

Оригинальные исследования



© ЖИДКОВА И.И., ПОНАСЕНКО А.В., ХУТОРНАЯ М.В., КУТИХИН А.Г., ГОЛОВКИН А.С., БАРБАРАШ О.Л.
УДК 611.1:575.162

АССОЦИАЦИИ ОТДЕЛЬНЫХ ВАРИАБЕЛЬНЫХ САЙТОВ ГЕНОВ *TLRS* С ТЯЖЕСТЬЮ ТЕЧЕНИЯ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА У ПАЦИЕНТОВ МОЛОДОГО ВОЗРАСТА

И.И. Жидкова¹, А.В. Понасенко¹, М.В. Хуторная¹, А.Г. Кутихин¹, А.С. Головкин³, О.Л. Барбараш^{1,2}

¹НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, директор — д.м.н., проф. О.Л. Барбараш,

²ГБОУ ВПО Кемеровская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения РФ, ректор — д.м.н., проф. В.М. Ивойлов; кафедра кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии, зав. — д.м.н., проф. О.Л. Барбараш,

³ФГБУ СЗФМИЦ имени В.А. Алмазова Министерства здравоохранения РФ,

Институт молекулярной биологии и генетики, генеральный директор — академик РАН Е.В. Шляхто.

Цель исследования. Выявить ассоциации полиморфных вариантов генов *TLRs* с тяжестью течения ишемической болезни сердца (ИБС) у пациентов молодого возраста.

Материалы и методы. В исследование включено 292 пациента со стабильной ИБС. Генотипирование проводилось в 96-луночном формате посредством технологии *TaqMan*. Исследовали 8 переменных сайтов в 4 генах: *TLR1* (*rs5743551* и *rs5743611*), *TLR2* (*rs3804099* и *rs5743708*), *TLR4* (*rs4986790* и *rs4986791*), *TLR6* (*rs3775073* и *rs5743810*).

Результаты. У пациентов с ИБС в возрасте 55 лет и моложе С/Т генотип переменного сайта *rs3804099* гена *TLR2* ассоциирован с увеличением в 4,4 раза риска развития хронической сердечной недостаточности (III-IV ФК) и в 2,7 раза с увеличением риска развития стенозов брахиоцефальных артерий более 30%; С/С генотип данного переменного сайта гена *TLR2* ассоциирован с четырехкратным увеличением риска развития тяжелого атеросклероза коронарных артерий. Т/С генотип переменного сайта *rs3775073* гена *TLR6* ассоциирован с повышением в 4 раза риска развития мультифокального атеросклероза и в 3 раза риска развития инфаркта миокарда у пациентов с ИБС в возрасте 55 лет и моложе.

Заключение. Выявлены ассоциации между переменными сайтами двух генов рецепторов врожденного иммунитета (*TLR 2* и *6*) с тяжестью течения ИБС у пациентов в возрасте 55 лет и моложе.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, рецепторы врожденного иммунитета, полиморфизмы, переменные сайты генов, *TLRs*.

ASSOCIATION OF THE INDIVIDUAL VARIABLE SITES *TLRS* GENES WITH THE SEVERITY OF CHD IN YOUNGER PATIENTS

I.I. Zhidkova¹, A.V. Ponasenko¹, M.V. Khutornaya¹, A.G. Kutikhin¹, A.S. Golovkin³, O.L. Barbarash^{1,2}

¹Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases,

²Kemerovo State Medical Academy,

³Federal Almazov North-West Medical Research Centre, Institute of Molecular Biology and Genetics.

Aim of the research. To determine the association of polymorphic variants of genes *TLRs* with the severity of coronary artery disease (CAD) in young patients.

Materials and methods. The study included 292 patients with stable coronary artery disease. Genotyping was performed in 96-well format by *TaqMan* technology. It was studied 8 variable sites in four genes: *TLR1* (*rs5743551* and *rs5743611*), *TLR2* (*rs3804099* and *rs5743708*), *TLR4* (*rs4986790* and *rs4986791*), *TLR6* (*rs3775073* and *rs5743810*).

Results. In patients with coronary heart disease aged 55 years old and under *C / T* genotype variable site *rs3804099* *TLR2* gene is associated with increasing of 4.4 times the risk of developing severe chronic heart failure (III-IV FC) and in 2.7 times with increase in the risk of stenosis brachiocephalic arteries more than 30 %; *C / C* genotype of this variable site *TLR2* gene is associated with 4 times increase in the risk of severe coronary atherosclerosis. *T / C* genotype variable site *rs3775073* *TLR6* gene was associated with an increase of 4 times the risk of multifocal atherosclerosis and 3 times the risk of myocardial infarction in patients with coronary heart disease aged 55 years old and younger.

Conclusion. There were revealed the associations between the variable sites of two genes of innate immunity receptors (*TLR 2* and *6*) with the severity of CHD in patients aged 55 years old and younger.

Key words: coronary heart disease, the receptors of innate immunity, polymorphisms, variable genes sites, *TLRs*.

Введение

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) является одной из ведущих причин постоянной или длительной утраты трудоспособности, причем значительную часть инвалидов составляют лица трудоспособного возраста [5].

Современная стратегия исследования генетической составляющей ИБС включает в себя поиск клинически значимых вариантов важнейших генов-кандидатов и оценку их ассоциации с доказанными фенотипическими проявлениями этого заболевания, а также оценку связи определенных вариабельных сайтов с неблагоприятным течением ИБС и ее осложнениями [3]. Атеросклероз коронарных артерий (КА) считается свойственным старшему возрасту. Однако, в настоящее время все чаще появляются исследования, свидетельствующие о выявлении ИБС у лиц молодого возраста. У некоторых пациентов уже в возрасте до 40 лет атеросклероз является причиной развития ИБС [2]. Поэтому наибольшее внимание привлекает возможность выделения генетических предикторов реализации неблагоприятного течения ИБС в молодом возрасте. Для развития и прогрессирования данного заболевания могут быть важны варианты генов, белковые продукты которых вовлечены в метаболические пути атерогенеза, в том числе участвующие в развитии воспалительных реакций, процессах активации эндотелия, а также связанные с системой гомеостаза [4]. Исследования последнего десятилетия показали связь полиморфизма генов рецепторов врожденного иммунитета [*TLRs* (*Toll-like* ресеп-

tors)] с различными сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ) [инфарктом миокарда (ИМ), мультифокальным атеросклерозом (МФА), выраженным атеросклеротическим поражением КА]. Описано достаточно большое количество возможных однонуклеотидных вариаций в структуре генов *TLRs*, однако данные о влиянии большинства из них на развитие и клиническое течение ИБС остаются противоречивыми или недостаточно изученными [3,6].

Цель исследования: выявить ассоциации полиморфных вариантов генов *TLRs* с тяжестью течения ишемической болезни сердца у пациентов молодого возраста.

Материалы и методы

В исследование были включены 292 пациента [239 мужчин, 53 женщины в возрасте от 40 до 70 лет (средний возраст 57,75 лет, стандартное отклонение от среднего 6,14 лет, 95%-ный доверительный интервал (ДИ) для среднего 57,04-58,45 лет)] с установленной и подтвержденной по результатам коронароангиографии (КАГ) ИБС. Работа выполнена в рамках проведения регистра коронарного шунтирования (КШ) на базе ФГБНУ «НИИ КПССЗ» с 2011 г. по 2012 г., пациенты проходили подготовку к операции КШ. Протокол исследования одобрен Локальным этическим комитетом Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, г. Кемерово (протокол №59 от 21.12.2012 г.). Критериями включения в исследование были принадлежность пациента к русской популяции,

проживание в Кемеровской области в течение по меньшей мере двух поколений (на основании анкетных и паспортных данных), ангиографически подтвержденный стеноз КА и наличие подписанного информированного согласия на участие в исследовании. Критериями исключения были злокачественные новообразования, аутоиммунные, хронические инфекционные и психические заболевания в анамнезе, отказ пациента от участия в исследовании. Клинико-анамнестические характеристики пациентов представлены в таблице 1. Диагноз ИБС устанавливали на основании Национальных клинических рекомендаций ВНОК (Всероссийского научного общества кардиологов) по диагностике и лечению стабильной стенокардии (2008 г.). Всем пациентам с целью верификации наличия и степени тяжести атеросклероза КА, топической диагностики стенозирующих поражений КА проводилась диагностическая КАГ по методу M. Judkins (1967) диагностическая КАГ по методу M. Judkins (1967) на ангиографическом аппарате Innova 3100 Cardiac Angiography System (General Electric Healthcare, США).

Для определения частоты выявления и степени поражения брахиоцефальных артерий (БЦА) всем

пациентам проведено цветное дуплексное сканирование на аппарате ультразвуковой диагностики Vivid 7 Dimension фирмы General Electric, США.

Для дальнейшей оценки выраженности коронарного стеноза использовалась шкала SYNTAX SCORE (Systematic Coronary Risk Evaluation) [15]. Диагноз перенесенного ИМ устанавливался согласно критериям ВНОК (2008 г.), данных анамнеза и медицинской документации. При оценке ФК стенокардии применяли Канадскую классификацию (Camreau L., 1976 г.), для характеристики ХСН использовали классификацию Нью-Йоркской ассоциации кардиологов (NYHA; Национальные рекомендации ВНОК и Острой сердечно-сосудистой недостаточности по диагностике и лечению ХСН, 2010 г.).

Для оценки генетических ассоциаций было произведено деление на группы пациентов в зависимости от анализируемого признака: 1) Наличие в анамнезе перенесенного ИМ. В первую группу включены 68 (23,29%) пациентов без ИМ, во вторую – 224 (76,71%) пациента с наличием ИМ в анамнезе; 2) В зависимости от показателей по шкале SYNTAX SCORE пациенты были разделены на две группы: в группу с низким риском (0 – 22 баллов) включены

Таблица 1

Клинико-анамнестические характеристики обследованных пациентов

Показатели	Количество пациентов, n=292
Мужчины	239 (81,85%)
Возраст >55 лет	185 (63,36%)
Сумма баллов по шкале SYNTAX SCORE \geq 23	112 (38,36%)
Мультифокальный атеросклероз (МФА)	253 (86,64%)
Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) III-IV функциональных классов (ФК) (NYHA)	82 (28,08%)
Стенокардия III-IV ФК	139 (47,60%)
ИМ в анамнезе	224 (76,71%)
Острое нарушение мозгового кровообращения в анамнезе	31 (10,62%)
Артериальная гипертензия	262 (89,73%)
Нарушения углеводного обмена (сахарный диабет 2-го типа или нарушение толерантности к углеводам)	87 (29,79%)
Дислипидемия	228 (78,08%)
Курение	196 (67,12%)
Индекс массы тела >25 (кг/м ²)	220 (75,34%)

180 (61,64%) пациентов, а в группу со средним и высоким риском (от 23 баллов и выше) – 112 (36,38%) человек; 3) По ФК ХСН пациенты были разделены на две группы: в группу с ХСН ФК I-II вошли 210 (71,92 %) пациентов, в группу с ХСН III-IV ФК – 82 (28,08 %) пациента; 4) В зависимости от факта выявления МФА [наличия любого поражения (утолщения комплекса интима - медиа >1,0 мм или стенозов любой степени) БЦА или артерий нижних конечностей] пациенты разделены на две группы: в группе без МФА было 39 (13,36 %) пациентов, а в группе с МФА – 253 (86,64 %) человек. В первую группу пациентов без стенозов и со стенозами БЦА ≤ 30%, по данным ультразвукового исследования, вошли 188 (64,38 %) человек, во вторую группу пациентов со стенозами БЦА более 30% вошли 104 (35,62%) пациента.

Тремя основными критериями для выбора однонуклеотидных полиморфизмов были (1) высокая распространенность их в популяции (частота минорного аллеля ≥5 % в русской популяции согласно HarMap), (2) предполагаемые или доказанные функциональные последствия на молекулярном уровне и (3) малое количество или отсутствие исследований роли относительно выраженности атеросклероза. Для выбора варибельных сайтов генов интереса использовались базы данных (NCBI dbSNP <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>, SNPinfo <http://snpinfo.niehs.nih.gov/snpinfo/snpfunc.htm> и SNPnexus <http://www.snp-nexus.org/>).

Всего было исследовано 8 варибельных сайтов в 4 генах: TLR1 (rs5743551 и rs5743611), TLR2 (rs3804099 и rs5743708), TLR4 (rs4986790 и rs4986791), TLR6 (rs3775073 и rs5743810). Геномная ДНК выделялась из лейкоцитов фенол-хлороформным методом в соответствии со стандартным протоколом (Матиас, 1976 г.). Генотипирование проводилось в 96-луночном формате по технологии TaqMan (аллель-специфичная ПЦР в реальном времени) при помощи амплификатора Applied Biosystems ViiA 7 Real-Time PCR System в соответствии с протоколом производителя.

Статистическую обработку результатов исследований проводили на персональном компьютере

с применением пакета прикладных программ «SPSS for Windows, versions 13.0, 17.0» (SPSS Inc., США). Для описания качественных данных вычислялись абсолютные и относительные их частоты, выражаемые в % отношении к общему количеству обследованных.

Статистический анализ результатов генотипирования проводился посредством программы SNPStats. Равновесие Харди-Вайнберга определялось при помощи критерия хи-квадрат Пирсона с одной степенью свободы для сравнения наблюдаемых и ожидаемых частот генотипов. Распределение частот генотипов во всех исследуемых группах соответствовало равновесию Харди-Вайнберга. Для оценки риска вычислялись отношение шансов (ОШ) и 95%-ный доверительный интервал (ДИ) для ОШ по пяти моделям наследования (кодоминантной, доминантной, рецессивной, сверхдоминантной и лог-аддитивной). Выбор наиболее вероятной модели наследования осуществлялся по информационному критерию Акаике (Akaike information criterion, AIC); модель с наименьшим значением этого критерия принималась в качестве наиболее вероятной. Различия признавались статистически значимыми при вероятности отклонить верную нулевую гипотезу p менее 0,05. Поправка на множественные сравнения проводилась при помощи вычисления средней доли ложных отклонений гипотез (False Discovery Rate, FDR, <http://users.ox.ac.uk/~npike/fdr/>) и критерия перестановок (permutation test, Statxact 9, Cytel Inc., MA, США).

Результаты и обсуждение

Анализ ассоциаций по возрастным подгруппам позволил обнаружить связь гетерозиготного (С/Т) генотипа варибельного сайта rs3804099 гена TLR2 с увеличением риска развития ХСН тяжелого (III-IV) ФК и стенозов БЦА более 30% у пациентов с ИБС в возрасте 55 лет и моложе (ОШ = 4,37 ДИ 95% 1,39-13,76; $p = 0,002$ и ОШ = 2,74, 95% ДИ = 1,09 – 6,86, $p = 0,031$, соответственно). Гомозиготный С/С генотип данного варибельного сайта гена TLR2 ассоциирован с повышенным риском развития тяжелого атеросклероза КА (показатель

по шкале SYNTAX SCORE ≥ 23 баллов) у пациентов с ИБС в возрасте 55 лет и моложе (ОШ = 4,18, 95% ДИ = 1,33 – 13,11, $p = 0,013$). Гетерозиготный (Т/С) генотип вариабельного сайта rs3775073 гена TLR6 ассоциирован с повышенным риском развития МФА и ИМ у пациентов с ИБС в возрасте 55 лет и моложе (ОШ = 4,07, 95% ДИ = 1,26 – 3,17, $p = 0,018$ и ОШ = 3,17, 95% ДИ = 1,08 – 9,27, $p = 0,047$, соответственно), табл. 2.

В настоящее время в отношении ССЗ принята концепция мультифакториальности, которая заключается в совместном вкладе в ее развитие как внешних средовых факторов, так и особенностей генотипа индивидуумов. Результаты проведенных многочисленных клинических исследований подтверждают перспективность клинико-прогностической значимости различных однонуклеотидных полиморфизмов генов (SNP – single nucleotide polymorphisms), ассоциированных с ССЗ [3,4]. Генетические факторы риска можно оценить задолго до появления клинических симптомов заболевания, что позволяет своевременно предпринять необходимые профилактические мероприятия и поддерживает интерес к поиску новых генетических и биохимических маркеров ИБС и ее неблагоприятного течения [3,6]. В свете этого перспективным выглядит изучение генетических факторов, ответственных за формирование воспалительного ответа. В патогенезе воспаления ключевая роль отведена вариабельности ответа на воздействие повреждающего фактора на уровне клетки.

Реакция клетки напрямую зависит от способности её рецепторного аппарата (TLRs) распознавать агенты, несущие на своей поверхности «сигнальные» молекулярные структуры чужеродности как экзогенной (микробная инвазия), так и эндогенной природы (алармины и другие молекулярные структуры) [14]. Межиндивидуальные различия в генах, кодирующих TLRs, могут определять различный характер течения воспалительных иммунных реакций, приводить как к снижению способности распознавания соответствующих лигандов с менее выраженной активацией иммунных клеток, так и наоборот. Показано, что через изменение в

инициации и регуляции воспалительного ответа полиморфизм генов TLRs может приводить к развитию и прогрессированию ИБС [12].

Основной гипотезой данного исследования явилось предположение о том, что активность воспалительной реакции, регулируемая рецепторами врожденного иммунитета и их генами (TLRs), определяет большую выраженность коронарного и мультифокального атеросклероза, а также высокий риск развития острых ишемических событий и высокий ФК ХСН.

Проведенное исследование имело целью охарактеризовать ИБС с позиции изучения ассоциаций аллельных вариантов генов TLRs с тяжелым клиническим течением ИБС (развитием ИМ, выраженного атеросклеротического поражения КА, тяжелого ФК ХСН, МФА) у лиц молодого возраста.

В проведенном исследовании гетерозиготный С/Т генотип вариабельного сайта rs3804099 гена TLR2 ассоциирован более чем с четырехкратным увеличением риска развития ХСН ФК III-IV и с увеличением в 2,7 раза риска развития стенозов БЦА более 30% у пациентов с ИБС в возрасте 55 лет и моложе.

Следует отметить, что результаты ранее проведенных исследований однозначно утверждают важную роль TLRs в реализации патологического ремоделирования миокарда. Так, показано, что блокирование активности TLR2 приводит к снижению оксидативного стресса и как следствие к снижению апоптоза, а также провоспалительных реакций в кардиомиоцитах. Кроме того, ранее проведено исследование, в котором изучен уровень экспрессии TLR2, TLR4 на моноцитах и кардиомиоцитах у пациентов с ишемической дисфункцией левого желудочка (ЛЖ), фракцией выброса (ФВ) ЛЖ $< 45\%$ и пациентов с нормальной ФВ ЛЖ. Авторами исследования было показано, что пациенты с низкой ФВ ЛЖ, подвергшиеся КШ, имели на моноцитах более высокий уровень экспрессии TLR4 [11].

Предположено, что развитие и прогрессирование ХСН и ИБС могут быть связаны с активацией TLRs, что приводит к индукции экспрессии генов цитокинов семейства IL-1 [прямой актива-

Таблица 2

Связь аллельных вариантов генов TLRs с риском развития тяжелого клинического течения ИБС в зависимости от возраста

Возраст	Генотипы	ХСН (НУНА) ФК I-II, n = 209	ХСН (НУНА) ФК III-IV, n=82	ОШ (95% ДИ)	p
TLR2 rs3804099, n= 291					
Старше 55 лет, n=184	T/T	53 (44,17)	22 (34,38)	1,00	0,74
	C/T	51 (42,50)	26 (40,62)	1,12 (0,55-2,24)	
	C/C	16 (13,33)	16 (25)	2,01 (0,84-4,83)	
55 лет и моложе, n=107	T/T	43 (48,32)	5 (27,78)	1,00	0,002
	C/T	28 (31,46)	13 (72,22)	4,37 (1,39-13,76)	
	C/C	18 (20,22)	-	-	
Возраст	Генотипы	Без ИМ, n= 68	С ИМ, n=223	ОШ (95% ДИ)	p
TLR6 rs3775073, n= 291					
Старше 55 лет, n=185	T/T	14 (29,79)	41 (29,71)	1,00	0,78
	T/C	24 (51,06)	70 (50,72)	0,92 (0,42-2,01)	
	C/C	9 (19,15)	27 (19,57)	1,06 (0,38-2,94)	
55 лет и моложе, n=106	T/T	12 (57,14)	24 (28,24)	1,00	0,047
	T/C	7 (33,34)	41 (48,23)	3,17 (1,08-9,27)	
	C/C	2 (9,52)	20 (23,53)	3,43 (0,84-14,07)	
Возраст	Генотипы	Без стенозов БЦА + стенозы БЦА, ≤ 30%, n =187	> 30% стенозы БЦА, n =104	ОШ (95% ДИ)	p
TLR2 rs3804099, n= 291					
Старше 55 лет, n=184	T/T	47 (40,52)	28 (41,18)	1,00	0,99
	C/T	49 (42,24)	29 (42,65)	1,00 (0,52-1,93)	
	C/C	20 (17,24)	11 (16,17)	1,02 (0,43-2,44)	
55 лет и моложе, n=107	T/T	37 (52,11)	11 (30,56)	1,00	0,031
	C/T	22 (30,99)	19 (52,78)	2,74 (1,09-6,86)	
	C/C	12 (16,90)	6 (16,66)	1,67 (0,51-5,50)	
Возраст	Генотип	SYNTAX SCORE ≤22, n=180	SYNTAX SCORE ≥23, n=111	ОШ (95% ДИ)	p
TLR2 rs3804099, n= 291					
Старше 55 лет, n=184	T/T	47 (42,34)	28 (38,35)	1,00	0,36
	C/T	47 (42,34)	30 (41,10)	1,09 (0,56-2,10)	
	C/C	17 (15,32)	15 (20,55)	1,53 (0,65-3,59)	
55 лет и моложе, n=107	T/T	35 (50,72)	13 (34,21)	1,00	0,013
	C/T	27 (39,13)	14 (36,84)	1,38 (0,56-3,43)	
	C/C	7 (10,15)	11 (28,95)	4,18 (1,33-13,11)	
Возраст	Генотип	Без МФА, n = 39	С МФА, n=252	ОШ (95% ДИ)	p
TLR6 rs3775073, n= 291					
Старше 55 лет, n=185	T/T	8 (40,00)	47 (28,48)	1,00	0,42
	T/C	7 (35,00)	87 (52,73)	2,07 (0,71-6,07)	
	C/C	5 (25,00)	31 (18,79)	0,96 (0,29-3,24)	
55 лет и моложе, n=106	T/T	11 (57,89)	25 (28,73)	1,00	0,018
	T/C	5 (26,32)	43 (49,43)	4,07 (1,26-13,17)	
	C/C	3 (15,79)	19 (21,84)	3,36 (0,82-13,73)	

Примечание: в каждом отдельном случае у разных пациентов было невозможно провести генотипирование изучаемого полиморфного сайта соответствующего гена в силу объективных причин (вероятное нахождение рядом лежащей мутации), в таблице представлены расчеты на фактическое число пациентов, из числа вошедших в исследование.

ции ядерного фактора транскрипции (NF- κ B)]. Влияние же провоспалительных цитокинов на прогрессирование ХСН реализуется путем их прямого повреждающего действия на кардиомиоциты и эндотелий сосудов (стимуляции синтеза NO в эндотелиоцитах микрососудистого русла миокарда и гладкомышечных клетках сосудистой стенки, кардиомиоцитах; снижения сократительной функции миокарда за счет уменьшения концентрации ионов Ca^{++} в цитоплазме кардиомиоцитов; индукции апоптоза кардиомиоцитов с последующими необратимыми нарушениями сократительной функции миокарда и прогрессированием заболевания). Установлено, что активация TLR2, TLR4 и TLR9 способствует индукции апоптоза кардиомиоцитов, следствием которого является сократительная дисфункция миокарда [7]. Кроме того, TLRs способны взаимодействовать с эндогенными лигандами (белком теплового шока-60, фибриногеном, фибронектином), которые синтезируются в ответ на повреждение тканей (гипоксию, гемодинамическую перегрузку; ишемию) [10]. Доказано, что в эндотелии сосудов и кардиомиоцитах имеются TLR2- и TLR4- рецепторы. Благодаря повышенной активности TLRs в стенках сосудов поддерживаются хроническое воспаление и дисфункция эндотелия (ДЭ): происходит длительное повышение общего периферического сосудистого сопротивления, что приводит к увеличению потребности миокарда в кислороде и снижению его сократительной способности. TLRs экспрессируются многими клетками организма, поэтому развитие воспалительных реакций на фоне повышенной активности данных рецепторов может определять наличие патологических изменений в периферических тканях, что может способствовать гиперактивации ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, замыканию порочного круга в прогрессировании ХСН и ИБС [14].

В проведенном исследовании гомозиготный по минорному аллелю (C/C) генотип варибельного сайта rs3804099 гена TLR2 ассоциирован с четырехкратным увеличением вероятности развития тяжелых форм атеросклероза (показатель по шкале SYNTAX SCORE ≥ 23 баллов), что может

быть объяснено формированием дисфункции эндотелия (ДЭ) за счет гиперактивности рецепторов, синтезирующихся при таком варианте структуры гена. Дисфункция эндотелия сосудов играет значимую роль в развитии и прогрессировании клинических проявлений ХСН и ИБС, а в одном из ранее проведенных исследований [1] показано влияние активации TLR2 при формировании дисфункции эндотелия в КА на фоне преходящей ишемии.

В то же время представленное исследование показывает участие генотипов C/C и C/T варибельного сайта rs3804099 гена TLR2 с тяжелым клиническим течением ИБС (тяжелым ФК ХСН, выраженным поражением КА, стенозом БЦА более 30%) у лиц молодого возраста с ИБС.

Неблагоприятным в отношении риска развития МФА и ИМ у лиц молодого возраста с ИБС является гетерозиготный (T/C) генотип варибельного сайта rs3775073 гена TLR6. Эти данные согласуются с исследованиями, проведенными нами ранее, в которых показано, что гетерозиготный T/C генотип варибельного сайта rs3775073 гена TLR6 ассоциирован с высоким риском развития ИБС (ОШ = 1,68, 95% ДИ = 1,03-2,73 и ОШ = 1,55 95% ДИ = 1,12-2,14, соответственно; $p < 0,05$) независимо от гендерно-возрастных характеристик пациентов [9]. Патогенетическим обоснованием данного положения является установленное ключевое значение TLRs в активации макрофагов и моноцитов. Усиление экспрессии TLRs приводит к трансформации макрофагов в пенистые клетки и повреждению эндотелия. Увеличение количества циркулирующих TLR2 или TLR4-положительных моноцитов наблюдается при остром ИМ. Ишемия миокарда является дополнительным стимулом для активации местного и локального воспаления [8]. В одном из исследований [13] показано, что уровень экспрессии TLR4 на моноцитах достоверно повышается у больных ИМ, начиная с первых суток заболевания по сравнению с таковым у пациентов контрольной группы ($p < 0,05$). Таким образом, полученные результаты согласуются с ранее проведенными

исследованиями и дополняют имеющиеся знания о роли полиморфизмов генов системы *TLRs* в отношении риска развития МФА и ИМ.

Заключение

Таким образом, в проведенном исследовании выявлены вариабельные сайты генов рецепторов врожденного иммунитета (*TLRs*) ассоциированные с тяжелым клиническим течением ИБС в молодом возрасте (55 лет и менее): С/Т генотип rs3804099 *TLR2* ассоциирован с увеличением в 4,4 раза риска развития ХСН тяжелого (III-IV) ФК и в 2,7 раза – с увеличением риска развития стенозов БЦА более 30%; С/С генотип данного варианта гена *TLR2* ассоциирован с четырехкратным увеличением риска развития тяжелого атеросклероза КА; Т/С генотип rs3775073 *TLR6* ассоциирован с повышением в 4 раза риска развития МФА и в 3 раза риска развития ИМ.

Индивидуальный подход по диагностике среди пациентов молодого возраста, имеющих повышенный риск тяжелого течения ИБС, с использованием результатов генотипирования, может предупредить прогрессирование заболевания и развития его осложнений на основе разработки мер вторичной профилактики у групп лиц повышенного риска сердечно-сосудистых осложнений.

Литература

1. Васюк Ю.А., Дударенко О.П., Ющук Е.Н., Школьник Е.Л., Серова М.К. «Цитокиновая» модель патогенеза хронической сердечной недостаточности и возможности нового терапевтического подхода в лечении декомпенсированных больных // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2006. – № 4. – С. 63-70.
2. Жданов В.С., Вихерт А.М., Стернби Н.Г. Эволюция и патология атеросклероза у человека. – М.: Триада-Х, 2002. – 144 с.
3. Журавлев Ю.И., Назаренко Г.И., Рязанов В.В., Клейменова Е.Б. Новый метод анализа риска развития ишемической болезни сердца на основании геномных и компьютерных технологий // Кардиология. – 2011. – № 2. – С. 19-25.

4. Макеева О.А., Зыков М., Голубенко М.В., Кашталап В.В., Кулиш Е.В., Гончарова И.А., Барбараш О.А., Пузырев В.П. Роль генетических факторов в прогнозировании осложнений на протяжении года после инфаркта миокарда // Кардиология. – 2013. – № 10. – С. 16-23.

5. Ройберг Г.Е., Струтынский А.В. Внутренние болезни. Сердечно-сосудистая система: учебное пособие. – 3-е изд. – М.: МЕДпрессинформ, 2013. – 896 с.

6. Шестерня П.А., Никулина С.Ю., Шульман В.А., Мартынова Е.А., Демкина А.И., Орлов П.С., Максимов В.Н., Воевода М.И. Генетические предикторы инфаркта миокарда у лиц молодого возраста // Кардиология. – 2013. – № 7. – С. 4-8.

7. Avlas O., Bragg A., Fuks A., Nicholson J.D., Farkash A., Porat E., Aravot D., Levy-Drummer R.S., Cohen C., Shainberg A., Arad M., Hochhauser E. *TLR4* expression is associated with left ventricular dysfunction in patients undergoing coronary artery bypass surgery // PLoS One. – 2015. – Vol. 10, № 6. – e0120175.

8. Elkind M.S.V., Luna J.M., Coffey C.S., McClure L.A., Liu K.M., Spitalnik S., Paik M.C., Roldan A., White C., Hart R., Benavente O. The Levels of Inflammatory Markers in the Treatment of Stroke study (LIMITS): inflammatory biomarkers as risk predictors after lacunar stroke // Int. J. Stroke. – 2010. – Vol. 5, №2. – P. 117-125.

9. Golovkin A.S., Ponasenko A.V., Khutornaya M.V., Kutikhin A.G., Salakhov R.R., Yuzhalin A.E., Zhidkova I.I., Barbarash O.L., Barbarash L.S. Association of *TLR* and *TREM-1* gene polymorphisms with risk of coronary artery disease in Russian population // Gene. – 2014. – Vol. 550, №1. – P. 101-109.

10. Ha T., Hua F., Liu X., Ma J., McMullen J.R., Shioi T., Izumo S., Kelley J., Gao X., Browder W., Williams D.L., Kao R.L., Li C. Lipopolysaccharide-induced myocardial protection against ischaemia/reperfusion injury is mediated through a PI3K/Akt-dependent mechanism // Cardiovasc. Res. – 2008. – Vol. 78. – P. 546-553.

11. Huang C.C., Liu K., Pope R.M., Du P., Lin S., Rajamannan N.M., Huang Q.Q., Jafari N., Burke G.L., Post W., Watson K.E., Johnson C., Daviglus

M.L., Lloyd-Jones D.M. Activated TLR signaling in atherosclerosis among women with lower Framingham risk score: the multi-ethnic study of atherosclerosis // *PLoS One*. – 2011. – Vol. 6, №6. – e21067.

12. Mikacenic C., Reiner A.P., Holden T.D., Nickerson D.A., Wurfel M.M. Variation in the TLR10/TLR1/TLR6 locus is the major genetic determinant of inter-individual difference in TLR1/2-mediated responses // *Genes Immun.* – 2013. – Vol. 14. – P. 52-57.

13. Oyama J., Blais C., Liu X., Pu M., Kobzik L., Kelly R.A., Bourcier T. Reduced myocardial ischemia reperfusion injury in Toll-like receptor 4-deficient mice // *Circulation*. – 2004. – Vol. 109, №6. – P. 784-789.

14. Satoh M., Takahashi Y., Tabuchi T., Tamada M., Takahashi K., Itoh T., Morino Y., Nakamura M. Circulating Toll-like receptor 4-responsive microRNA panel in patients with coronary artery disease: results from prospective and randomized study of treatment with renin-angiotensin system blockade // *Clin. Sci. (Lond.)*. – 2015. – Vol. 128, №8. – P. 483-491.

15. Sianos G., Morel M.A., Kappetein A.P., Morice M.C., Colombo A., Dawkins K., van den Brand M., Van Dyck N., Russell M.E., Mohr F.W., Serruys P.W. The SYNTAX Score: an angiographic tool grading the complexity of coronary artery disease // *EuroIntervention*. – 2005. – Vol. 1, №2. – P. 219-227.

References

1. Vasyuk Yu.A., Dudarenko O.P., Yushchuk E.N., Shkol'nik E.L., Serova M.K. «Cytokine» model of pathogenesis of chronic heart failure and the possibility of a new therapeutic approach in the treatment of decompensated patients // *Rational pharmacotherapy in cardiology*. – 2006. – № 4. – P. 63-70.

2. Zhdanov V.S., Vikhert A.M., Sternbi N.G. Evolution and pathology of atherosclerosis in humans. – M.: Triad-X, 2002. – 144 p.

3. Zhuravlev Yu.I., Nazarenko G.I., Ryazanov V.V., Kleimenova E.B. A new method of risk analysis of coronary heart disease based on genomic and

computer technologies // *Cardiology*. – 2011. – № 2. – P. 19-25.

4. Makeeva O.A., Zykov M., Golubenko M.V., Kashtalap V.V., Kulish E.V., Goncharova I.A., Barbarash O.A., Puzyrev V.P. The role of genetic factors in predicting the complications during the year following myocardial infarction // *Cardiology*. – 2013. – № 10. – P. 16-23.

5. Royberg G.E., Strutynsky A.V. Internal illnesses. Cardiovascular system: a tutorial. – 3rd Ed. – M.: MEDpressinform, 2013. – 896 p.

6. Shesternya P.A., Nikulina S. Yu., Shul'man V.A., Martynova E.A., Demkina A.I., Orlov P.S., Maksimov V.N., Voevoda M.I. Genetic predictors of myocardial infarction in young adults // *Cardiology*. – 2013. – № 7. – P. 4-8.

7. Avlas O., Bragg A., Fuks A., Nicholson J.D., Farkash A., Porat E., Aravot D., Levy-Drummer R.S., Cohen C., Shainberg A., Arad M., Hochhauser E. TLR4 expression is associated with left ventricular dysfunction in patients undergoing coronary artery bypass surgery // *PLoS One*. – 2015. – Vol. 10, № 6. – e0120175.

8. Elkind M.S.V., Luna J.M., Coffey C.S., McClure L.A., Liu K.M., Spitalnik S., Paik M.C., Roldan A., White C., Hart R., Benavente O. The Levels of Inflammatory Markers in the Treatment of Stroke study (LIMITS): inflammatory biomarkers as risk predictors after lacunar stroke // *Int. J. Stroke*. – 2010. – Vol. 5, №2. – P. 117-125.

9. Golovkin A.S., Ponasenko A.V., Khutomaya M.V., Kutikhin A.G., Salakhov R.R., Yuzhalin A.E., Zhidkova I.I., Barbarash O.L., Barbarash L.S. Association of TLR and TREM-1 gene polymorphisms with risk of coronary artery disease in Russian population // *Gene*. – 2014. – Vol. 550, №1. – P. 101-109.

10. Ha T., Hua F., Liu X., Ma J., McMullen J.R., Shioi T., Izumo S., Kelley J., Gao X., Browder W., Williams D.L., Kao R.L., Li C. Lipopolysaccharide-induced myocardial protection against ischaemia/reperfusion injury is mediated through a PI3K/Akt-dependent mechanism // *Cardiovasc. Res*. – 2008. – Vol. 78. – P. 546-553.

11. Huang C.C., Liu K., Pope R.M., Du P., Lin S., Rajamannan N.M., Huang Q.Q., Jafari N., Burke

G.L., Post W., Watson K.E., Johnson C., Daviglius M.L., Lloyd-Jones D.M. Activated TLR signaling in atherosclerosis among women with lower Framingham risk score: the multi-ethnic study of atherosclerosis // PLoS One. – 2011. – Vol. 6, №6. – e21067.

12. Mikacenic C., Reiner A.P., Holden T.D., Nickerson D.A., Wurfel M.M. Variation in the TLR10/TLR1/TLR6 locus is the major genetic determinant of interindividual difference in TLR1/2-mediated responses // Genes Immun. – 2013. – Vol. 14. – P. 52-57.

13. Oyama J., Blais C., Liu X., Pu M., Kobzik L., Kelly R.A., Bourcier T. Reduced myocardial ischemia reperfusion injury in Toll-like receptor 4-deficient mice // Circulation. – 2004. – Vol. 109, №6. – P. 784-789.

14. Satoh M., Takahashi Y., Tabuchi T., Tamada M., Takahashi K., Itoh T., Morino Y., Nakamura M. Circulating Toll-like receptor 4-responsive microRNA panel in patients with coronary artery disease: results from prospective and randomized study of treatment with renin-angiotensin system blockade // Clin. Sci. (Lond.). – 2015. – Vol. 128, №8. – P. 483-491.

15. Sianos G., Morel M.A., Kappetein A.P., Morice M.C., Colombo A., Dawkins K., van den Brand M., Van Dyck N., Russell M.E., Mohr F.W., Serruys P.W. The SYNTAX Score: an angiographic tool grading the complexity of coronary artery disease // EuroIntervention. – 2005. – Vol. 1, №2. – P. 219-227.

Сведения об авторах

Жидкова Ирина Игоревна – научный сотрудник лаборатории патологии кровообращения, ФГНБУ Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний.

Адрес: 650002, г. Кемерово, Сосновый бульвар, г. 6; тел.: 8(384)2644571; e-mail: Irina04046@yandex.ru.

Понасенко Анастасия Валериевна – кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией геномной медицины отдела экспериментальной и клинической кардиологии, ФГНБУ Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний.

Адрес: 650002, г. Кемерово, Сосновый бульвар, г. 6; тел.: 8(384)2644571; e-mail: ponaav@kemcardio.ru.

Хуторная Мария Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории геномной медицины отдела экспериментальной и клинической кардиологии, ФГНБУ Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний.

Адрес: 650002, г. Кемерово, Сосновый бульвар, г. 6; тел.: 8(384)2644571; e-mail: masha_hut@mail.ru.

Кутихин Антон Геннадьевич – младший научный сотрудник лаборатории геномной медицины отдела экспериментальной и клинической кардиологии, ФГНБУ Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний.

Адрес: 650002, г. Кемерово, Сосновый бульвар, г. 6; тел.: 8(384)2644571; e-mail: antonkutikhin@gmail.com.

Головкин Алексей Сергеевич – доктор медицинских наук, старший научный сотрудник, ФГБУ СЗФМИЦ им. В.А. Алмазова Минздрава России, Институт молекулярной биологии и генетики,

Адрес: 197341, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, 2; тел.: 8 (812) 7023777; e-mail: golovkin_a@mail.ru.

Барбараш Ольга Леонидовна – доктор медицинских наук, профессор, директор, ФГНБУ Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний; заведующая кафедрой кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии, ГБОУ ВПО Кемеровская государственная медицинская академия МЗ РФ.

Адрес: 650002, г. Кемерово, Сосновый бульвар, г. 6; тел.: 8(384)2643308; e-mail: reception@kemcardio.ru.

Authors

Zhidkova Irina Igorevna – Research Associate of the Blood Circulation Pathology Laboratory, Federal State Budgetary Scientific Institution Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases.

Address: 6, Sosnoviy blvd, 650002, Kemerovo, RF; phone: 8 (384) 2644571; e-mail: Irina04046@yandex.ru.

Ponassenko Anastasiya Valerievna – Cand. Med. Sci., Head of the Laboratory of Genomic Medicine, Department of Experimental and Clinical Cardiology, Federal State Budgetary Scientific Institution Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases.

Address: 6, Sosnoviy blvd, 650002, Kemerovo, RF; phone: 8 (384)2644571; e-mail: ponaav@kemcardio.ru.

Khutornaya Maria Vladimirovna – Junior Researcher, Laboratory Genomic Medicine, Department of Experimental and Clinical Cardiology, Federal State Budgetary Scientific Institution Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases.

Address: 6, Sosnoviy blvd, 650002, Kemerovo, RF; phone: 8 (384)2644571; e-mail: masha_hut@mail.ru.

Kutikhin Anton Gennadievich – Junior Researcher, Laboratory Genomic Medicine, Department of Experimental and Clinical Cardiology, Federal State Budgetary Scientific Institution Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases.

Address: 6, Sosnoviy blvd, 650002, Kemerovo, RF; phone: 8 (384)2644571; e-mail: antonkutikhin@gmail.com.

Golovkin Aleksey Sergeevich – Dr. Med. Sci., Senior Researcher, FGBI "SZFMITS named after V.A. Almazov » Russian Ministry of Health, Institute of Molecular Biology and Genetics,

Адрес: 2, Akkuratov Str., St.-Petersburg, 197341, RF; phone: 8 (812) 7023777; e-mail: golovkin_a@mail.ru.

Barbarash Olga Leonidovna – Dr. Med. Sci., Professor, Director Federal State Budgetary Scientific Institution Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases.

Address: 6, Sosnoviy blvd, 650002, Kemerovo, RF; phone: 8 (384)2643308; e-mail: reception@kemcardio.ru.