

DOI: 10.15372/ATER20180302

ПАНЕЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ  
ДЛЯ АНАЛИЗА РИСКА ОТДАЛЕННОГО НЕБЛАГОПРИЯТНОГО ПРОГНОЗА  
СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Е.В. Шахтшнейдер<sup>1</sup>, П.С. Орлов<sup>1,2</sup>, Л.В. Щербакова<sup>1</sup>, Д.Е. Иваношук<sup>1,2</sup>, С.К. Малютина<sup>1</sup>,  
В.Н. Максимов<sup>1,2</sup>, В.В. Гафаров<sup>1</sup>, М.И. Воевода<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН  
630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1

<sup>2</sup> ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН  
630090, г. Новосибирск, просп. Академика Коптюга, 2

**Цель исследования:** сформировать панель генетических маркеров для анализа риска развития отдаленного неблагоприятного прогноза сердечно-сосудистых заболеваний в российской популяции. **Материал и методы.** Выборка из 900 человек сформирована в рамках международного исследовательского проекта HAPIEE (возраст 45–69 лет, средний возраст  $53,9 \pm 6,9$ , мужчины/женщины – 50/50). Молекулярно-генетический анализ выполнен методом ПЦР-ПДРФ для rs5128 гена *APOC3*, rs429358 и rs7412 гена *APOE*, rs708272 гена *CETP*, rs320 гена *LPL*, rs5888 гена *SCARB1*, rs2228314 гена *SREBF2*. **Результаты.** Выполнен анализ 10 однонуклеотидных полиморфизмов для включения в рискметр неблагоприятного прогноза сердечно-сосудистых заболеваний в российской популяции. Генотип  $\epsilon 4/\epsilon 4$  (rs429358 и rs7412) гена *APOE* ассоциирован с развитием неблагоприятных сердечно-сосудистых исходов в течение семи лет наблюдения. Для rs708272 гена *CETP* показана ассоциация с развитием случаев фатального инфаркта миокарда в течение семи лет наблюдения для генотипов, содержащих аллель С. Для rs5128 гена *APOC3*, rs320 гена *LPL*, rs5888 гена *SCARB1*, rs2228314 гена *SREBF2* статистически значимой ассоциации с риском неблагоприятного прогноза сердечно-сосудистых заболеваний в пилотном исследовании получено не было. **Заключение.** Для генов *APOE* и *CETP* получены пилотные данные о наличии статистически значимой ассоциации с риском развития отдаленного неблагоприятного прогноза сердечно-сосудистых заболеваний в российской популяции.

**Ключевые слова:** генетический рискметр, неблагоприятные исходы, инфаркт миокарда, *APOE*, *CETP*, сердечно-сосудистые заболевания.

Шахтшнейдер Елена Владимировна – канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, e-mail: 2117409@mail.ru

Орлов Павел Сергеевич – научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИТПМ; младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека ФИЦ ИЦиГ СО РАН

Щербакова Лилия Валерьевна – старший научный сотрудник лаборатории клинико-популяционных и профилактических исследований терапевтических и эндокринных заболеваний НИИТПМ; младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека ФИЦ ИЦиГ СО РАН

Иваношук Динара Евгеньевна – научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИТПМ; младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека ФИЦ ИЦиГ СО РАН

Малютина Софья Константиновна – д-р мед. наук, проф., зав. лабораторией этиопатогенеза и клиники внутренних заболеваний

Максимов Владимир Николаевич – д-р мед. наук, доцент, зав. лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний

Гафаров Валерий Васильевич – д-р мед. наук, проф., зав. лабораторией психологических и социологических проблем терапевтических заболеваний

Воевода Михаил Иванович – д-р мед. наук, проф., академик РАН, руководитель НИИТПМ; зав. лабораторией молекулярной генетики человека ФИЦ ИЦиГ СО РАН

© Шахтшнейдер Е.В., Орлов П.С., Щербакова Л.В., Иваношук Д.Е., Малютина С.К., Максимов В.Н., Гафаров В.В., Воевода М.И., 2018

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) — одна из основных причин смерти в Российской Федерации. Определение групп населения, наиболее предрасположенных к развитию ССЗ, — актуальная задача российского здравоохранения [1]. Уровень индивидуального риска развития неблагоприятного сердечно-сосудистого прогноза обусловлен как генетическими факторами, так и факторами образа жизни. Относительный риск (ОР) новых коронарных событий у пациентов с высоким генетическим риском выше на 91 %, чем у людей с низким генетическим риском (ОР = 1,91; 95 % доверительный интервал (ДИ) 1,75–2,09) [2]. В то же время прогностический вклад отдельных генетических и средовых факторов не является высоким и для корректной оценки рисков необходимо учитывать большое количество параметров [3]. Рискометры для средовых факторов риска, например SCORE (Systematic Coronary Risk Evaluation) или Framingham, внедрены в клиническую практику [4, 5]. Рискометры для оценки вклада генетических факторов находятся в стадии разработки [2, 6–10]. Сложность их создания обусловлена популяционной специфичностью распространения сердечно-сосудистых заболеваний, особенностями климатических и социальных условий жизни, генетическими факторами.

С учетом популяционной специфичности для России разрабатывается генетический рискометр отдаленного неблагоприятного прогноза ССЗ. Цель работы — сформировать панель генетических маркеров для анализа риска развития отдаленного неблагоприятного прогноза сердечно-сосудистых заболеваний в российской популяции.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на базе клинико-диагностического отделения Научно-исследовательского института терапии и профилактической медицины — филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (НИИТПМ — филиал ИЦиГ СО РАН). Исследование одобрено Этическим комитетом НИИТПМ — филиал ИЦиГ СО РАН. От каждо-

го участника исследования получено информированное согласие.

Популяционная выборка сформирована на базе эпидемиологического обследования взрослого населения в двух административных районах г. Новосибирска (Западная Сибирь). Состав жителей обследованных районов типичен для г. Новосибирска по национальному, возрастному составу и занятости населения. Основная репрезентативная выборка из 9360 человек (возраст 45–69 лет, средний возраст  $53,8 \pm 7$ , мужчины/женщины — 50/50) сформирована с помощью таблицы случайных чисел из жителей г. Новосибирска. Обследование выполнено в рамках Международного многоцентрового проекта HAPIEE — «Детерминанты сердечно-сосудистых заболеваний в Восточной Европе» (головной центр в Лондоне, Великобритания; принципиальные исследователи в Новосибирске, Россия — академик РАН Ю.П. Никитин и профессор д-р мед. наук С.К. Малютин) [11]. В этническом отношении более 90 % обследованных составили европеоиды.

Сбор данных о конечных точках в когорте выполнен за семь лет на основе нескольких источников информации: при проведении повторного скрининга той же выборки в 2006–2008 гг., на основе базы данных Новосибирского городского регистра инфаркта миокарда и базы данных Новосибирского городского регистра инсульта (табл. 1). Категории причин смерти по МКБ10 представлены в табл. 2.

Обследование участников исследования из популяционной выборки проводилось бригадой врачей по стандартным методикам и проходило в специально оборудованных центрах (кабинеты регистрации обследуемых, кабинет для заполнения анкет, кабинеты специалистов (терапевт, кардиолог, гастроэнтеролог, невропатолог, диетолог), процедурный кабинет, кабинет функциональных методов обследования и антропометрии). В программу скринингового (эпидемиологического) обследования популяционной выборки входили: демографические и социальные данные, опрос о привычке курения и употребления алкоголя, диетологический опрос, история хронических заболеваний, употребление медикаментов, кардиологический опрос по Роуз, антропометрия, 3-кратное измерение АД, спи-

Т а б л и ц а 1

Данные о конечных точках на 31.12.2014

	Первое событие с подтвержденным случаем инфаркта миокарда	Первое событие с подтвержденным случаем нестабильной стенокардии (ОКС)	Первое событие с подтвержденным случаем инсульта головного мозга
Конечная первичная точка (n)	281	343	279

Данные о фатальных точках на 2014 г.

Категория 1	Международная классификация болезней (причины смерти)	<i>n</i>	Категория 2	Международная классификация болезней (причины смерти)	<i>n</i>
1	Инфаркт миокарда (I21–I23)	57	1	ССЗ (1–4 категории 1)	380
2	Нестабильная стенокардия (I20)	1			
3	Другая острая ИБС (I24)	3			
4	Другая хроническая ИБС (I25)	319			
5	Другие заболевания сердца (I26–I52.8)	21	2	Другие ССЗ (5–8 категории 1)	216
6	Инсульт (I60–I64)	93			
7	Другие цереброваскулярные заболевания (I65–I69.8)	40			
8	Другие цереброваскулярные заболевания (I70–I99; I00–I15.9)	62			
9	Онкология (C00–C97)	250	3	Онкология (9 категории 1)	250
10	Внешние причины (S00–T98; V01–Y98)	69	4	Внешние причины (10 категории 1)	69
11	Другие	154	5	Другие (11 категории 1)	154

Примечание. ИБС – ишемическая болезнь сердца.

рометрия, запись ЭКГ, выявление «Определенной ИБС» по валидизированным эпидемиологическим (либо инфаркт миокарда (ИМ), определенный по ЭКГ, либо безболевая форма ИБС по ЭКГ, либо стабильная стенокардия напряжения ФК II–IV по опроснику Роуз) и клинико-функциональным критериям (по данным расшифровки ЭКГ по Миннесотскому коду) и другие обследования.

Геномную ДНК всех участников исследования выделяли из венозной крови методом фенол-хлороформной экстракции [12]. Качество извлеченной ДНК оценено с помощью системы капиллярного электрофореза Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Tec.Inc.USA).

В рамках пилотного исследования молекулярно-генетический анализ выполнен для 900 человек, отобранных методом случайных чисел из основной выборки (возраст 45–69 лет, средний возраст  $53,9 \pm 6,9$ , мужчины/женщины – 50/50). Генотипирование выполнено методом ПЦР-ПДРФ по стандартным методикам для rs5128 гена *APOC3*, rs429358 и rs7412 гена *APOE*, rs708272 гена *CETP*, rs320 гена *LPL*, rs5888 гена *SCARB1*, rs2228314 гена *SREBF2*.

Статистическую обработку результатов проводили в программе SPSS for Windows. Уровень значимости принят равным 0,05, что соответствует критериям медико-биологических исследований. Для оценки данных отдаленного неблагоприятного прогноза ССЗ использовался метод таблиц дожития и log-rank test, что графически выражалось по методу Каплана – Майера.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

С целью достижения максимальной прогностической значимости разрабатываемого рискометра для генотипирования отобраны маркеры риска, показавшие ассоциацию с развитием ССЗ, в том числе в российских популяциях. На первом этапе для включения в рискметр анализировались 10 однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) (табл. 3).

***Chr9 (rs1333049)***. Rs1333049 (хромосома 9), влияет на экспрессию гена большой нетранслируемой РНК *CDKN2BAS*, которая в свою очередь отвечает за регуляцию *CDKN2B* [13]. Особый интерес к этому ОНП обусловлен тем, что во всех исследованиях на европеоидных и монголоидных популяциях rs1333049 и/или сцеплен-

Т а б л и ц а 3

### Однонуклеотидные полиморфизмы, ассоциированные с развитием сердечно-сосудистых заболеваний

Ген	Вариант	Аллель риска
<i>Chr9: 22125504</i> <i>APOE</i>	rs1333049	C
	rs429358	C
	rs7412	C
<i>CETP</i>	rs708272	C
	rs16996148	T
<i>NCAN-CILP2</i>	rs3798220	C
<i>LPA</i>	rs1805124	G
<i>SCN5A</i>	rs6025	A
<i>F5</i>	rs1799963	A
<i>F2</i>	rs5128	G
<i>APOC3</i>	rs2228314	C
<i>SREBF2</i>		

ный с ним rs10757278 стойко ассоциированы с риском развития ССЗ и, в частности, ишемической болезни сердца (отношение шансов (ОШ) от 1,2 до 1,47) [14]. Ранее данные, полученные в российских исследованиях, также подтвердили ассоциацию rs1333049 с риском развития ССЗ [15]. Показана ассоциация rs1333049 с риском развития ИМ для томской [16], красноярской [17] и новосибирских [18] групп пациентов.

**APOE (rs429358 и rs7412).** Ген *APOE* локализован на 19-й хромосоме. Белок апоЕ — лиганд для рецепторов липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) клеток печени. АпоЕ участвует в процессе удаления холестерина из клеток печени, макрофагов и клеток тканей нервной системы. Наиболее изученными ОНП являются rs429358 и rs7412 (аллели  $\epsilon_2$ ,  $\epsilon_3$  и  $\epsilon_4$ ). Замена нуклеотидов приводит к заменам аминокислот в позициях 112 и 158 аминокислотной последовательности белка, что, в свою очередь, способствует изменению сродства апоЕ с рецепторами [19]. По данным исследований аллели гена *APOE* ассоциированы с риском развития ССЗ. В европеоидных популяциях отношение шансов составляет 1,22–2,2 [20]. Данные, полученные в России, также не противоречат мировым [21, 22].

**CETP (rs708272).** Ген *CETP* локализуется на 16-й хромосоме (16q21) [23]. Переносчик эфиров холестерина *CETP* представляет собой гидрофобный гликопротеин, участвующий в переносе эстерифицированного холестерина (ХС) от липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) к липопротеинам очень низкой (ЛПОНП) и липопротеинам промежуточной плотности ЛППП с превращением последних в липопротеины низкой плотности (ЛПНП) [24]. Rs708272 гена *CETP* ассоциирован с высоким риском ишемической болезни сердца и прогрессированием коронарного атеросклероза и является предиктором ответа на терапию статинами [25]. Отношение шансов ассоциации rs708272 с риском развития ССЗ в европеоидных популяциях колеблется в пределах от 1,34 до 1,7 [26].

**NCAN/CILP2/PBX4 (rs16996148).** Rs16996148 локализован на 19-й хромосоме в межгенном пространстве, маркированном генами *CILP2* и *PBX4* [27]. Для rs16996148 показана ассоциация с уровнем липопротеинов низкой плотности и триглицеридами [28, 29]. Также стоит отметить, что эффект данного локуса проявлялся как в европеоидных, так и в монголоидных популяциях [30, 31]. В популяции России rs16996148 ранее не анализировали.

**LPA (rs3798220).** Ген *LPA* локализован на хромосоме 6q26. Белок, кодируемый этим геном, представляет собой сериновую протеиназу, которая ингибирует активность активатора 1 плазми-

ногена тканевого типа. Белок является высокополиморфным и содержит переменное количество kringle-повторов и протеазоподобный домен. Переменное число повторов kringle приводит к Lp(a) белкам с переменными размерами [32].

Вариант rs3798220 — однонуклеотидная замена в протеазном домене Pe4399Met. Ранее была показана ассоциация с повышенной концентрацией Lp(a), процессами тромбоза и фибринолиза [33]. Ассоциация с высоким относительным риском развития ССЗ также подтверждена во многих исследованиях, ОШ составляет от 1,62 до 3,14 [33–36].

**SCN5A (rs1805124).** Ген расположен на хромосоме 3p21-24 [37]. Экзоны 2–28 являются белок-кодирующими. Также для *SCN5A* описано несколько вариантов сплайсинга [38]. Ген *SCN5A* кодирует основную сердечную  $\alpha$ -субъединицу натрий-канала Nav1. Основная роль вольтаж-зависимого сердечного натриевого канала заключается в быстрой деполяризации в начале действия потенциала и передаче электрических импульсов в сердечном миокарде [39]. Один из наиболее хорошо исследованных полиморфизмов rs1805124 находится в 12-м экзоне гена. Данный полиморфный локус ассоциирован с синдромом Бругада [40], синдромом длинного интервала QT [41]. В России также была подтверждена ассоциация rs1805124 с идиопатическими нарушениями сердечной проводимости [42].

**F5 (rs6025).** Ген *F5* кодирует белок пятого фактора свертывания крови (фактор Лейдена). Полиморфизм rs6025 (1691 G >A) приводит к замене аминокислоты аргинин глутамином в 506-й позиции белка (R5 06Q). Такая замена клинически проявляется повышенной свертываемостью крови и склонностью к тромбозам. Данный генетический вариант ассоциирован с высоким риском развития венозных тромбозов и ишемического инсульта [43]. В зарубежной литературе отношение шансов развития ССЗ варьирует в пределах от 1,31 до 1,61 [44]. В российской популяции показана ассоциация rs6025 с предрасположенностью к ИМ и повторным инфарктам в течение года [43].

**F2 (rs1799963).** Ген протромбина, кодирующий коагуляционный фактор II, расположен на хромосоме 11p11 и содержит 14 экзонов. Протромбин представляет собой витамин К-зависимый гликопротеин, который в основном синтезируется в печени и секретируется в циркулирующей плазме. Показана ассоциация rs1799963 с предрасположенностью к ИМ, отношения шансов от 1,41 до 4,68 [45, 46].

**APOC3 (rs5128).** Кластер *APOC1*, *APOC3*, *APOC4* находится на хромосоме 11. АпоС3 является компонентом липопротеинов очень низкой

плотности и апоВ-содержащих липопротеинов, влияет на катаболизм апоВ-содержащих липопротеинов и частиц ЛОНП, повышает адгезию моноцитов к эндотелиальным клеткам сосудов и активирует процесс воспаления [47]. Повышение уровня апоС3 может быть причиной развития гипертриглицеридемии. Полиморфизм гена *APOC3* (rs5128) ассоциирован с семейным анамнезом ССЗ, субклиническими проявлениями ССЗ и факторами риска ССЗ [48, 49].

***SREBF2* (rs2228314).** Ген *SREBF2* (синонимы *SREBP2*) расположен на хромосоме 22q13, содержит 23 экзона. SREBF2 – белок, связывающий стерол-регулирующий элемент 2 – активирует транскрипцию нескольких генов (рецептора ЛПНП, ГМГ-КоА-редуктазы, ГМГ-КоА-синтазы, фарензил дифосфат синтазы, сквален синтазы), контролируя гомеостаз холестерина [50]. SREBF2 также участвует в контроле уровня холестерина посредством посттранскрипционной репрессии ABCA1 через microRNA (miR33), включенной в пределах интрона 17-го гена *SREBF2* [51]. Показана ассоциация полиморфизма гена *SREBF2* с риском развития ИМ и нарушениями липидного обмена [52].

**Результаты анализа 10 ОНП с риском развития отдаленного неблагоприятного прогноза.** В пилотном исследовании на популяционной выборке получена статистически значимая ассоциация для следующих фатальных событий: инфаркт миокарда (I21–I23) с геном *SETP* ( $p = 0,015$ ) и общая смертность от сердечно-сосудистых событий (коды I00–I99) с геном *APOE* ( $p = 0,047$ ). Данные представлены в графике Каплана – Майера (рисунок).

Генотип  $\epsilon 4/\epsilon 4$  гена *APOE* ассоциирован с развитием неблагоприятных сердечно-сосудистых исходов в течение семи лет наблюдения в европеоидной популяции Западной Сибири (Россия).

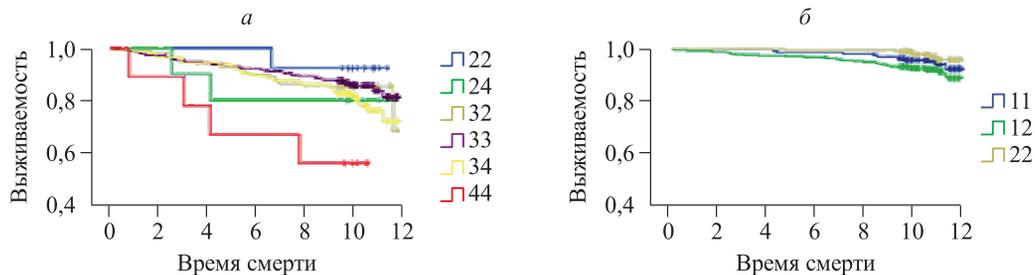
Для rs708272 гена *SETP* показана ассоциация с развитием случаев фатального инфаркта миокарда в течение семи лет наблюдения для генотипов, содержащих аллель С.

Для rs5128 гена *APOC3*, rs320 гена *LPL*, rs5888 гена *SCARB1*, rs2228314 гена *SREBF2* статистически значимой ассоциации с риском неблагоприятного прогноза сердечно-сосудистых заболеваний в пилотном исследовании получено не было. Данные ОНП не могут быть рекомендованы для включения в панель генетических маркеров для анализа риска развития отдаленного неблагоприятного прогноза сердечно-сосудистых заболеваний в российской популяции.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Уровень индивидуального риска развития отдаленного неблагоприятного прогноза сердечно-сосудистых заболеваний обусловлен как генетическими факторами, так и факторами образа жизни. В рамках настоящей работы представлены результаты проспективного исследования, в котором были получены данные о ряде генетических факторов, способствующих повышению риска неблагоприятного прогноза ССЗ. Структурные изменения ДНК независимо влияют на общую смертность от сердечно-сосудистых событий и инфаркта миокарда, что согласуется с результатами предыдущих исследований [2, 4–10]. Риск неблагоприятного исхода изменяется в зависимости от присутствия определенного аллеля или генотипа.

Изучение генетических факторов риска развития отдаленного неблагоприятного прогноза ССЗ важно не только для анализа исходов заболевания, но и для проведения профилактики, учитывая, что определить генетическую вариабельность можно до развития первых клинических проявлений заболевания. Пациенты с высоким генетическим риском могут получить дополнительную мотивацию приверженности здоровому образу жизни [2]. С другой стороны, существует вероятность, что пациенты, узнав о наличии высокого генетического риска на основе анализа ДНК, могут посчитать его predeterminedностью и перестать следить за своим здоровьем. Это мо-



Кривые Каплана – Майера, показывающие ассоциацию общей смертности от сердечно-сосудистых событий с полиморфизмом гена *APOE* (а) и ассоциацию инфаркта миокарда с полиморфизмом гена *SETP* (б)

жет быть компенсировано тем, что факторы образа жизни существенно влияют на риск неблагоприятных сердечно-сосудистых событий независимо от профиля генетического риска пациента [2].

Изучение генетических факторов риска неблагоприятного отдаленного прогноза ССЗ целесообразно расширять, как увеличивая количество валидированных генетических полиморфизмов в анализе, так и проверяя полученные результаты в генетически разнообразных популяциях в различных этнических группах.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В исследование были включены однонуклеотидные полиморфизмы, показавшие ассоциацию с развитием сердечно-сосудистых заболеваний по совокупности данных популяционных исследований, полногеномного анализа ассоциаций и анализа различных клинических выборок, в том числе российских. Для генов *APOE* и *CETP* получены пилотные данные о наличии статистически значимой ассоциации с риском развития отдаленного неблагоприятного прогноза сердечно-сосудистых заболеваний в российской популяции. Rs429358 и rs7412 гена *APOE*, а также rs708272 гена *CETP* могут быть рекомендованы для включения в панель генетических маркеров для анализа риска развития отдаленного неблагоприятного прогноза сердечно-сосудистых заболеваний в российской популяции.

Выявленные особенности ассоциации аллелей и генотипов могут быть использованы для оценки риска развития ССЗ и служить основой для разработки программ профилактики сердечно-сосудистых заболеваний.

### БЛАГОДАРНОСТИ

Работа поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований № 17-06-01045/17-ОГОН и ГЗ 0324-2018-0001.

### ЛИТЕРАТУРА

1. **Оганов Р.Г., Масленникова Г.Я.** Демографические тенденции в Российской Федерации: вклад болезней системы кровообращения // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2012. Т. 11, № 1. С. 5–10.
2. **Amit V. Khera, Connor A. Emdin et al.** Genetic Risk, Adherence to a Healthy Lifestyle, and Coronary Disease // N. Engl. J. Med. 2016. DOI: 10.1056/NEJMoa1605086.
3. **Ware J.H.** The limitations of risk factors as prognostic tools // N. Engl. J. Med. 2006. Vol. 355. P. 2615–2617.
4. **Stenlund H., Lunnberg G., Jenkins P. et al.** Fewer deaths from cardiovascular disease than expected from the Systematic Coronary Risk Evaluation chart in a Swedish population // Eur. J. Cardiovasc. Prev. Rehabil. 2009. Apr. 7.
5. **Lloyd-Jones D.M., Wilson P.W., Larson M.G. et al.** Framingham risk score and prediction of lifetime risk for coronary heart disease // Am. J. Cardiol. 2004. Vol. 94. P. 20–24.
6. **Ripatti S., Tikkanen E., Orho-Melander M. et al.** A multilocus genetic risk score for coronary heart disease: case-control and prospective cohort analyses // Lancet. 2010. Vol. 376. P. 1393–1400.
7. **Thanassoulis G., Peloso G.M., Pencina M.J. et al.** A genetic risk score is associated with incident cardiovascular disease and coronary artery calcium: the Framingham Heart Study // Circ. Cardiovasc. Genet. 2012. Vol. 5. P. 113–121.
8. **Brautbar A., Pompeii L.A., Dehghan A. et al.** A genetic risk score based on direct associations with coronary heart disease improves coronary heart disease risk prediction in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC), but not in the Rotterdam and Framingham Offspring, Studies // Atherosclerosis. 2012. Vol. 223. P. 421–426.
9. **Mega J.L., Stitziel N.O., Smith J.G. et al.** Genetic risk, coronary heart disease events, and the clinical benefit of statin therapy: an analysis of primary and secondary prevention trials // Lancet. 2015. Vol. 385. P. 2264–2271.
10. **Tada H., Melander O., Louie J.Z. et al.** Risk prediction by genetic risk scores for coronary heart disease is independent of self-reported family history // Eur. Heart. J. 2016. Vol. 37. P. 561–567.
11. **Peasey A., Bobak M., Kubinova R. et al.** Determinants of cardiovascular disease and other non-communicable diseases in Central and Eastern Europe: Rationale and design of the HAPIEE study // BMC Public. Health. 2006. Vol. 6. P. 255.
12. **Sambrook J., Russell D.W.** Purification of nucleic acids by extraction with phenol:chloroform // CSH Protoc. 2006. N 1.
13. **Mercer T.R., Dinger M.E., Mattick J.S.** Long non-coding RNAs: insights into functions // Nat. Rev. Genet. 2009. Vol. 10, N 3. P. 155–159.
14. **Chen G., Fu X., Wang G. et al.** Genetic Variant rs10757278 on Chromosome 9p21 Contributes to Myocardial Infarction Susceptibility // Int. J. Mol. Sci. 2015. Vol. 16, N 5. P. 11678–11688.
15. **Орлов П.С., Ложкина Н.Г., Максимов В.Н. и др.** Связь ряда однонуклеотидных полиморфизмов с инфарктом миокарда в разных возрастных группах европеоидов Новосибирска // Атеросклероз. 2017. Т. 13, № 2. С. 5–11.
16. **Goncharova I.A., Makeeva O.A., Golubenko M.V. et al.** Genes for Fibrogenesis in the Determination of Susceptibility to Myocardial Infarction // Mol. Biol. (Mosk). 2016. Vol. 50. N 1. P. 94–105.
17. **Шестерня П.А., Шульман В.А., Никулина С.Ю. и др.** Предикторная роль полиморфизмов хромосомы 9p21.3 и их взаимосвязь с отягощенной наследственностью в развитии инфаркта миокарда // Рос. кардиол. журн. 2012. № 6 (98). С. 14–18.
18. **Ложкина Н.Г., Максимов В.Н., Куликов И.В. и др.** Ассоциация генетических маркеров со сниженной

- сократительной функцией сердца у больных с острым коронарным синдромом // Медицина и образование в Сибири. 2013. № 3. С. 38.
19. **Singh P.P., Singh M., Mastana S.S.** APOE distribution in world populations with new data from India and the UK // *Ann. Hum. Biol.* 2006. Vol. 33. P. 279–308.
  20. **Hong Xu, Haiqing Li, Jun Liu.** Meta-Analysis of Apolipoprotein E Gene Polymorphism and Susceptibility of Myocardial Infarction // *PLoS One.* 2014. Vol. 9, N 8. P. e104608.
  21. **Воевода М.И., Шахтшнейдер Е.В., Куликов И.В.** Ассоциация полиморфизма кодирующей части гена *APOE* с показателями липидного профиля в Новосибирске. Мониторинг сердечно-сосудистой заболеваемости, смертности и их факторов риска в разных регионах мира (проект ВОЗ MONICA). Новосибирск: Гео, 2016. С. 492–518.
  22. **Shakhtshneider E.V., Ragino Y.I., Kulikov I.V., Ivanova M.V., Voevoda M.I., Chernjavski A.M.** Apolipoprotein E gene polymorphism in men with coronary atherosclerosis in Siberia // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2011. Vol. 150, N 3. P. 355–358.
  23. **Kathiresan S.** Common variants at 30 loci contribute to polygenic dyslipidemia // *Nat. Genet.* 2009. Vol. 8, N 14. P. 56–65.
  24. **Шахтшнейдер Е.В., Куликов И.В., Максимов В.Н. и др.** Полиморфизм гена *CETP* в европеоидной популяции Западной Сибири и группах, контрастных по уровню общего холестерина сыворотки // *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* 2014. Т. 157, № 3. С. 343–347.
  25. **Ridker P.M., Pare G., Parker A.N. et al.** Polymorphism in the CETP gene region, HDL cholesterol, and risk of future myocardial infarction: genomewide analysis among 18 245 initially healthy women from the women's genome health study // *Circ. Cardiovasc. Genet.* 2009. Vol. 2, N 1. P. 26–33. DOI: 10.1161/circgenetics.108.817304.
  26. **Qi Wang, Shao-Bo Zhou, Li-Jie Wang et al.** Seven Functional Polymorphisms in the CETP Gene and Myocardial Infarction Risk: A Meta-Analysis and Meta-Regression // *PLoS One.* 2014. Vol. 9, N 2. P. e88118.
  27. **Johnson K., Farley D., Hu S.I. et al.** One of two chondrocyte-expressed isoforms of cartilage intermediate-layer protein functions as an insulin-like growth factor 1 antagonist // *Arthritis Rheum.* 2003. Vol. 48, N 5. P. 1302–1314.
  28. **Willer C.J., Sanna S., Jackson A.U. et al.** Newly identified loci that influence lipid concentrations and risk of coronary artery disease // *Nat. Genet.* 2008. Vol. 40, N 2. P. 161–169.
  29. **Hubacek J.A., Adamkova V., Lanska V. et al.** Polygenic hypercholesterolemia: examples of GWAS results and their replication in the Czech-Slavonic population // *Physiol. Res.* 2017. Vol. 66, N 5 (Suppl. 1). P. S101–S111.
  30. **Tai E.S., Sim X.L., Ong T.H. et al.** Polymorphisms at newly identified lipid-associated loci are associated with blood lipids and cardiovascular disease in an Asian Malay population // *J. Lipid Res.* 2009. Vol. 50, N 3. P. 514–520.
  31. **Ting-Ting Yan, Rui-Xing Yin, Qing Li.** Sex-specific association of rs16996148 SNP in the NCAN/CILP2/PBX4 and serum lipid levels in the Mulao and Han populations // *Lipids Health Dis.* 2011. Vol. 10. P. 248.
  32. **Lamina C., Kronenberg F.** The mysterious lipoprotein(a) is still good for a surprise // *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2013. Vol. 1. P. 170–172.
  33. **Luke M.M., Kane J.P., Liu D.M. et al.** A polymorphism in the protease-like domain of apolipoprotein(a) is with severe coronary artery disease // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2007. Vol. 27. P. 2030–2036.
  34. **Chasman D.I., Shiffman D., Zee R.Y. et al.** Polymorphism in the apolipoprotein(a) gene, plasma lipoprotein(a), cardiovascular disease, and low-dose aspirin therapy // *Atherosclerosis.* 2009. Vol. 203. P. 371–376.
  35. **Clarke R., Peden J.F., Hopewell J.C. et al.** Genetic variants associated with Lp(a) lipoprotein level and coronary disease // *N. Engl. J. Med.* 2009. Vol. 361, N 26. P. 2518–2528.
  36. **Li S., Wu N.Q., Zhu C.G. et al.** Significance of lipoprotein(a) levels in familial hypercholesterolemia and coronary artery disease // *Atherosclerosis.* 2017. Vol. 260. P. 67–74. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2017.03.021.
  37. **Rook M.B., Evers M.M., Vos M.A. et al.** Biology of cardiac sodium channel Nav1.5 expression // *Cardiovasc. Res.* 2012. Vol. 93. P. 12–23.
  38. **Schroeter A., Walzik S., Blechschmidt S. et al.** Structure and function of splice variants of the cardiac voltage-gated sodium channel Na(v)1.5 // *J. Mol. Cell Cardiol.* 2010. Vol. 49. P. 16–24.
  39. **Tfelt-Hansen J., Winkel B.G., Grunnet M. et al.** Inherited cardiac diseases caused by mutations in the Nav1.5 sodium channel // *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 2010. Vol. 21. P. 107–115.
  40. **Matsumura H., Nakano Y., Ochi H. et al.** H558R, a common SCN5A polymorphism, modifies the clinical phenotype of Brugada syndrome by modulating DNA methylation of SCN5A promoters // *J. Biomed. Sci.* 2017. Vol. 24, N 1. P. 91.
  41. **Qureshi S.F., Ali A., John P. et al.** Mutational analysis of SCN5A gene in long QT syndrome // *Meta Gene.* 2015. Vol. 6. P. 26–35.
  42. **Nikulina S.Y., Chernova A.A., Shulman V.A. et al.** An investigation of the association of the H558R polymorphism of the SCN5A gene with idiopathic cardiac conduction disorders // *Genet. Test Mol. Biomarkers.* 2015. Vol. 19, N 6. P. 288–294.
  43. **Макеева О.А., Зыков М.В., Голубенко М.В. и др.** Роль генетических факторов в прогнозировании осложнений на протяжении года после инфаркта миокарда // *Кардиология.* 2013. Т. 53, № 10. С. 16–23.
  44. **Mannucci P.M., Asselta R., Duga S. et al.** The association of factor V Leiden with myocardial infarction is replicated in 1880 patients with premature disease // *J. Thromb. Haemost.* 2010. Vol. 8, N 1. P. 2116–2121.
  45. **Li C., Ren H., Chen H. et al.** Prothrombin G20210A (rs1799963) polymorphism increases myocardial infarction risk in an age-related manner: A systematic review and meta-analysis // *Sci. Rep.* 2017. Vol. 7, N 1. P. 13550.
  46. **Tomaiuolo Rossella, Bellia Chiara, Caruso Antonietta et al.** Prothrombotic gene variants as risk factors of acute myocardial infarction in young women // *J. Transl. Med.* 2012. Vol. 10. P. 235.
  47. **Pollin T.I., Damcott C.M., Shen H. et al.** A null mutation in human APOC3 confers a favorable plasma

- lipid profile and apparent cardioprotection // *Science*. 2008. Vol. 322 (5908). P. 1702–1705. DOI: 10.1126/science.1161524.
48. Adams J.N., Raffield L.M., Freedman B.I. et al. Analysis of common and coding variants with cardiovascular disease in the Diabetes Heart Study // *Cardiovasc. Diabetol.* 2014. Vol. 13. P. 77. DOI: 10.1186/1475-2840-13-77.
49. Song Y., Zhu L., Richa M. et al. Associations of the APOC3 rs5128 polymorphism with plasma APOC3 and lipid levels: a meta-analysis // *Lipids Health Dis.* 2015. Vol. 14. P. 32. DOI: 10.1186/s12944-015-0027-0.
50. Bommer G.T., MacDougald O.A. Regulation of lipid homeostasis by the bifunctional SREBF2-miR33a locus // *Cell Metab.* 2011. Vol. 13, N 3. P. 241–247. DOI: 10.1016/j.cmet.2011.02.004.
51. Najafi-Shoushtari S.H., Kristo F., Li Y. et al. MicroRNA-33 and the SREBP host genes cooperate to control cholesterol homeostasis // *Science*. 2010. Vol. 328 (5985). P. 1566–1569. DOI: 10.1126/science.1189123.
52. Pérez-Belmonte L.M., Moreno-Santos I., Cabrera-Bueno F. et al. Expression of Sterol Regulatory Element-Binding Proteins in epicardial adipose tissue in patients with coronary artery disease and diabetes mellitus: preliminary study // *Int. J. Med. Sci.* 2017. Vol. 14, N 3. P. 268–274. DOI: 10.7150/ijms.17821.eCollection 2017.

**A PANEL OF GENETIC MARKERS  
FOR ANALYZING THE RISK OF LONG-TERM ADVERSE PROGNOSIS  
OF CARDIOVASCULAR DISEASES**

E.V. Shakhshneider<sup>1</sup>, P.S. Orlov<sup>1,2</sup>, L.V. Shcherbakova<sup>1</sup>, D.E. Ivanoshchuk<sup>1,2</sup>, S.K. Malyutina<sup>1</sup>,  
V.N. Maksimov<sup>1,2</sup>, V.V. Gafarov<sup>1</sup>, M.I. Voevoda<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of Federal Research  
Institute of Cytology and Genetics of SB RAS  
630089, Novosibirsk, Boris Bogatkov str., 175/1*

<sup>2</sup> *Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of SB RAS  
630090, Novosibirsk, Academician Koptyug av., 2*

**Aim:** to form a panel of genetic markers for analyzing the risk of long-term adverse prognosis of cardiovascular diseases in Russia population. **Material and methods.** A sample of nine hundred individuals was formed within the framework of the HAPIEE project (age 45–69 years, middle age  $53.9 \pm 6.9$ , male/female – 50/50). Molecular genetic analysis was performed using PCR followed by restriction fragment length polymorphism analysis for the *APOC3* gene rs5128 polymorphism, *APOE* gene rs429358 and rs7412, *CETP* gene rs708272, *LPL* gene rs320, *SCARB1* gene rs5888, and *SREBF2* gene rs2228314. **Results.** 10 single nucleotide polymorphisms were analyzed for the inclusion in the risk model of adverse prognosis of cardiovascular diseases in Russia population. The *APOE* gene  $\epsilon 4/\epsilon 4$  genotype (rs429358 and rs7412) was associated with the development of adverse cardiovascular outcomes for 7 years of observation. For the *CETP* gene rs708272, the association with the development of cases of fatal myocardial infarction for 7 years of observation was demonstrated for the genotypes carrying C allele. No statistically significant association with the risk of adverse prognosis of cardiovascular diseases was obtained for the *APOC3* gene rs5128, *LPL* gene rs320, *SCARB1* gene rs5888, and *SREBF2* gene rs2228314 in this pilot study. **Conclusions.** Pilot data on the presence of statistically significant association with the risk of long-term adverse prognosis of cardiovascular diseases in Russia population were obtained for the *APOE* and *CETP* genes.

**Keywords:** model of genetic risk, unfavorable outcomes, myocardial infarction, *APOE*, *CETP*, cardiovascular diseases.

*Статья поступила 17 августа 2018 г.,  
принята в печать 25 сентября 2018 г.*