаренко, С.И. Пожилой больной бронхиальной астмой: особенности ингаляционной терапии [Текст] / С. И. Овчаренко // Справ. поликлинич. врача. – 2006. – № 4. – С. 35–37.
40. Особенности метаболического синдрома у лиц пожилого и старческого возраста, жителей блокадного Ленинграда [Текст] / Э.Г. Гаспарян [и др.] // Особенности течения и лечения заболеваний у жителей блокадного Ленинграда, лиц пожилого и старческого возраста. – СПб., 2008. – Вып. 5: Эндокринологическая, нефрологическая патология и ассоциированные состояния. – С. 263–269.
41. Палагнюк, А.А. Влияние полиморфизма гена ЭТ-1 (Lys198Asn) на концентрацию эндотелина-1 в плазме крови у мужчин с эссенциальной гипертензией разной тяжести [Текст] / А.А. Палагнюк // Кардиологические чтения – 2016: сб. материалов 1-й науч.-практ. очно-заоч. конф. студентов и молодых ученых / под ред. Н. П. Митьковской, О. К. Дорониной; БГМУ. – Минск: БГМУ, 2016. – С. 132-137.
42. Пасиешвили, Т.М. Частота аллельного полиморфизма T-786C промотора гена эндотелиальной NOсинтазы у больных бронхиальной астмой и ожирением [Текст] / Т.М. Пасиешвили // Укр. терапевтический журнал. – 2014. – №2. – С. 75-79.
43. Позднякова, О.Ю. Клинико-фенотипическая характеристика неконтролируемого течения бронхиальной астмы и персонализированный подход к диагностике и лечению в амбулаторно-поликлинических условиях [Текст]: дис. ... д-ра мед. наук / О.Ю. Позднякова. – Ставрополь, 2015. – 305 с.
44. Полиморфизм генов и ремоделирование миокарда при гипертонической болезни [Текст] / С.Г. Кривощеников [и др.] // Вестник Северного (Арктического)

Федерального Университета, серия: медико-биологические науки. – 2016. – №2. – С.90-101.

45. Полиморфизм гена аполипопротеина Е и риск инфаркта миокарда [Текст] / О. Е. Мустафина [и др.] // Молекулярная биология. – 2002. – Т. 36, № 6. – С. 978–984.

46. Полиморфизм генов ангиотензинпревращающего фермента, ангиотензина II, NO-синтазы, эстрогеновых рецепторов и гендерные различия в их влиянии на развитие сердечно-сосудистой патологии [Текст] / С.М. Терещенко [и др.] // Кардиология. – 2009. – № 4. – С. 58–62.

47. Полиморфизм генов эндотелиальной NO-синтазы, эндотелина-1 и параоксоназы-1 как фактора риска кардиального синдрома Х у женщин [Текст] / В.С. Феоктистова [и др.] // Проблемы женского здоровья. – 2012. – №3 (7). – С.24-29.

48. Полиморфные маркеры генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и гена NO-синтазы в диагностике артериальной гипертензии у мужчин Центрального региона России [Текст] / Г.А. Сильвестрова [и др.] // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. – 2008. – №5. – С.40-45.

49. Полиморфизм генов ренин-ангиотензиновой системы и гена эндотелиальной NO-синтазы и макрососудистые осложнения при сахарном диабете типа 2 [Текст] / Ю.В. Котовская [и др.] // Артериальная гипертензия. – 2002. – Т.8, №3. – С.86-90.

50. Полиморфизм генов, ассоциированных с повышенным сердечно-сосудистым риском, и когнитивные расстройства у пациентов с ишемической болезнью сердца, осложненной хронической сердечной недостаточностью [Текст] / Т.В. Мартынович [и др.] // Сердце: журнал для практикующих врачей. – 2015. – № 1 (14). – С.13-18.

51. Полиморфные маркеры генов эндотелиальной NO-синтазы и сосудистого рецептора ангиотензиногена II и предрасположенность к ишемической болезни сердца [Текст] / Д.А. Чистяков [и др.] // Генетика. – 2000. – №12. – С.1707-1711.

52. Полипрагмазия: гериатрический аспект проблемы [Текст] / Л. Б. Лабезник [и др.] // Consilium Medicum. – 2007. – Т. 9, № 12. – С.29–34.
53. Проблемы и перспективы молекулярной генетики [Текст] / под ред. Е.Д. Свердловца. – М.: Изд-во Наука, 2003. – Т.1. – 372 с.
54. Пузырев, В.П. Генетический взгляд на феномен сочетанной патологии у человека [Текст] / В.П. Пузырев // Медицинская генетика. – 2008. – № 9. – С. 3-9.
55. Пузырев, В.П. Феномно-геномные отношения и патогенетика многофакторных заболеваний [Текст] / В. Пузырев // Вестник РАМН. – 2011. – № 9. – С.17-26.
56. ПЦР «в реальном времени» [Текст] / Д.В Ребриков [и др.]; под ред. Д.В. Ребрикова. – М.: Бином. Лаборатория знаний, 2009. – 223 с.
57. Распределение частот и аллелей и генотипов полиморфных вариантов G894T и T786C гена эндотелиальной синтазы азота у мужчин [Текст] / В.В. Зинчук [и др.] // Новости медико-биол. наук. – 2016. – Т.4, №3. – С. 17-21.
58. Связь параметров внутрисердечной гемодинамики с функцией респираторной системы у пациентов с ишемической болезнью сердца и коморбидной бронхолегочной патологией [Текст] / Е.Д. Баздырев [и др.] // Пульмонология. – 2016. – Т.26, № 3. – С. 328–335.
59. Прибылов, С.А. Антигипертензивная терапия у больных с сочетанием гипертонической болезни и бронхиальной астмы [Текст] / С.А. Прибылов, Н.Н. Прибылова, О.Ю. Махова // Артериальная гипертензия. – 2016. – Т.22, №3. – С.274-281.
60. Синдром перекреста функциональных заболеваний пищеварительного тракта [Текст] / М.А. Ливзан [и др.] // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – 2011. – № 2-3. – С. 22-23.
61. Тихонова, С.А. Полиморфизм генов эндотелиальной NO-синтазы, рецепторов ангиотензина 1-го типа, синтазы альдостерона и морфофункциональное состояние сердечно-сосудистой системы у мужчин молодого возраста с различными уровнями артериального давления [Текст] / С.А. Тихонова // Український кардіологічний журнал. – 2007. – № 5. – С. 39-44.

62. Урясьев, О.М. Бронхиальная астма и коморбидные состояния: частота, клинические взаимодействия и оптимизация лечения [Текст]: дис. ... д-ра мед. наук / О.М. Урясьев. – Рязань, 2013. – 254 с.
63. Фармакогенетические аспекты терапии эпросартаном у больных эссенциальной гипертензией узбекской национальности с учетом полиморфных маркеров ренин-ангиотензин-альдостероновой системы [Текст] / Д.Р. Курбанова [и др.] // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2009. – № 8 (3). – С.41-46.
64. Чернявина, А.И. Вклад полиморфизма генов сердечно-сосудистого риска в развитие артериального ремоделирования в зависимости от наличия артериальной гипертензии [Текст] / А.И. Чернявина, М.В. Суворовцева // Российский кардиологический журнал. – 2018. – №1 (153). – С. 43-50.
65. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению бронхиальной астмы [Текст] / под ред. А.Г. Чучалина. – М., 2016. – 55с.
66. Ширинский, В.С. Коморбидные заболевания – актуальная проблема клинической медицины [Текст] / В.С. Ширинский, И.В. Ширинский // Сиб. мед. журн. – 2014. – Т. 29, № 1. – С.7–11.
67. Шувалова, Ю.А. Влияние полиморфизма генов антиоксидантных ферментов на развитие рестеноза после стентирования коронарных артерий [Текст]: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Ю.А. Шувалова. – М., 2008. – 25 с.
68. Эффективность и безопасность амлодипина малеата у больных хронической обструктивной болезнью легких и бронхиальной астмой с сопутствующей артериальной гипертензией [Текст] / Н.А. Кароли [и др.] // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2010. – № 2. – С.173-178.
69. Ягода, А.В. Полиморфизм гена эндотелина-1 у больных ишемической болезнью [Текст] / А.В. Ягода, О.И. Боева, Е.В. Щеглова // Новые технологии, методы диагностики, лечения и профилактики. – 2007. – №1, № 8. – С.78-81.
70. A large study reveals no association between APOE and Parkinson's disease [Text] / M. Federoff [et al.] // Neurobiol Dis. – 2012. – Vol.46, № 2. – P.389–392.

71. A missense mutation in the glucagon receptor gene is associated with non-insulin-dependent diabetes mellitus [Text] / J. Hager [et al.] // *Nature Genet.* – 1995. – Vol.9. – P.299-304.
72. Analysis of Polymorphism of Angiotensin System Genes (ACE, AGTR1, and AGT) and Gene ITGB3 in Patients with Arterial Hypertension in Combination with Metabolic Syndrome [Text] / T.Y. Zotova [et al.] // *Bull. Exp. Biol. Med.* – 2016. – Vol.161, № 3. – P.334–338.
73. Angiotensinogen (AGT) M235T, AGT T174M and Angiotensin-1- Converting Enzyme (ACE) I / D Gene Polymorphisms in Essential Hypertension: Effects on Ramipril Efficacy [Text] / V. Kolovou [et al.] // *Open Cardiovasc. Med. J.* – 2015. – №.9. – P. 118-126.
74. Angiotensinogen M235T polymorphism and recurrent restenosis after repeated percutaneous transluminal coronary angioplasty [Text] / S. Hertwig [et al.] // *Clin.Sci.* – 2002. – Vol.103. – P.101–106.
75. Angiotensinogen T174M and M235T variants, sodium intake and hypertension among non-drinking, lean Japanese men and women [Text] / H. Iso [et al.] // *J Hypertens.* – 2000. – Vol.18, № 9. – P.1197-1206.
76. Angiotensinogen polymorphisms and elevated blood pressure in the general population: the Copenhagen City Heart Study [Text] / A.A. Sethi [et al.] // *Hypertension.* – 2001. – Vol.37, № 3. – P.875-881.
77. A novel allele of eNOS gene in the Italian population: the actual essence of intron 4 polymorphism [Text] / P. Bolli [et al.] // *Nitric Oxide.* – 2007. – Vol. 16, №3. – P. 392-394.
78. APOE distribution in world populations with new data from India and the UK [Text] / P. P. Singh [et al.] // *Annals of Human Biology.* – 2006. – Vol.33, № 3. – P.279–308.
79. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy [Text] / C.C. Liu [et al.] // *Nat Rev Neurol.* – 2013. – Vol.9, № 2. – P.106–118.

80. Apolipoprotein E4 and coronary heart disease in middle-aged men who smoke: a prospective study [Text] / S.E. Humphries [et al.] // *Lancet*. – 2001. – Vol. 358. – P. 115–119.
81. Apolipoprotein E Isoform Phenotype and LDL Subclass Response to a Reduced-Fat Diet [Text] / Darlene M. Dreon [et al.] // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2018. – Vol.15, № 1. – P.105-111.
82. Apolipoprotein E polymorphism and cardiovascular disease: a HuGE review [Text] / J.E. Eichner [et al.] // *Am J Epidemiol*. – 2002. – Vol.155, № 6. – P.487–495.
83. Apolipoprotein e polymorphism influences lipid phenotypes in Chinese families with familial combined hyperlipidemia [Text] / W.D. Pei [et al.] // *Circ J*. – 2006. – Vol. 70, № 12. – P.1606–1610.
84. Apolipoprotein E serum concentration and polymorphism in six European countries: the ApoEurope Project [Text] / F. Schiele [et al.] // *Atherosclerosis*. – 2000. – Vol.152, № 2. – P.475–488.
85. Association analyses between genetic polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase gene and hypertension in Japanese: The Suita Study [Text] / Y. Tsujita [et al.] // *J. Hypertens*. – 2001. – Vol. 19, №11. – P. 1941-1948.
86. Associations between LPL gene polymorphisms and coronary artery disease: evidence based on an updated and cumulative meta-analysis [Text] / Wen-Qi Ma [et al.] // *Biosci Rep*. – 2018. –Vol.38, № 2. – P.1-14.
87. Association between the Angiotensinogen (AGT) gene (M235T) polymorphism and Essential Hypertension in Egyptian patients [Text] / Marium M. Shamaa [et al.] // *The Egyptian Heart Journal*. – 2015. – Vol. 67,№ 1. – P. 1-5.
88. Association of endothelin-1 gene variant with hypertension [Text] / J.J. Jin [et al.] // *Hypertension*. – 2003. — Vol.41. – P.163–167.
89. Association of gene polymorphisms with myocardial infarction in individuals with different lipid profiles [Text] / T. Yoshida [et al.] // *International Journal of Molecular Medicine*. – 2007. – Vol. 20. – P.581–590.
90. Association of Interactions between dietary salt consumption and hypertension-susceptibility genetic polymorphisms with blood pressure among Japanese male

- workers [Text] / T. Imaizumi [et al.] // Clin. Exp. Nephrol. – 2017. – Vol. 21, №3. – P. 457-464.
91. Association of nitric oxide levels and endothelial nitric oxide synthase G894T polymorphism with coronary artery disease in the Iranian population [Text] / K. Mahmoodi [et al.] // Vasc. Specialist Int. – 2016. – Vol.32, №3. – P. 105-112.
92. Associations of Renin–Angiotensin–Aldosterone System Genes With Blood Pressure Changes and Hypertension Incidence [Text] / William J. He [et al.] // American Journal of Hypertension. – 2015. – Vol. 28, № 11. – P. 1310–1315.
93. Association of T174M polymorphism of angiotensinogen gene with essential hypertension: A meta-analysis [Text] / L. Xiaoyang [et al.] // Genetics and Molecular Biology. – 2014. – №37, № 2. – P.473-479.
94. Barnard, A. Asthma and older people in general practice [Text] / A. Barnard, C. D. Pond, T. P. Usherwood // Med. J. – 2005. – Vol. 183. – P. 41–43.
95. Barton, M. Endothelin and the Glomerulus in Chronic Kidney Disease [Text] / M. Barton, A. Sorokin // Seminars in Nephrology. – 2015. – Vol.35, № 2. – P. 156-167.
96. Barve, Ruteja A. Genetic Architecture of Left Ventricular Hypertrophy [Text] / Ruteja A. Barve // All Theses and Dissertations (ETDs). – 2014. – P.1284.
97. Baum, L. Roles for lipoprotein lipase in Alzheimer's disease: an association study [Text] / L. Baum, H. Wiebusch, C.P. Pang // Microsc. Res. Tech. – 2000. – Vol.50, № 4. – P.291–297.
98. Baxevanis, A.D. Searching Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) for information for genetic loci involved in human disease [Text] / A.D. Baxevanis // Curr. Protoc. Hum. Genet. – 2003. – Chapter 9, Unit 9. – P. 13.
99. Biochemical parameters of endothelial dysfunction in cardiological syndrome X [Text] / W. Kolasinska-Kloch [et al.] // Scand J Clin Lab Invest. – 2002. – Vol. 62, № 1. – P.7–13.
100. Campbell, M. African genetic diversity: implications for human demographic history, modern human origins, and complex disease mapping [Text] / M. Campbell, S. Tishkoff // Annu. Rev. Genomics Hum. Genet. – 2008. – №9. – P.403-433.

101. Circulating CD31+/annexin V+ apoptotic microparticles correlate with coronary endothelial function in patients with coronary artery disease. *Arteriosclerosis* [Text] / N. Werner [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2006. – №1. – P. 112–116.
102. Chambers, S.M. Glucagon receptor gene mutation in essential hypertension [Text] / S.M. Chambers, B.J. Morris // *Nature Genet.* – 1996. – Vol.12. – P.122.
103. Collins, F. Genome-sequencing anniversary. Faces of the genome [Text] / F. Collins // *Science.* – 2011. – Vol.331 (6017). – P. 546.
104. Consolim-Colombo, Marciano F. Endothelium and Arterial Hypertension [Text] / F. Marciano Consolim-Colombo, L. Aparecido Bortolotto // *Endothelium and Cardiovascular Diseases: Vascular Biology and Clinical Syndromes* / eds.: Protásio L. da Luz [et al.]. – London : Academic Press, an imprint of Elsevier, 2018. – Chapter 28. – P. 429-437.
105. Coronary endothelial dysfunction is associated with an increased risk of cerebrovascular events [Text] / P.V. Targonski [et al.] // *Circulation.* – 2003. – Vol.107. –P.2805–2809.
106. Dell’Omo, G. Lack of association between endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms, microalbuminuria and endothelial dysfunction in hypertensive men [Text] / G. Dell’Omo // *J. Hypertens.* – 2007. – Vol. 25, №7. – P. 1389-1395.
107. Gender specific association of angiotensinogen gene polymorphisms with essential hypertension [Text] / M. Patnaik [et al.] // *International Journal of food and nutritional sciences.* – 2015. – Vol.4, № 1. – P.182-194.
108. Effects of apolipoprotein E genotypes on metabolic profile and oxidative stress in south-west Chinese women with polycysticovary syndrome [Text] / H.W. Liu [et al.] // *Eur. J. Obstetr. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2013. – Vol. 170, № 1. – P.146–151.
109. Effect of nitric oxide synthase inhibition on haemodynamics and outcome of patients with persistent cardiogenic shock complicating acute myocardial infarction: a phase II dose-ranging study [Text] / V. Dzavik [et al.] // *Eur. Heart. J.* – 2007. – Vol. 28, №9. – P. 1109-1116.

110. Elfering, S.L. Biochemistry of mitochondrial nitric-oxide synthase [Text] / S.L. Elfering, T.M. Sarkela, C. Giulivi // *J. Biol.Chem.* – 2002. – Vol. 277, №41. – P. 38079-38086.
111. Endothelin-1 gene variant associates with blood pressure in obese Japanese subjects: the Ohasama Study [Text] / T. Asai [et al.] // *Hypertension.* – 2001. – №8. – P.1321–1324.
112. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and the risk of silent brain infarction [Text] / J. Song [et al.] // *Int. J. Mol. Med.* – 2010. – Vol. 25, №5. – P. 819-823.
113. Endothelial nitric oxide synthase genotype and ischemic heart disease: meta-analysis of 26 studies involving 23 028 subjects [Text] / J.P. Casas [et al.] // *Circulation.* – 2004. – Vol. 109, №11. – P. 1359-1365.
114. Endothelial Nitric Oxide Synthase Glu298Asp Gene Polymorphism is Associated with Hypertensive Response to Exercise in Well-Controlled Hypertensive Patients [Text] / J. S. Kim [et al.] // *Yonsei. Med. J.* – 2007. – Vol. 48, №3. – P. 389-395.
115. Endothelin-1 promotes hypertrophic remodelling of cardiac myocytes by activating sustained signalling and transcription downstream of endothelin type A receptors [Text] / C.R. Archer [et al.] // *Cellular Signalling.* – 2017. – Vol.36. – P.240–254.
116. Estimation of apolipoprotein E genotype specific relative mortality from the distribution of genotypes in centenarians and middle-aged men: Apolipoprotein E gene is a «frailty gene», not a «longevity gene» [Text] / L.U. Gerdes [et al.]. // *Genetic Epidemiol.* – 2000. – Vol. 19. – P. 202–210.
117. ET-1 Lys198Asn and ET(A) receptor H323H polymorphisms in heart failure [Text] / M.G. Colombo [et al.] // *Acase-control study. Cardiology.* – 2006. – Vol.105, № 4. – P.246–252.
118. Five years of GWAS discovery [Text] / P.Visscher [et al.] // *Am J Hum Genet.* – 2012. – Vol.90, № 1. – P.7-24.

119. For Sim: a tool for exploring the genetic architecture of complex traits with controlled truth [Text] / K. Weiss [et al.] // *Bioinformatics*. – 2008. – Vol.24, № 16. – P.1821-1822.
120. Genetic linkage of Kozak sequence polymorphism of the platelet glycoprotein Iba with human platelet antigen-2 and variable number of tandem repeats polymorphism, and its relationship with coronary artery disease [Text] / F. Ishida [et al.] // *British J. Haematol.* – 2000. – Vol.111. – P.1247–1249.
121. Genetic variability of platelet glycoprotein Iba gene [Text] / M.C. Ozelo [et al.] // *American Journal of Hematology*. – 2004. – Vol.77, № 2. – P.107-116.
122. Genetic factors contributing to hypertension in African-based populations: A systematic review and meta-analysis [Text] / Y.Y. Yandiswa [et al.] // *J Clin Hypertens.* – 2018. – Vol. 20. – P.485–495.
123. Genetic risk for restenosis after coronary ballon angioplasty [Text] / H. Horibe [et al.] // *Atherosclerosis*. – 2004. – Vol.174. – P.181-187.
124. Genome-wide approaches to identify pharmacogenetic contributions to adverse drug reactions [Text] / M R. Nelson [et al.] // *Pharmacogenomics J.* – 2009. – Vol.9, № 1. – P.23-33.
125. Genome-wide association studies for complex traits: consensus, uncertainty and challenges [Text] / M. McCarthy [et al.] // *Nature Rev. Genet.* – 2008. – №9. – P.356-369.
126. Genome-wide scans of complex human diseases: true linkage is hard to find [Text] / J. Altmuller [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* – 2001. – Vol. 69. – P.936-950.
127. Genotype-phenotype analysis of angiotensinogen polymorphisms and essential hypertension: the importance of haplotypes [Text] / W.S. Watkins [et al.] // *J. Hypertens.* – 2010. – Vol. 28, № 1. – P. 65–75.
128. Genotype imputation for genome-wide association studies [Text] / J. Marchini [et al.] // *Nat Rev. Genet.* – 2010. – Vol.11, № 7. – P. 499-511.
129. Gibson, G. Decanalization and the origin of complex disease [Text] / G. Gibson // *Nature Rev. Genet.* – 2009. – №10. – P.134-140.

130. Glisic, S. Lipoprotein lipase: A bioinformatics criterion for assessment of mutations as a risk factor for cardiovascular disease [Text] / S. Glisic, P. Arrigo, D. Alavantic // *Proteins*. – 2008 – Vol.70, № 3. – P.855–862.
131. Global similarity with local differences in linkage disequilibrium between the Dutch and HapMap-CEU populations [Text] / L. Pardo [et al.] // *Eur J Hum Genet*. – 2009. – Vol.17, № 6. – P.802-810.
132. Glycoprotein Ia C807T polymorphism and risk of restenosis following coronary stenting [Text] / N. von Beckerath [et al.] // *Atherosclerosis*. – 2001. – Vol.156. – P.463–468.
133. Hayden, E. Life is complicated [Text] / E. Hayden // *Nature*. – 2010. – Vol. 464. - P.664-667.
134. How to measure comorbidity: a critical review of available methods [Text] / V. De Groot [et al.] // *Clin. Epidemiol*. – 2003. – Vol.56, № 3. – P. 221–229.
135. Independent association of an APOE gene promoter polymorphism with increased risk of myocardial infarction and decreased APOE plasma concentrations – the ECTIM Study [Text] / J-C. Lambert [et al.] // *Hum. Mol. Genet*. – 2000. – Vol. 9, № 1. – P. 57-61.
136. Independent effects of the -219G-to-T and epsilon-2/epsilon-3/epsilon-4 polymorphisms in the apolipoprotein E gene on coronary artery disease: the Southampton atherosclerosis study [Text] / S. Ye [et al.] // *Europ. J. Hum. Genet*. – 2003. – Vol.11. – P.437-443.
137. Independent risk factor for moderate to severe internal carotid artery stenosis: T786C mutation of the endothelial nitric oxide synthase gene [Text] / G. Ghilardi [et al.] // *Clin. Chem*. – 2002. – Vol. 48, №7. – P. 989-993.
138. Influence of the NOS gene on development of blood pressure and left ventricular mass: longitudinal findings in multiethnic youth [Text] / H. Zhu [et al.] // *Pharmacogenet Genomics*. – 2005. – Vol.15, № 9. – P.669-675.
139. Investigating the association between K198N coding polymorphism in EDN1 and hypertension, lipoprotein levels, the metabolic syndrome and cardiovascular disease [Text] / S. Wiltshire [et al.] // *Hum Genet*. – 2008. – Vol. 123, №3. – P. 307–313.

140. Konukoglu, D. Endothelial dysfunction in hypertension [Text] / D. Konukoglu, H. Uzun // *Adv Exp Med Biol.* – 2017. – Vol.956. – P.511-540.
141. Kuan, Wai Yap Roseline. Association of eNOS gene polymorphism (rs3918166) with blood pressure in adult Japanese [Text] / Roseline Yap Wai Kuan, Yoshihiro Shidoji, Motofumi Masaki // *Hypertension.* – 2010. – Vol.33. – P.275–277.
142. Lack of association of APOE and tau polymorphisms with dementia in Parkinson's disease [Text] / M. Ezquerra [et al.] // *Neurosci Lett.* – 2008. – Vol.448, № 1. – P.20–23.
143. Lack of association between eNOS gene polymorphisms and ischemic heart disease in the Spanish population [Text] / M. Via [et al.] // *Am. J. Med. Genet.* – 2003. – Vol. 116, №3. – P. 243-248.
144. Lack of association between common polymorphism in genes of the renin-angiotensin system and mortality after myocardial infarction [Text] / K. George [et al.] // *Cardiology.* – 2002. – Vol. 103. – P. 185-188.
145. Lack of association of the renin-angiotensin system genes polymorphisms and left ventricular hypertrophy in hypertension [Text] / E.V. Shlyakhto [et al.] // *Blood Pressure.* – 2001. – Vol. 10, № 3. – P. 135–141.
146. Lack of evidence for association between endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and coronary artery disease in the Australian Caucasian population [Text] / B. Granath [et al.] // *J Cardiovasc Risk.* – 2001. – Vol.8, № 4. – P.235-241.
147. Lander, E.S. Initial impact of the sequencing of the human genome [Text] / E.S. Lander // *Nature.* – 2011. – Vol. 470 (7333). – P.187-197.
148. Lipoprotein lipase D9N, N291S and S447X polymorphisms: their influence on premature coronary heart disease and plasma lipids [Text] / van Bockxmeer [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2001. – Vol.157. – P.123-129.
149. Lipoprotein lipase gene polymorphisms in Croatian patients with coronary artery disease [Text] / G. Ferencak [et al.] // *Clin.Chem.Lab.Med.* – 2003. – Vol.41, №4. – P.541-546.

150. Lipoprotein lipase S447X: a naturally occurring gain-of-function mutation [Text] / J. Rip [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2006. – Vol. 26. – P.1236-1245.
151. Localization of the glucagon receptor gene to human chromosome band 17q25 [Text] / S. Menzel [et al.] // *Genomics.* – 1994. – Vol.20. – P.327-328.
152. MacCallum, P. Markers of hemostasis and systematic inflammation in heart disease and atherosclerosis in smokers [Text] / P. MacCallum // *Proceeding of the American cardiac society.* – 2005. – Vol.2. – P.34-43.
153. Mahley, R.W. Apolipoprotein E: Remarkable Protein Sheds Light on Cardiovascular and Neurological Diseases [Text] / R.W. Mahley // *Clinical Chemistry.* – 2017. – Vol.63, № 1. – P. 14-20.
154. Manolio, T. A. The HapMap and genome-wide association studies in diagnosis and therapy [Text] / T.A. Manolio, FS. Collins // *Annu. Rev. Med.* – 2009. – Vol. 60. – P. 443-456.
155. Mapping and sequencing of structural variation from eight human genomes [Text] / J.M. Kidd [et al.] // *Nature.* – 2008. – Vol. 453. – P. 56-64.
156. Mikael, L.R. Vascular Aging and Arterial Stiffness [Text] / L.R. Mikael, A.M. Gomes de Paiva, M.M.Gomes // *Arq Bras Cardiol.* – 2017. – Vol.109, № 3. – P. 253-258.
157. Mocan, E. Strategies for identifying genetic factors in multifactorial stroke [Text] / E. Mocan // *Analestiintifice a USMF «NicolaeTestemitanu».* – 2011. – Vol.1. – P.295-300.
158. Multiple abnormalities in glucose and energy metabolism and coordinated changes in levels of adiponectin, cytokines, and adhesion molecules in subjects with metabolic syndrome [Text] / U. Salmenniemi [et al.] // *Circulation.* – 2004. – Vol. 110. – P. 3842–3848.
159. Oliveira-Paula, G.H. Endothelial nitric oxide synthase: From biochemistry and gene structure to clinical implications of NOS3 polymorphisms [Text] / G.H. Oliveira-Paula, R.Lacchini, J. E.Tanus-Santos // *Gene.* – 2016. – Vol.575, № 2. – P. 584-599.

160. Oliveira-Paula, G.H. Clinical and pharmacogenetic impact of endothelial nitric oxide synthase polymorphisms on cardiovascular diseases [Text] / G.H. Oliveira-Paula, R.Lacchini, J. E.Tanus-Santos // Nitric Oxide. – 2017. – Vol.63. – P. 39-51.
161. Patterns of comorbidities in newly diagnosed COPD and asthma in primary care [Text] / J. B. Soriano [et al.] // Chest. – 2005. – Vol.128, № 4. – P. 2099–2107.
162. Phenomics: the systematic study of phenotypes on a genome-wide scale [Text] / N. Freimer [et al.] // Neuroscience. – 2009. – Vol.164, № 1. – P.30-42.
163. Polymorphism of angiotensinogen gene M235T in myocardial infarction and brain infarction: a meta-analysis [Text] / X. Liang [et al.] // Gene. – 2013. – №15. – P. 73-79.
164. Polymorphisms of three genes (ACE, AGT and CYP11B2) in the renin-angiotensin-aldosterone system are not associated with blood pressure salt sensitivity: A systematic meta-analysis [Text] / J.Sun [et al.] // Blood Press. – 2016. – Vol. 25, № 2. – P.117-122.
165. Polymorphisms in the endothelial nitric oxide synthase gene may be protective against preeclampsia in a Chinese population [Text] / L.K. Chen [et al.] // Reprod. Sci. – 2007. – Vol. 14, №2. – P. 175-181.
166. Polymorphism of the lipoprotein lipase gene and risk atherothrombotic cerebral infarction in the Japanese [Text] / Y. Shimo-Nakanishi [et al.]. // Stroke. – 2001. – Vol.7. – P.1481-1486.
167. Positive association of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism with hypertension in northern Japan [Text] / M. Shoji [et al.] // Life Sci. – 2000. – Vol.66, № 26. – P.2557-2562.
168. Pritchard, J. A change in perspective [Text] / J. Pritchard // CJEM. – 2012. – Vol.14, № 3. – P. 198-199.
169. Pritchard, J. Whole-genome sequencing data offer insights into human demography [Text] / J. Pritchard // Nat Genet. – 2011. – Vol.43, № 10. – P.923-925.
170. Puzyrev, V. Genetic view on the phenomenon of combined diseases in man [Text] / V. Puzyrev, M. Freidin // Acta Naturae. – 2009. – №3. – P. 6-11.

171. Rannala, B. Phylogenetic inference using whole genomes [Text] / B. Rannala, Z. Yang // *Annu Rev. Genomics Hum Genet.* – 2008. – №9. – P.217-231.
172. Rasmussen, K.L. Plasma levels of apolipoprotein E, APOE genotype and risk of dementia and ischemic heart disease: A review [Text] / K.L. Rasmussen // *Atherosclerosis.* –2016. – Vol. 255. – P.145-155.
173. Reich, D. On the allelic spectrum of human disease [Text] / D. Reich, E. Lander // *Trends Genet.* – 2001. – Vol.17, №9. – P.502-510.
174. Renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) gene polymorphism as a risk factor of coronary in-stent restenosis [Text] / S.K. Ryu [et al.] // *Yonsei Med J.* – 2002. –Vol.43, № 4. – P.461-472.
175. Renin-angiotensin system gene polymorphisms: assessment of the risk of coronary heart disease [Text] / M. Buraczynska [et al.] // *Kardiol Pol.* – 2003. – Vol. 58. – P.1-9.
176. Renin-angiotensin system polymorphisms and coronary artery surgery patients [Text] / Kanat Ozisik [et al.] // *Asian Cardiovasc. Thorac. Ann.* – 2005. – Vol. 13. – P. 153-156.
177. Restenosis after percutaneous coronary intervention is associated with the angiotensin-II type-1 receptor 1166A/C polymorphism but not with polymorphisms of angiotensin-converting enzyme, angiotensin-II receptor, angiotensinogen or heme oxygenase-1 [Text] / J.S. Wijpkema [et al.] // *Pharmacogenet Genomics.* – 2006. – Vol.16, № 5. – P.331-337.
178. Role of Endothelin-1 in the Active Constriction of Human Atherosclerotic Coronary Arteries [Text] / S. Kinlay [et al.] // *Circulation.* – 2001. – Vol.104. – P. 1114–1118.
179. Rossier, C. Bernard The Hypertension Pandemic: An Evolutionary Perspective [Text] / Bernard C. Rossier, M. Bochud, O. Devuyst // *Physiology.* – 2017. – Vol.32, № 2. – P.112-125.
180. Seddon, M. Cardiomyocytes as effectors of nitric oxide signalling [Text] / M. Seddon, A. M. Shah, B. Casadei // *Cardiovasc. Res.* – 2007. – Vol. 75, №2. – P. 315-326.

181. Seven haemostatic gene polymorphisms in coronary disease: meta-analysis of 66,155 cases and 91,307 controls [Text] / Z. Ye [et al.] // *Lancet*. – 2006. – Vol.367 (9511). – P.651–658.
182. Sex Differences in the Association of Apolipoprotein e and Angiotensin-converting enzyme Gene Polymorphisms With Healthy Aging and Longevity: A Population-Based study From southern Italy [Text] / D. Seripa [et al.] // *Journ. of Gerontol.: Biol. sciences*. – 2006. – Vol. 61A, № 9. – P.918-923.
183. Schachinger, V. Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease [Text] / V. Schachinger, M.B. Britten, A.M. Zeiher // *Circulation*. – 2000. – Vol. 101. – P.1899–1906.
184. Shifting paradigm of association studies: value of rare single-nucleotide polymorphisms [Text] / I. Gorlov [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* – 2008. – Vol. 82. – P.100-112.
185. Short term effects of temperature on risk of myocardial infarction in England and Wales: time series regression analysis of the Myocardial Ischemia National Audit Project (MINAP) registry [Text] / K. Bhaskaran [et al.] // *Br. Med. J.* – 2010. – Vo. 341. – P. 3823.
186. Singh, P.P. APOE distribution in world populations with new data from India and the UK [Text] / P.P. Singh, M. Singh, S.S. Mastana // *Ann Hum Biol.* – 2006. – Vol.33, № 3. – P.279–308.
187. Sui, X. The angiotensinogen gene M235T polymorphism and acute myocardial infarction risk: a meta-analysis of 22 studies [Text] / X. Sui, C. Gao // *Molecular Biology Reports*. – 2013. – Vol. 40, № 7. – P. 4439-4445.
188. T(-786)C mutation in the 5'-flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with myocardial infarction, especially without coronary organic stenosis [Text] / M. Nakayama [et al.] // *Am. J. Cardiol.* – 2000. – Vol.86, № 6. – P.628–634.
189. The angiotensinogen gene 235T variant is associated with an increased risk of restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty [Text] / H. Volzke [et al.] // *Clin.Sci (Lond)*. – 2000. – Vol.99, № 1. – P.19-25.

190. The endothelial nitric oxide synthase gene - 786T/C polymorphism is a predictive factor for reattacks of coronary spasm [Text] / T. Nishijima [et al.] // *Pharmacogenet. Genomics.* – 2007. – Vol. 17, №8. – P. 581-587.
191. The endothelial nitric oxide synthase (Glu298Asp and -786T>C) gene polymorphism are associated with coronary in-stent restenosis [Text] / A.H. Gomma [et al.] // *Eur Heart J.* – 2002. – Vol. 23. – P.1955–1956.
192. The influence of genetic polymorphisms on performance and cardiac and hemodynamic parameters among Brazilian soccer players [Text] / T.J. Dionisio [et al.] // *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism.* – 2017. – Vol. 42, № 6. – P. 596-604.
193. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Phase Three: a global synthesis [Text] / J. Mallol [et al.] // *Allergologia et Immunopathologia.* – 2013. – Vol.41, № 2. – P.73-85.
194. Undiagnosed asthma in older people: an underestimated problem [Text] / D.H. Wilson [et al.] // *Med. J.* – 2005. – Vol.183. – P. 20–22.
195. Von der Thusen, J.H. Adenoviral transfer of endothelial nitric oxide synthase attenuates lesion formation in a novel murine model of postangioplasty restenosis [Text] / J.H. von der Thusen // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2004. – Vol. 24, №2. – P. 357-362.
196. Wang, Y.J. The M235T polymorphism in the angiotensinogen gene and myocardial infarction risk: a meta-analysis [Text] / Y.J. Wang, Y. Pan // *Journal Renin Angiotensin Aldosterone System.* – 2014. – Vol.15, № 3. – P. 294-300.
197. Yu, H.M. The AGT genotype affects the antihypertensive effects of benazepril [Text] / H.M. Yu, S.G. Lin, Y.Q. Zhang // *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi.* – 2005. – Vol. 33. – P.819-823.