

З. А. БЕРКИМБАЕВА¹, Э. М. ХУСАИНОВА¹, Л. Б. ДЖАНСУГУРОВА¹, Б. О. БЕКМАНОВ¹,
Л. А. СКВОРЦОВА¹, К. Б. ДЖАНТАЕВА¹, А. Т. МАНШАРИПОВА²

(¹РГП «Институт общей генетики и цитологии» КН МОН РК, г. Алматы,

²Казахстанско-Российский медицинский университет, г. Алматы)

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА РЕПАРАЦИИ ДНК *XRCC3* В ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

Аннотация

Было проведено исследование по изучению роли полиморфизма гена репарации ДНК *XRCC3* Thr²⁴¹Met в развитии сердечно-сосудистых заболеваний. Для выявления ассоциированности гена *XRCC3* с предрасположенностью к ишемической болезни сердца мы провели генотипирование с помощью ПЦР и последующей рестрикцией амплифицированных фрагментов по исследуемому виду полиморфизма в группе больных ишемической болезнью сердца и здоровых людей. Полученные нами данные показывают отсутствие связи представленного полиморфизма (*XRCC3* Thr²⁴¹Met) как с предрасположенностью, так и с устойчивостью к развитию ишемической болезни сердца.

Ключевые слова: гены репарации, генетический полиморфизм, ишемическая болезнь сердца.

Кілт сөздер: репарация гендері, генетикалық полиморфизм, жүректің ишемиялық ауруы.

Keywords: repair genes, genetic polymorphisms, ischemic heart disease.

На сегодняшний день сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются ведущей причиной смертности как в экономически развитых странах, так и в Казахстане. Среди терапевтических заболеваний распространенность ССЗ составляет 1078,9 случаев на 10,0 тыс. взрослого населения и занимает второе место. Только в странах Европы от ССЗ в год умирает до 3 млн. человек, что составляет 48,3% смертности. В Казахстане смертность от сердечно-сосудистой патологии составляет 57%. Динамика ССЗ в Казахстане показывает ежегодный прирост. Так, с 2005 по 2009 год заболеваемость ССЗ выросла на 29 процентов, [1].

Две трети всех сердечно-сосудистых заболеваний представляет коронарная болезнь сердца (ишемическая болезнь сердца, ишемия). В индустриально развитых странах 80% от всех случаев сердечно-сосудистых патологий составляют различные формы ИБС и ее осложнения. Так, общая летальность от инфаркта миокарда в США составляет 30–35% (1–10 человек в день). Уровень смертности от ИБС также высок в таких странах, как Финляндия, Северная Ирландия, Англия и Австралия [2].

Основными этиопатогенетическими факторами возникновения сердечно-сосудистых заболеваний являются нарушения липидного обмена и свободнорадикальных реакций, изменение реологических свойств крови, диабет, курение и длительное влияние неблагоприятных факторов окружающей среды. В связи с этим активно обсуждается роль АФК, свободных радикалов, O₂, NO, пероксинитрита, канцерогенов табачного дыма и многих других мутагенов в формировании предрасположенности к ИБС [3-5]. Было сделано предположение, что вызываемые этими мутагенами нерепарируемые повреждения ДНК (генные и хромосомные мутации) могут быть связаны с развитием сердечно-сосудистой патологии [6].

В наших предыдущих работах было показано, что полиморфизм фермента 2-ой фазы детоксикации ксенобиотиков – глутатион-S-трансферазы M1 типа – ассоциируется с предрасположенностью к сердечно-сосудистым заболеваниям [7]. На данном этапе представляло интерес выяснить, существует ли взаимосвязь полиморфизма генов репарации с предрасположенностью к ИБС.

Известно много генов репарации ДНК, которые по данным эпидемиологических исследований могут быть вовлечены в развитие предрасположенности к мультифакторным заболеваниям. На сегодняшний день известно немного исследований, посвященных изучению роли полиморфизма генов репарации в развитии сердечно-сосудистых заболеваний, и нет ни одной работы по изучению ассоциации полиморфизма гена *XRCC3* с предрасположенностью к ИБС. Исходя из анализа литературных данных [8-10], для настоящего исследования мы выбрали полиморфизм 241 кодона *XRCC3*, поскольку известна вовлеченность данного гена в репарацию повреждений, индуцированных свободными радикалами и полициклическими ароматическими углеводородами.

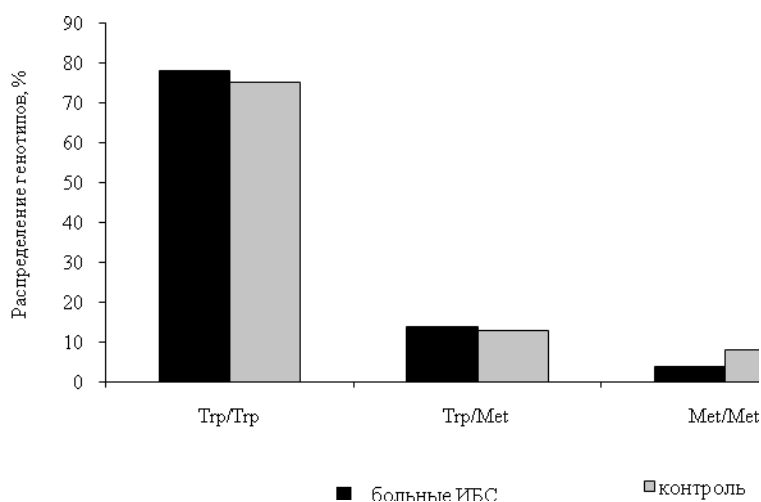
Для исследования значения генетических факторов риска развития сердечно-сосудистых заболеваний были выбраны больные терапевтического отделения НИИ кардиологии и внутренних болезней МЗ РК. Клинические диагнозы и обследование проводились опытными специалистами НИИКиВБ МЗ РК. Всего обследовано 96 мужчин, больных ИБС с острым коронарным синдромом или со стабильными формами стенокардии. Согласно клиническим данным, а также электрофизиологическим и биохимическим исследованиям больные с ИБС были подразделены на 2 группы. Это группа больных ИБС с острым коронарным синдромом (ОКС), которую составили 43 пациента (44,8%) и группа больных со стенокардией напряжения постинфарктным кардиосклерозом, которую составили 53 пациента (55,2 %).

В группу ОКС входило 22 пациента с верифицированным ОИМ (51,2 %) и 21 пациент с прогрессирующей стенокардией (48,8 %). В группу больных с постинфарктным кардиосклерозом входило 18 пациентов со стенокардией напряжения ФК I-II,

постинфарктным кардиосклерозом, что составило 33,9 %. 35 больных СН ПИК страдали стенокардией напряжения ФК III-IV, постин-фарктным кардиосклерозом (66,1 %). 75% пациентов ИБС (72 человека) страдали сопутствующей артериальной гипертонией 2–3 степени, факторами риска 2–3. При проведении обследования у всех 96 больных были выявлены симптомы сердечной недостаточности. Они соответствовали II– III классу по классификации NYHA [11].

Контрольная группа состояла из 96 практически здоровых лиц, некурящих мужчин, сопоставимых по возрасту и национальности с больными людьми. Лица контрольной группы не имели в анамнезе указаний на ангинозные боли, повышение артериального давления, другую патологию со стороны сердечно-сосудистой системы. В контрольную группу входили условно здоровые лица без клинических проявлений ИБС, без отягощенного семейного анамнеза по атеросклерозу, без ишемических проявлений на ЭКГ.

Для выявления ассоциированности гена *XRCC3* с предрасположенностью к ИБС мы провели генотипирование с помощью ПЦР и последующей рестрикцией амплифицированных фрагментов по исследуемому виду полиморфизма в группе больных ИБС и здоровых людей. На рисунке представлено распределение полиморфных аллелей по 241 кодону гена *XRCC3* в изученных когор-тах людей. Были определены частоты встречаемости генотипов по данному виду полиморфизма в изученных популяциях.



Частота встречаемости генотипов по полиморфизму *XRCC3* Thr²⁴¹Met у больных ИБС и здоровых людей

Частота нормального генотипа *XRCC3* 241 Thr/Thr в группе больных ИБС составила 81,25% (78 чел.), тогда как частота гетерозигот *XRCC3* 241 Thr/Met – 14,58% (14 чел.) и мутантных генотипов *XRCC3* 241 Met/Met – 4,17% (4 чел.). Частота нормального генотипа *XRCC3* 241 Thr/Thr в группе здоровых людей составила 78,13% (75 чел.), тогда как частота гетерозигот *XRCC3* 241 Thr/Met – 13,54% (13 чел.) и мутантный генотип *XRCC3* 241 Met/Met представляли 8 человек (8,33%). Так, отмечено, что частота

гомозигот по редкому аллелю в популяции здоровых людей выше, чем у больных ИБС. В целом по изученным когортам распределение генотипов соответствует распределению Харди-Вайнберга.

Частота полноценно функционального аллеля *XRCC3*²⁴¹Thr в популяции больных ишемической болезнью сердца составила – 0,885, а полиморфного аллеля *XRCC3*²⁴¹Met – 0,115. Эти данные согласуются с литературными данными о встречаемости функционального аллеля в популяциях азиатов (0,852-1,000). Частота полноценно функционального аллеля *XRCC3*²⁴¹Thr в контрольной популяции составила 0,849 частота полиморфного аллеля *XRCC3*²⁴¹Met – 0,151. Стоит отметить, что распространенность аллеля *XRCC3*²⁴¹Thr в популяции здоровых людей Алматинской области чуть ниже частоты, встречаемой в литературе по анализу различных азиатских популяций (0,852–1,000).

Для определения взаимосвязи между генотипами и предрасположенностью к развитию ИБС были определены показатели относительного риска (таблица 1). Анализ относительного риска влияния определенных генотипов на развитие ишемической болезни не выявил ассоциации полиморфных генотипов с развитием ИБС.

Таблица 1 – Оценка относительного риска влияния генотипов *XRCC3* Thr²⁴¹Met на предрасположенность к ИБС

Вид полиморфизма	Генотип	ИБС, чел. (%)	Контроль, чел. (%)	OR	CI (95%)	χ^2	P
<i>XRCC3</i> 241 Thr/Met	Thr/Thr	78 (81,25)	75 (78,13)	1,21	0,60-2,46	1,43	0,49
	Thr/Met	14 (14,58)	13 (13,54)	1,09	0,48-2,46		
	Met/Met	4 (4,17)	8 (8,33)	0,48	0,14-1,64		
<i>XRCC3</i> 241 Thr/Met Доминантная модель	Thr/Thr	78 (81,25)	75 (78,13)	1,21	0,60-2,46	0,29	0,59
	Thr/Met и Met/Met	14+4=18 (18,75)	13+8=21 (21,87)	0,82	0,41-1,67		
<i>XRCC3</i> 241 Thr/Met Рецессивная модель	Thr/Thr и Thr/Met	78+14=92 (95,83)	75+13=88 (91,67)	2,09	0,61-7,19	1,42	0,23
	Met/Met	4 (4,17)	8 (8,33)	0,48	0,14-1,64		

Как видно из таблицы, «благополучный» генотип (гомозиготы по функциональному аллелю – *XRCC3* Thr²⁴¹Thr) слегка повышает риск развития ИБС (OR = 1,21), с учетом гетерозиготного генотипа (рецессивная модель, таблица), риск повышается (OR = 2,09). Все результаты не являются статистически достоверными. Таким образом, участие этого вида полиморфизма в этиологии сердечно-сосудистых заболеваний вряд ли возможно.

Ранние исследования генов репарации в развитии мультифакторных заболеваний оказались крайне противоречивыми. С одной стороны, выявлена достоверная ассоциация с развитием различных форм рака таких, например, как меланома, рак легких и рак молочной железы. С другой стороны, не обнаружена взаимосвязь с развитием патологий, более того было найдено протективное влияние данных аллельных вариантов [12].

Полученные нами данные показывают отсутствие связи представленного полиморфизма (*XRCC3* Thr²⁴¹Met) как с предрасположенностью, так и с устойчивостью к развитию ИБС. Возможно, для получения более достоверных данных необходимо увеличивать объемы выборки и осуществлять более целенаправленный отбор контрольной популяции. Об этом свидетельствует большая частота мутантных аллелей в выбранной нами контрольной группе.

Возможно, изучение других видов полиморфизма, например, генов, вовлеченных в регуляцию клеточного цикла, апоптоза, процессы детоксикации ксенобиотиков необходимо изучать в совокупности с другими факторами риска такими, как курение и неправильное питание, способствующими накоплению в организме токсичных соединений и нерепарируемых повреждений ДНК. Это поможет установить ассоциативные связи и установить комплексы взаимодействующих факторов, способствующих развитию сердечно-сосудистой патологии на фоне генетической предрасположенности.

Также целесообразно проводить дальнейшие исследования в данной области для установления детальных ген-ген взаимодействий и их влияния на предрасположенность к мультифакторным заболеваниям, в том числе ишемической болезни сердца. Высокие показатели заболеваемости и смертности от инфаркта миокарда обуславливают постоянно растущий интерес к проблеме выявления групп риска и методам терапии данной патологии. Следует отметить, что проведение только эпидемиологических исследований не позволяет выявить точные критерии, и тем более являются малоэффективными в области разработки превентивных методов. В этих случаях весьма актуальным остается углубленное изучение патогенеза и молекулярных механизмов развития ИМ.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Семькина Ю. Новые стандарты // http://www.continent.kz/asia_32-33/11.htm
- 2 WHO Cardiovascular diseases (CVDs) // Fact sheet N°317. September 2011.
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html>
- 3 Yao S. Oxidative Stress and Cardiac Repair/Remodeling following Infarction // *The American Journal of the Medical Sciences*. – 2007. – Vol. 334. – P. 197-205.
- 4 Pacher P., Beckman J.S., Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease // *Physiol. Rev.* 2007. – Vol. 87. – P. 315-424.

5 Hare J.M., Tamler J.S. NO/redox disequilibrium in the failing heart and cardiovascular system // J. Clin. Invest. – 2005. – Vol. 115. – P. 509-517.

6 Martinet W., Knaapen M.W. et al. Oxidative DNA damage and repair in experimental atherosclerosis are reversed by dietary lipid lowering // Circ. Res. 2001. – Vol. 88. – P. 733-739.

7 Bulentayeva Z.A., Bekmanov B.O., Djansugurova L.B., Bersimbaev R.I. Polymorphism of *GST* and *XRCC* genes in susceptibility to coronary artery disease // Известия НАН РК. Серия биологическая и медицинская. – 2008. – № 4. – С. 37-40.

8 Goode E.L., Ulrich C.M. et al. Polymorphisms in DNA repair genes and associations with cancer risk // Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention. – 2002. – Vol. 11. – P. 1513-1520.

9 Zhou W., Liu G., Miller D. et al. Polymorphisms in the DNA Repair Genes *XRCC1* and *ERCC2* smoking and lung cancer risk // Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention. – 2003. – Vol. 12. – P. 359-365.

10 De Ruyck K., Szaumkessel M. et al. Polymorphisms in base-excision repair and nucleotide-excision repair genes in relation to lung cancer risk // Mutation Research. – 2007. – Vol. 631. – P. 101-110.

11 Nomenclature and Criteria for Diagnosis of Ischemic Heart Disease Report of the Joint International Society and Federation of Cardiology/World Health Organization Task Force on Standardization of Clinical Nomenclature // Circulation. – 2004. – Vol. 59. – P. 607-609.

12 Lopez-Cima F., Gonzalez-Arriaga P. et al. Polymorphisms in *XPC*, *XPD*, *XRCC1* and *XRCC3* DNA repair genes and lung cancer risk in a population of Northern Spain // BMC Cancer. – 2007. – Vol. 7. – P. 162-169.

REFERENCES

1 Semykina Yu. Novye standarty. http://www.continent.kz/asia_32-33/11.htm

2 WHO Cardiovascular diseases (CVDs). Fact sheet N°317. September 2011.

<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html>

3 Yao S. Oxidative Stress and Cardiac Repair/Remodeling following Infarction // The American Journal of the Medical Sciences. – 2007. – Vol. 334. – P. 197-205.

4 Pacher P., Beckman J.S., Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease // Physiol. Rev. – 2007. – Vol. 87. – P. 315-424.

5 Hare J.M., Tamler J.S. NO/redox disequilibrium in the failing heart and cardiovascular system // J. Clin. Invest. – 2005. – Vol. 115. – P. 509-517.

6 Martinet W., Knaapen M.W. et al. Oxidative DNA damage and repair in experimental atherosclerosis are reversed by dietary lipid lowering // *Circ. Res.* – 2001. – Vol. 88. – P. 733-739.

7 Bulentayeva Z.A., Bekmanov B.O., Djansugurova L.B., Bersimbaev R.I. Polymorphism of GST and XRCC genes in susceptibility to coronary artery disease. *Izvestiya NAN RK // Serya biologicheskaya i medicinskaya.* – 2008. – № 4. – С. 37-40.

8 Goode E.L., Ulrich C.M. et al. Polymorphisms in DNA repair genes and associations with cancer risk // *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention.* – 2002. – Vol. 11. – P. 1513-1520.

9 Zhou W., Liu G., Miller D. et al. Polymorphisms in the DNA Repair Genes XRCC1 and ERCC2 smoking, and lung cancer risk // *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention.* – 2003. – Vol. 12. – P. 359-365.

10 De Ruyck K., Szaumkessel M. et al. Polymorphisms in base-excision repair and nucleotide-excision repair genes in relation to lung cancer risk // *Mutation Research.* – 2007. – Vol. 631. – P. 101-110.

11 Nomenclature and Criteria for Diagnosis of Ischemic Heart Disease Report of the Joint International Society and Federation of Cardiology/World Health Organization Task Force on Standardization of Clinical Nomenclature // *Circulation.* – 2004. – Vol. 59. – P. 607-609.

12 Lopez-Cima F., Gonzalez-Arriaga P. et al. Polymorphisms in XPC, XPD, XRCC1 and XRCC3 DNA repair genes and lung cancer risk in a population of Northern Spain // *BMC Cancer.* – 2007. – Vol. 7. – P. 162-169.

Резюме

З. А. Беркімбаева¹, Э. М. Хусаинова¹, Л. Б. Жансүгірова¹,

Б. О. Бекманов¹, Л. А. Скворцова¹, К. Б. Жантаева¹, А. Т. Маниәріпова²

(¹ҚР БҒМ ҒК «Жалпы генетика және цитология институты» РМҚ, Алматы қ.,

²Қазақстан-Ресей медициналық университеті, Алматы қ.)

ДНҚ МОЛЕКУЛАСЫНЫҢ РЕПАРАЦИЯСЫНА ҚАТЫСАТЫН XRCC3 ГЕНІНІҢ
ПОЛИМОРФИЗМІН ЖҮРЕКТІҢ ИШЕМИЯЛЫҚ АУРУЫМЕН АУЫРАТЫН
АДАМДАРДА ЗЕРТТЕУ

Жүрек-тамыр ауруларымен ауыратын адамдарда ДНК молекуласының репарациясы үдерісіне қатысатын *XRCC3* Thr²⁴¹Met генінің полиморфизмі зерттелді. *XRCC3* генінің жүректің ишемиялық ауруының дамуына қатысы болатындығын анықтау мақсатында ПТР және келесі реттегі рестрикциялық талдау арқылы жүректің ишемиялық ауруымен ауыратын және дені сау адамдар топтарында генотиптеу жүргізілді. Зерттеу нәтижелері *XRCC3* Thr²⁴¹Met генінің полиморфизмі мен жүректің ишемиялық ауруының дамуы арасында ешқандай байланыстың болмайтындығын көрсетті.

Кілт сөздер: репарация гендері, генетикалық полиморфизм, жүректің ишемиялық ауруы.

Summary

*Z. A. Berkimbaeyva¹, E. M. Khussainova¹, L. B. Dzhansugurova¹,
B. O. Bekmanov¹, L. A. Skvortsova¹, K. B. Jantayeva¹ A. T. Mansharipova²,*

(¹«Institute of General Genetics and Cytology» CS MES RK, Almaty,

²Kazakh-Russian Medical University, Almaty)

STUDY OF THE ROLE OF DNA REPAIR GENE POLYMORPHISM *XRCC3* IN SUSCEPTIBILITY TO ISCHEMIC HEART DISEASE

A study was conducted to investigate the role of DNA repair gene polymorphism *XRCC3* Thr²⁴¹Met in the development of cardiovascular diseases. To identify the association of the gene *XRCC3* with susceptibility to ischemic heart disease, we conducted genotyping by PCR and subsequent restriction digestion of amplified fragments on the presence of this polymorphism in patients with ischemic heart disease and healthy controls. The data has shown no association of the polymorphism (*XRCC3* Thr²⁴¹Met) with a predisposition and resistance to the development of coronary heart disease.

Key words: repair genes, genetic polymorphisms, ischemic heart disease.

Поступила 27.03.2013 г.