

Г.В. Плескач, О.М. Настіна, Д.О. Білий, А.А. Чумак

Державна установа «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України», Київ

Асоціація поліморфізму гена фосфодіестерази 4D з ризиком розвитку інфаркту міокарда в учасників ліквідації наслідків аварії на Чорнобильській АЕС

Дослідження поліморфізму rs966221 гена фосфодіестерази 4D (PDE4D) проведено серед чоловіків, учасників ліквідації наслідків аварії (ЛНА) на Чорнобильській АЕС (192 особи), та групи контролю (84 особи). В контролі носійство генотипу TT підвищувало ризик розвитку інфаркту міокарда (ІМ) серед осіб віком старше 60 років, відношення шансів (ВШ) становило 9,2 (95% довірчий інтервал (ДІ) 1,11–15,96; $p=0,016$) при більшій кількості традиційних факторів ризику. Серед учасників ЛНА у носіїв генотипу TT ризик виникнення ІМ був підвищений незалежно від віку його розвитку: ВШ=2,44 (95% ДІ 1,22–4,894; $p=0,010$). Крім того, доза опромінення пацієнтів із перенесеним ІМ у віці до 60 років була більшою порівняно з учасниками ЛНА з перенесеним ІМ у віці старше 60 років (34, $10\pm 10,44$ та $10,42\pm 3,12$ сЗв відповідно; $p=0,039$). Припускається, що наявність генетичної схильності (генотип TT за поліморфізмом rs966221 гена PDE4D) сприяє появі ендотеліальної дисфункції, особливо на тлі дії іонізуючого випромінювання, та підвищує ризик розвитку ІМ.

Ключові слова: учасники ліквідації наслідків аварії на Чорнобильській АЕС, іонізуюче випромінювання, інфаркт міокарда, поліморфізм rs966221 гена фосфодіестерази 4D (PDE4D).

Вступ

У літературі накопичені епідеміологічні дані щодо підвищення ризику розвитку захворювань серцево-судинної системи (ССС), зокрема інфаркту міокарда (ІМ), в осіб, які зазнали впливу іонізуючого випромінювання (ІВ). Встановлено підвищення частоти ІМ серед осіб, які вижили після атомного бомбардування у Хіросімі та Нагасакі, які отримали значні дози опромінення у молодому віці (Wong F.L. et al., 1993; Preston D.L. et al., 1997; Hoel D.G., 2006). Підвищення частоти ІМ та смертності від нього виявлено у когорті працівників підприємства атомної енергетики «Маяк» чоловічої статі з накопиченою дозою опромінення >300 мЗв (Karpov A.B. et al., 2012; Vlasenko E.V. et al., 2012). ІМ також займає одне з перших місць у структурі віддалених наслідків пацієнтів онкологічного профілю при опроміненні середостіння. Так, серед хворих на лімфому Ходжкіна, яким проводили опромінення в дозі 30–35 Гр у молодому віці, ІМ є основною формою ішемічної хвороби серця (ІХС) (Aleman B.M. et al., 2007). Максимальний ризик розвитку ІМ відзначався в перші 5 років після радіотерапії та залишався підвищеним впродовж 20 наступних років спостереження (Hancock S.L. et al., 1993). Згідно з даними когортного дослідження, осіб, які вижили після онкологічних захворювань, що розвинулись у дитячому віці, опромінення ділянки серця в дозі ≥ 15 Гр підвищує ризик розвитку ІМ та деяких інших хвороб ССС у 2–5 разів порівняно з пацієнтами, які не були опромінені (Mulrooney D.A. et al., 2009).

Захворювання ССС належать також до найбільш розповсюджених у структурі непухлинної патології учасників ліквідації наслідків аварії (ЛНА) на Чорнобильській АЕС (ЧАЕС) (Metz-Flamant C. et al., 2009; Yablokov A.V. et al., 2009; Khomazuk I. et al., 2011). Підвищення частоти гострих захворювань ССС (ІМ, інсульти) виявлено серед учасників ЛНА, які перебувають на обліку у державних реєстрах України та Російської Федерації (РФ) (Ivanov V.K., 2007; Войчунене Ю.С., 2012). Згідно з даними обстеження 1450 учасників ЛНА, проведеного у РФ, встановлено, що причиною смерті у 60% були захворювання ССС, з переважанням ІМ серед учасників ЛНА 1986 р. (Зубовский Г.А., Тарарухина О.Б., 1999).

Відомо, що внесок генетичної складової у ризик розвитку ІМ досягає 40% (Poledne R. et al., 2010). При дослідженні схильності до розвитку ІМ значна увага приділяється генним поліморфізмам (поліморфізм заміни одного нуклеотиду; single nucleotide polymorphism — SNP), які опосередковують індивідуальну відповідь організму на фактори довкілля. Інтерес для дослідження має поліморфізм SNP83 гена фосфодіестерази 4D (PDE4D), яка бере участь у внутрішньоклітинній передачі сигналу, визначає життєдіяльність кардіоцитів в умовах ішемії та безпосередньо впливає на розвиток ІМ (Gregg C.J. et al., 2010). Крім того, PDE4D — важливий фермент ендотеліоцитів та гладком'язових клітин судин (Rampersad S.N. et al., 2010), дисфункція яких є одним із механізмів патологічного впливу ІВ на ССС (Supiot S., Paris F., 2012). Встановлена кореляція на-

явності поліморфізмів PDE4D із розвитком ішемічного інсульту (Gretarsdottir S. et al., 2003; Kalita J. et al., 2011; Milton A.G. et al., 2011), однак кількість досліджень, у яких проводилося вивчення асоціативних зв'язків із ризиком розвитку ІМ, незначна (Lynch A.I. et al., 2012; Sinha E. et al., 2013). Крім того, не досліджувалися фенотипові прояви поліморфізмів PDE4D в умовах впливу ІВ.

Зважаючи на це, мета нашого дослідження полягала у визначенні ролі одного з функціонально значущих поліморфізмів (SNP83) гена PDE4D як генетичного фактора ризику розвитку ІМ у постраждалих внаслідок аварії на ЧАЕС.

Об'єкт і методи дослідження

В основну групу дослідження увійшли 192 особи чоловічої статі, учасники ЛНА на ЧАЕС (171 особа — учасники ЛНА 1986 р.; 9 осіб — 1987 р., 10 осіб — 1988 р. і 2 особи — 1989 р.). Доза опромінення була відома у 126 осіб і становила в середньому $23,65\pm 2,67$ сЗв (медіана — 14,01 сЗв). Максимальну дозу опромінення отримали учасники ЛНА 1986 р. (табл. 1). У період після аварії на ЧАЕС 52 пацієнти перенесли ІМ: 28 (53,8%) — у віці до 60 років, 24 пацієнти (46,2%) — у більш старшому віці.

Групу контролю становили 84 чоловіки, мешканці міста Києва, які не мали в анамнезі прямого впливу ІВ. У 1993–2012 рр. 56 обстежених осіб групи контролю перенесли ІМ: 11 (19,6%) хворих у віці до 60 років, 42 (75%) — у більш старшому віці,

у 3 (5,4%) осіб давність перенесеного ІМ встановити не вдалося.

За часом розвитку ІМ відносно аварії на ЧАЕС основна і контрольна групи були зіставні, за винятком збільшення частки пацієнтів основної групи, в яких ІМ розвинувся в перші 20 років після аварії (табл. 2). Ці дані зіставні із результатами, отриманими нами при аналізі випадків ІМ серед учасників ЛНА, зареєстрованих у клініко-епідеміологічному реєстрі Національного наукового центру радіаційної медицини: серед 482 чоловіків із перенесеним ІМ у 217 (45%) хворих він розвинувся в перші 10 років після аварії.

У всіх пацієнтів обох груп були зібрані антропометричні дані (зріст, маса тіла), дані анамнезу (тютюнопаління в теперішньому часі та в минулому, наявність захворювань ССС у найближчих родичів), проведений загальноклінічний огляд, електрокардіографія, загальний та біохімічний аналіз крові. Перевищення індексу маси тіла >30 кг/м² розцінювали як ожиріння. Граничним рівнем холестерину вважали 5,2 ммоль/л, показники 5,2–6,5 ммоль/л вважали за незначну, 6,5–7,8 ммоль/л — помірну та >7,8 ммоль/л — значну гіперхолестеринемію.

Для проведення молекулярно-генетичних досліджень зразки периферичної крові збирали у пробірки з антикоагулянтом. ДНК отримували за допомогою наборів QIAamp Blood Mini Kit (Qiagen, Велика Британія) згідно з інструкцією виробника. Полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) щодо виявлення SNP83 (rs966221) гена *PDE4D* (Т>С) проводили за D. Saheep та співавторами (2003) на термоциклері 2720 Thermal cycler («Applied Biosystems», США). Продукти реакції візуалізували у 5% агарозному гелі з пропідієм йодидом, після чого проводили рестрикцію рестриктазою Tail («Fermentas», Латвія; сайт рестрикції ACGT) за температури 65 °С протягом 30 хв. Поліморфні варіанти гена визначали шляхом повторного електрофорезу: за наявності алелі Т рестрикція продукту реакції не відбувалася (продукт 492 пари основ (п.о.)), за наявності поліморфної алелі С — виявляли 2 фрагменти (204 п.о. та 288 п.о.) (рис. 1).

Результати та їх обговорення

Серед пацієнтів із перенесеним ІМ обох груп частота генотипу ТТ при дослідженні поліморфізму SNP83 гена *PDE4D* була підвищена (табл. 3). Відзначали різницю у частоті генотипу ТТ серед осіб основної та контрольної груп без перене-

Таблиця 1

Дози опромінення, отримані обстеженими особами основної групи, залежно від року участі в ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС

Рік участі	Учасники ЛНА на ЧАЕС		
	п	M±m	Медіана
1986	111	25,17±2,96	17,3
1987	6	16,01±8,3	8,6
1988	7	11,52±3,88	4,99
1989	2	4,99	4,99

Таблиця 2

Розподіл пацієнтів із перенесеним ІМ за роками відносно аварії на ЧАЕС

Період розвитку ІМ після аварії, років	Група			
	основна		контрольна	
	п	%	п	%
≤10	13	25,0	7	13,2
11–20	20	38,5	28	52,8
>20	19	36,5	18	34,0
Вірогідність розбіжностей	0,031			

Таблиця 3

Розподіл генотипів rs966221 гена *PDE4D* залежно від перенесеного ІМ

Обстежені особи	Генотипи гена <i>PDE4D</i> , кількість обстежених (%)			р
	ТТ	ТС	СС	
Основна група				
ІМ перенесений (n=52)	15 (28,8)	19 (36,5)	18 (34,6)	0,110; 0,040*
ІМ відсутній (n=140)	22 (15,7)	66 (47,1)	52 (37,1)	
Контрольна група				
ІМ перенесений (n=56)	13 (23,2)	21 (37,5)	22 (39,3)	0,072; 0,023
ІМ відсутній (n=28)	1 (3,6)	14 (50,0)	13 (46,4)	

У табл. 3 і 4: *вірогідність при порівнянні генотипу ТТ проти ТС- та СС-генотипів.

Таблиця 4

Розподіл генотипів rs966221 гена *PDE4D* залежно від віку розвитку ІМ

Обстежені особи	Генотипи гена <i>PDE4D</i> , кількість обстежених (%)			р
	ТТ	ТС	СС	
ІМ розвинувся у віці до 60 років				
Основна група (n=28)	10 (35,7)	8 (28,6)	10 (35,7)	0,088; 0,030*
Контрольна група (n=11)	0	6 (54,5)	5 (45,5)	
ІМ розвинувся у віці старше 60 років				
Основна група (n=24)	5 (20,8)	11 (45,8)	8 (33,3)	0,821; 0,810*
Контрольна група (n=42)	12 (28,6)	14 (33,3)	16 (38,1)	

сеного ІМ. Це зумовлено тим, що до контрольної групи, крім хворих на ІМ, залучені практично здорові особи без наявності серцево-судинної патології.

Враховуючи значне поширення ІХС серед учасників ЛНА, в основній групі лише у 67 обстежених не було ознак ІХС. Розподіл генотипів у них був таким: ТТ генотип — 5 осіб, ТС — 30 та СС — 32 особи. В основній групі у 73 пацієнтів діагностовано ІХС, нозологічну форму стабільної стенокардії (розподіл генотипів: ТТ — 17, ТС — 36 і СС — 20 осіб). Підвищення частоти генотипу ТТ в основній групі серед хворих із перенесеним ІМ спостерігалось тільки порівняно з особами без ІХС ($\chi^2=9,57$; $p=0,002$), тоді як порівняно із пацієнтами з діагностованою ІХС відмінності були невірогідними ($\chi^2=0,492$; $p=0,527$).

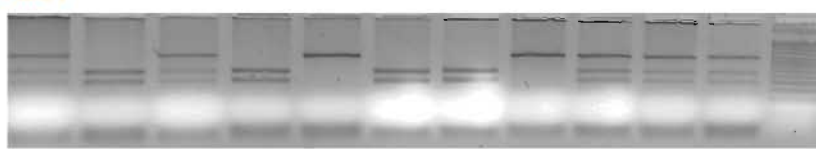
У контрольній групі випадки ІМ, що розвинулись у віці до 60 років, спостерігались лише у носіїв алелі С (табл. 4). Підвищення частоти генотипу ТТ серед чоловіків з ІМ віком старше 60 років виявилось до-

стовірним порівняно з особами відповідного віку без ІМ ($p=0,043$ при порівнянні розподілу генотипів; $p=0,016$ при порівнянні генотипу ТТ проти ТС- і СС-генотипів). Ризик розвитку ІМ у чоловіків віком старше 60 років за умов носійства генотипу ТТ збільшувався: відношення шансів (ВШ) становило 9,2 (95% довірчий інтервал (ДІ) 1,11–15,966; $p=0,016$). Впливу генотипів на ризик розвитку ІМ у осіб віком до 60 років не виявлено ($p=0,164$).

Водночас в основній групі переважання генотипу ТТ серед осіб з ІМ спостерігалось незалежно від віку пацієнтів на момент розвитку захворювання: ВШ=2,44 (95% ДІ 1,22–4,894; $p=0,010$). Відмінності в частоті генотипу ТТ у чоловіків основної групи та групи контролю з ІМ, що розвинувся у віці до 60 років, були достовірними, тоді як за частотою генотипів пацієнти з ІМ, який розвинувся у більш старшому віці, в обох групах не розрізнялися (див. табл. 4). Ризик розвитку ІМ у віці до 60 років серед чоловіків основної групи за умов носійства генотипу ТТ, на відміну від контролю, був також підвищеним: ВШ=5,73 (95% ДІ 1,79–13,33; $p=0,002$). Слід зазначити, що вік на момент аварії на ЧАЕС серед осіб, в яких розвинувся ІМ у віці до 60 років, був меншим ($36,67\pm 1,61$ року), ніж у тих пацієнтів, в яких ІМ розвинувся у віці старше 60 років ($44,25\pm 1,17$ року; $p=0,001$). Спостерігалась також пряма кореляційна залежність між віком на момент аварії та віком, у якому розвинувся ІМ ($r=0,673$; $p=0,001$).

У контрольній групі вік пацієнтів, носіїв генотипу ТТ, на момент розвитку ІМ був

Рис. 1



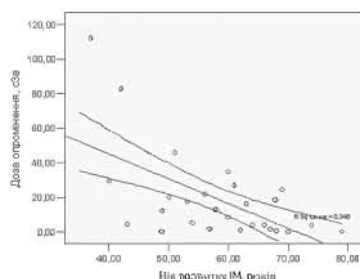
Результати визначення поліморфізму rs966221 гена *PDE4D* методом ПЛР з подальшою рестрикцією отриманих продуктів рестриктазою Tail

СТ, СС, ТТ — генотипи за поліморфізмом SNP83 гена *PDE4D*; М — маркери молекулярної маси.

більшим (середній вік — 71,55±1,35 року), ніж у носіїв інших генотипів (65,88±1,17 року; $p=0,025$). Навпаки, в основній групі у чоловіків, носіїв генотипу ТТ, ІМ розвивався у значно молодшому віці порівняно з носіями інших генотипів: 69 років проти 79 років ($p=0,03$). Зменшення віку розвитку ІМ спостерігалось у осіб віком до 60 років: медіана розвитку ІМ у чоловіків основної групи становила 56 років за умов генотипу ТТ і 59 років — у носіїв інших генотипів ($p=0,009$). Середня доза опромінення в пацієнтів основної групи з ІМ, перенесеним до 60 років, була більшою порівняно з учасниками ЛНА з перенесеним ІМ у віці старше 60 років: 34,10±10,44 та 10,42±3,12 сЗв відповідно ($p=0,039$).

Крім того, в основній групі виявлені деякі особливості у пацієнтів з ІМ, перенесеним у перші 10 років після аварії на ЧАЕС. Так, пацієнти, в яких ІМ розвинувся в перші 10 років після аварії, порівняно з особами, в яких ІМ виник пізніше, отримали більшу дозу зовнішнього опромінення (43,32±15,27 сЗв проти 12,28±2,9 сЗв, $p=0,01$) та були значно молодшими (середній вік становив 49,06±2,25 року проти 59,31±1,29 року; $p=0,001$). Лише у одного з пацієнтів віком старше 60 років ІМ розвинувся в перші 10 років після аварії. Спостерігалась зворотня кореляційна залежність між дозою опромінення та віком, у якому розвинувся ІМ: $r=-0,588$; $p=0,001$ (рис. 2).

Рис. 2



Залежність між дозою зовнішнього опромінення та віком пацієнтів основної групи на момент розвитку ІМ

За частотою нерадіаційних факторів ризику ІХС пацієнти основної та контрольної груп із перенесеним ІМ не розрізнялися (табл. 5). Не розрізнялися також за сумою факторів ризику пацієнти основної та контрольної групи, які перенесли ІМ у віці до 60 років (2,69±0,24 та 2,54±0,38; $p=0,759$) та у віці старше 60 років (2,76±0,22 та 2,40±0,21; $p=0,259$).

Водночас у пацієнтів із перенесеним ІМ контрольної (але не основної групи)

кількість виявлених факторів ризику розвитку ІХС була більшою у носіїв генотипу ТТ порівняно з носіями інших генотипів (3,1±0,29 проти 2,36±0,12; $p=0,033$). Таким чином, у контрольній групі виявлено вплив носійства генотипу ТТ гена *PDE4D* на ризик та особливості розвитку ІМ: вік старше 60 років, більша сукупна кількість факторів ризику розвитку ІХС порівняно з носіями інших генотипів. Ці дані свідчать, що негативний вплив генотипу ТТ реалізується на тлі наявності ознак атеросклерозу: більш похилий вік, наявність дисліпідемії, артеріальної гіпертензії, тоді як при меншій вираженості ознак атеросклеротичних змін генотип ТТ має, швидше, протекторний характер.

Для пояснення отриманих результатів слід звернутися до функції фосфодіестераз та впливу поліморфізмів на активність ферментів. Поліморфізм SNP83 гена *PDE4D* локалізований у першому інтроні промотора гена і належить до групи поліморфізмів (SNP41-SNP89), у присутності яких знижується експресія довгої ізоформи фермента фосфодіестерази — *PDE4D7* (Gretarsdottir S. et al., 2003). Ці дані дають підставу вважати, що у носіїв генотипу СС (гомозиготи за поліморфною алеллю SNP83) активність *PDE4D7* знижена і, навпаки, у носіїв генотипу ТТ (гомозиготи за домінуютьою алеллю SNP83) активність ферменту підвищена. Ізоформа *PDE4D7* має у своєму складі домени UCR1 і UCR2, за допомогою яких вона взаємодіє з різними білками та контролює концентрацію вторинного месенджера сАМР (cyclic adenosine monophosphate; циклічний аденозинмонофосфат) в окремих ділянках клітини (Rababa'h A. et al., 2013). Саме цим зумовлений вплив активності фосфодіестерази на перебіг багатьох внутрішньоклітинних процесів, який може мати протилежний характер, залежно від складу білків-адапторів, які взаємодіють із ферментом та модулюють його активність.

Відомо, що ключовими подіями атеросклеротичного процесу є ендотеліальна дисфункція, запалення та проліферація гладком'язових клітин судин (VSMC — vascular smooth muscle cell) (Dessl M. et al., 2013; Willgruber M. et al., 2013). Накопичення VSMC в інтимі судин — один з основних етапів розвитку атеросклерозу. Проліферація цих клітин зумовлена будь-яким пошкодженням судинної стінки та дією таких стимуляторів росту, як фактор росту тромбоцитів (PDGF — platelet-derived growth factor), трансформуючий фактор росту бета, фактор росту ендотелію, інсулінопод-

дібний фактор росту-1. Встановлено, що дія факторів росту опосередковується активацією внутрішньоклітинних кіназ — ЕКК, Р13к, Akt. При зниженій активності фосфодіестераз, насамперед ізоформ *PDE4D*, у клітинах локально, поблизу активованої кінази ЕКК, накопичується сАМР, який пригнічує кіназу і, відповідно, проліферацію VSMC (Yoo A.R. et al., 2010). Так, у мишей-нокаутів за *PDE4D* на 26–37% знижена проліферація VSMC за дії PDGF (Liu L. et al., 2011). Пригнічення сигналу росту PDGF має антисклеротичну властивість (Boucher Ph. et al., 2003). Навпаки, при підвищеній активності *PDE4D* (у контексті нашого дослідження — генотип ТТ) концентрація сАМР знижена, що сприяє передачі внутрішньоклітинного сигналу активації під впливом PDGF та проліферації гладком'язових клітин стінки судин.

Інший механізм, який зв'язує активність фосфодіестераз із розвитком атеросклеротичного процесу, — це взаємодія довгих ізоформ ферментів через домен UCR1 з білком EPAC ендотелію судин (Rampersad S.N. et al., 2010). EPAC активується сАМР і пригнічує запальний процес в ендотелії та захищає клітини від апоптозу через кілька механізмів (Parnell E. et al., 2012):

- пригнічує дію транскрипційного фактора С/ЕВР (фактор транскрипції, що зв'язується із СААТ послідовністю в генному промоторі) та знижує експресію генів запального процесу, індукованого інтерлейкінами;
- у комплексі з сАМР знижує проникність судин через активацію інтегринів, які забезпечують адгезію ендотелію до базальної мембрани; підсилює взаємодію ендотеліальних клітин між собою через активацію кадгерин-опосередкованої гомологічної адгезії.

Відповідно, якщо до комплексу EPAC-сАМР приєднується фосфодіестераза, кількість сАМР локально зменшується і зазначені ефекти зникають. Тому застосування інгібіторів *PDE4D*, яке підвищує локальний рівень сАМР, значно зменшує проникність судин, розвиток апоптотичних змін, які індукуються дією факторів росту ендотелію судин (Rampersad S.N. et al., 2010). Навпаки, при підвищеній активності *PDE4D* (в контексті нашого дослідження — генотип ТТ) концентрація сАМР знижена, що призводить до недостатньої активації EPAC і може порушувати функцію ендотелію.

Таким чином, можна припустити, що носійство генотипу ТТ, за яким активність фермента підвищена, є фактором ризику розвитку ІМ у осіб віком старше 60 років внаслідок впливу на проліферацію гладком'язових клітин стінки судин і підвищення проникності судин — ключових початкових етапів розвитку атеросклерозу.

Водночас *PDE4D* відіграє значну роль у функціонуванні безпосередньо кардіоміоцитів, причому захисну роль щодо розвитку ІМ має, навпаки, підвищена активність ферментів. У кардіоміоцитах фосфодіестерази беруть участь у передачі внутрішньоклітинних сигналів при активації β_2 -адренергічних рецепторів, до яких вони

Таблиця 5

Частота факторів ризику розвитку ІХС серед чоловіків із перенесеним ІМ основної та контрольної груп

Фактор ризику	Група				Вірогідність
	основна		контрольна		
	п	%	п	%	
Артеріальна гіпертензія	39	75,0	37	66,1	0,171
Ознаки дисліпідемії	31	59,6	31	55,4	0,892
Цукровий діабет 2-го типу	15	28,8	10	17,9	0,277
Тютюнопаління	22	42,3	23	41,1	0,764
Ожиріння	16	30,8	10	17,9	0,077
Наявність серцево-судинних захворювань у родичів	16	30,8	24	42,8	0,286

приєднуються у комплексі з білком β -арестином, знижують концентрацію cAMP і запобігають надмірній активації клітин (Rampersad S.N. et al., 2010; Salazar N.C. et al., 2013). Відповідно, при пониженій активності PDE4D (генотип CC) зниження концентрації cAMP відбувається більш повільно, що може призводити до гіперактивації кардіоцитів в умовах гіпоксії — тобто підвищувати ризик розвитку ІМ у осіб відносно молодого віку при меншій вираженості ознак атеросклерозу.

На відміну від групи контролю, в основній групі негативний вплив генотипу TT проявлявся не лише серед осіб віком старше 60 років, але і серед осіб молодшого віку за більш значної дози зовнішнього опромінення.

Як вже зазначалося, в основі патологічного впливу ІВ на ССС лежить ендотеліальна дисфункція — порушення мембран ендотеліоцитів, підвищення їх проникності, некроз клітин із можливим утворенням тромбів. У більш віддалений період розвивається ішемія міокарда та інтерстиціальний фіброз (Milliat F. et al., 2008). В експериментах з опромінення генетично модифікованих мишей із дефіцитом аполіпопротеїну Е показано, що ІВ сприяє поглибленню розвитку атеросклеротичних змін (Hildebrandt G., 2010; Mitchel R.E. et al., 2011; Kumarathasan P. et al., 2013). Вплив ІВ на судини реалізується через індукцію запальних змін і дію трансформуючого фактора росту-бета (Mopseau V. et al., 2013). Підсумовуючи сучасні дані експериментальних і епідеміологічних досліджень, A. Borghini та співавтори (2013) зазначають, що дія великих доз ІВ в експериментальних моделях пришвидшує розвиток атеросклерозу, формування запальних змін, бляшкоутворення, особливо за умов генетичної схильності. Дані щодо впливу малих доз ІВ неоднозначні й потребують більш ретельного дослідження. Враховуючи ці результати, ми можемо припустити, що у чоловіків, які отримали відносно велику дозу зовнішнього опромінення ($43,32 \pm 15,27$ сЗв), її дія реалізується значною мірою через розвиток атеросклеротичних змін у судинах. Тому наявність генетичної схильності (генотип TT за поліморфізмом rs966221 гена *PDE4D*), яка сприяє появі ендотеліальної дисфункції, має негативний прояв у більш молодому віці в групі учасників ЛНА, ніж серед неопромінених осіб, і є незалежним фактором ризику розвитку ІМ.

Висновки

1. У чоловіків, які не зазнали впливу ІВ, встановлено значення генотипу TT як фактора ризику розвитку ІМ у віці старше 60 років: ВШ=9,2 (95% ДІ 1,11–15,96; $p=0,016$). Водночас розвиток ІМ у віці до 60 років спостерігали тільки у носіїв генотипів CC та CT.

2. Загальними особливостями розвитку ІМ у носіїв генотипу TT, які не зазнали впливу ІВ, були: розвиток ІМ у більш пізньому віці (середній вік — $71,55 \pm 1,35$ року), ніж у носіїв інших генотипів ($65,88 \pm 1,17$ року; $p=0,025$), при відносно більшій сукупній кількості факторів розвитку ІХС ($3,1 \pm 0,29$ проти $2,36 \pm 0,12$ відповідно; $p=0,033$).

3. Серед чоловіків, які зазнали впливу ІВ, виявлено незалежний вплив носійства генотипу TT гена *PDE4D* на ризик розвитку ІМ: ВШ=2,44 (95% ДІ 1,22–4,894; $p=0,010$). ІМ у опромінених чоловіків, носіїв генотипу TT, розвивався в значно молодшому віці порівняно з носіями інших генотипів: медіана 69 років проти 79 років ($p=0,03$). На відміну від групи порівняння, негативний вплив генотипу TT проявлявся не лише серед осіб віком старше 60 років, але й серед пацієнтів молодшого віку ($p=0,002$).

4. Головними особливостями розвитку ІМ у віці до 60 років серед чоловіків основної групи були: більша доза зовнішнього опромінення порівняно з учасниками ЛНА з перенесеним ІМ у віці старше 60 років ($34,10 \pm 10,44$ та $10,42 \pm 3,12$ сЗв відповідно; $p=0,039$) та підвищення ризику розвитку ІМ при генотипі TT (ВШ=5,73; 95% ДІ 1,79–13,33; $p=0,002$).

Список використаної літератури

- Войчулене Ю.С.** (2012) Ризики розвитку гострих форм цереброваскулярних хвороб в учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС. Результати аналітичного епідеміологічного дослідження. Зб. наук. праць «Проблеми радіаційної медицини та радіобіології», Вип. 17, с. 36–45.
- Зубовский Г.А., Тарарухина О.Б.** (1999) Профилактика атеросклероза и инфаркта миокарда у участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС. Радиационная биология. Радиозкология, т. 39, (2–3): 296–298.
- Aleman B.M., van den Belt-Dusebout A.W., De Bruin M.L.** (2007) Late cardiotoxicity after treatment for Hodgkin lymphoma. Blood, 109(5): 1878–1886.
- Borghini A., Gianicolo E.A., Picano E., Andreassi M.G.** (2013) Ionizing radiation and atherosclerosis: current knowledge and future challenges. Atherosclerosis, 230(1): 40–47.
- Boucher Ph., Gotthardt M., Li W.-P.** (2003) LRP: role in vascular wall integrity and protection from atherosclerosis. Science, 200(5617): 329–332.
- Dessi M., Noce A., Bertucci P. et al.** (2013) Atherosclerosis, dyslipidemia, and inflammation: the significant role of polyunsaturated fatty acids. ISRN Inflamm., 12: 191823.
- Gregg C.J., Steppan J., Gonzalez D.R.** (2010) β 2-adrenergic receptor-coupled phosphoinositide 3-kinase constrains cAMP-dependent increases in cardiac inotropy through phosphodiesterase 4. Anesth. Analg., 111(4): 870–877.
- Gretdarsdottir S., Thorleifsson G., Reynisdottir S.T.** (2003) The gene encoding phosphodiesterase 4D confers risk of ischemic stroke. Nat. Genet., 35(2): 131–138.
- Hancock S.L., Tucker M.A., Hoppe R.T.** (1993) Factors affecting late mortality from heart disease after treatment of Hodgkin's disease. JAMA., 270(16): 1949–1955.
- Hildebrandt G.** (2010) Non-cancer diseases and non-targeted effects. Mutat. Res., 687(1–2): 73–77.
- Hoel D.G.** (2006) Ionizing radiation and cardiovascular disease. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1076: 309–317.
- Ivanov V.K.** (2007) Late cancer and noncancer risks among Chernobyl emergency workers of Russia. Health Phys., 93(5): 470–479.
- Kalita J., Somarajan B.I., Kumar B.** (2011) Phosphodiesterase 4D gene polymorphism in relation to intracranial and extracranial atherosclerosis in ischemic stroke. Dis. Markers, 31(4): 191–197.
- Karpova A.B., Semenova Y.V., Takhauov R.M. et al.** (2012) The risk of acute myocardial infarction and arterial hypertension in a cohort of male employees of a Siberian Group of Chemical Enterprises exposed to long-term irradiation. Health Phys., 103: 15–23.

Khomazuk I., Nastina O., Kovalev O. et al. (2011) Cardiovascular diseases in Chernobyl accident clean-up workers 25 years upon. In: A. Serdiuk, V. Bebesko, D. Bazyka, S. Yamashita (Eds) Health effects of the Chernobyl accident — a quarter of century aftermath. DIA, Kyiv, p. 371–391.

Kumarathasan P., Vincent R., Blais E. et al. (2013) Cardiovascular changes in atherosclerotic ApoE-deficient mice exposed to Co60 (γ) radiation. PLoS One, 8(6): e65486.

Liu L., Xu X., Li J. et al. (2011) Lentiviral-mediated shRNA silencing of *PDE4D* gene inhibits platelet-derived growth factor-induced proliferation and migration of rat aortic smooth muscle cells. Stroke Res. Treat., 2011: 5342257.

Lynch A.I., Eckfeldt J.H., Davis B.R. (2012) Gene panels to help identify subgroups at high and low risk of coronary heart disease among those randomized to antihypertensive treatment: the GENHAT study. Pharmacogenet. Genomics, 22(5): 355–366.

Metz-Flamant C., Bonaventure A., Milliat F. et al. (2009) Low doses of ionizing radiation and risk of cardiovascular disease: A review of epidemiological studies. Rev. Epidemiol. Sante Publique, 57(5): 347–359.

Milliat F., Francois A., Tamarat R., Banderitter M. (2008) Role of endothelium in radiation-induced normal tissue damages. Ann. Cardiol. Angeiol., 57(3): 139–148.

Milton A.G., Aykanat V.M., Hamilton-Bruce M.A. (2011) Association of the phosphodiesterase 4D (*PDE4D*) gene and cardioembolic stroke in an Australian cohort. Int. J. Stroke, 6(6): 480–486.

Mitchel R.E., Hasu M., Bugden M. et al. (2011) Low-dose radiation exposure and atherosclerosis in ApoE $^{-/-}$ mice. Radiat. Res., 175: 665–676.

Monseau V., Meziani L., Strup-Perrot C. et al. (2013) Enhanced sensitivity to low-dose irradiation of ApoE $^{-/-}$ mice mediated by early pro-inflammatory profile and delayed activation of the TGF β 1 cascade involved in fibrogenesis. PLoS One, 8: 1–8.

Mulrooney D.A., Yeazel M.W., Kawashima T. et al. (2009) Cardiac outcomes in a cohort of adult survivors of childhood and adolescent cancer: retrospective analysis of the Childhood Cancer Survivor Study cohort. BMJ, 339: b4606.

Parnell E., Smith B.O., Palmer T.M. et al. (2012) Regulation of the inflammatory response of vascular endothelial cells by EPAC1. Br. J. Pharmacol., 166(2): 434–446.

Poledne R., Hubáček J.A., Staněk V. et al. (2010) Why we are not able to find the coronary heart disease gene — apoE as an example. Folia Biol. (Praha), 56(5): 218–222.

Preston D.L., Shimizu Y., Pierce D.A. et al. (1997) Studies of mortality of atomic bomb survivors. Report 13: Solid cancer and noncancer disease mortality: 1950–1997. Radiat. Res., 160: 381–407.

Rababa'h A., Craft J.W.Jr., Wijaya C.S. et al. (2013) Protein kinase A and phosphodiesterase-4D3 binding to coding polymorphisms of cardiac muscle anchoring protein (mAKAP). J. Mol. Biol., 425(18): 3277–3288.

Rampersad S.N., Ovens J.D., Huston E. et al. (2010) Cyclic AMP phosphodiesterase 4D (*PDE4D*) tethers EPAC1 in a vascular endothelial cadherin (VE-Cad)-based signaling complex and controls cAMP-mediated vascular permeability. J. Biol. Chem., 285(44): 33614–33622.

Salazar N.C., Vallejos X., Siryk A. et al. (2013) GRK2 blockade with β ARKct is essential for cardiac β 2-adrenergic receptor signaling towards increased contractility. Cell Commun. Signal., 11: 64.

Saleheen D., Bukhari S., Haider S.R. (2005) Association of phosphodiesterase 4D gene with ischemic stroke in a Pakistan population. Stroke, 36: 2270–2277.

Sinha E., Meitei S.Y., Garg P.R., Sarawathy K.N. (2013) *PDE4D* gene polymorphisms and coronary heart disease: a case-control study in a north Indian population. J. Clin. Lab. Anal., 27(4): 297–300.

Supiot S., Paris F. (2012) Radiobiology dedicated to endothelium. *Cancer Radiother.*, 16(1): 11–15.

Vlasenko E.V., Azizova T.V., Moseeva M.B. et al. (2012) Incidence and mortality from acute myocardial infarction in the cohort of Mayak workers. *Med. Tr. Prom. Ekol.*, 8: 28–33.

Wildgruber M., Swirski F.K., Zernecke A. (2013) Molecular imaging of inflammation in atherosclerosis. *Theranostics*, 3(11): 865–884.

Wong F.L., Yamada M., Sasaki H. et al. (1993) Noncancer disease incidence in the atomic bomb survivors: 1958–1986. *Radiat. Res.*, 135: 418–430.

Yablokov A.V., Nesterenko V.B., Nesterenko A.V. (2009) Consequences of the Chernobyl catastrophe for public health and the environment 23 years later. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1181: 318–326.

Yoo A.R., Koh S.H., Cho G.W., Kim S.H. (2010) Inhibitory effects of cilostazol on proliferation of vascular smooth muscle cells (VSMCs) through suppression of the ERK1/2 pathway. *J. Atheroscler. Thromb.*, 17(10): 1009–1018.

Асоціація поліморфізму гена фосфодіестерази 4D з ризиком розвитку інфаркта міокарда у учасників ліквідації наслідків аварії на Чорнобильській АЕС

Г.В. Плєскач, Е.М. Настіна, Д.А. Бєлий, А.А. Чумак

Резюме. *Исследование полиморфизма rs966221 гена фосфодіестерази 4D (PDE4D) проведено у мужчин, учасників ліквідації наслідків аварії (ЛПА) на Чорнобильській АЕС (192 человека), и группы контроля (84 человека). В контроле носительство ге-*

нотипа ТТ повышало риск развития инфаркта миокарда (ИМ) у лиц в возрасте старше 60 лет, отношение шансов (ОШ) составляло 9,2 (95% доверительный интервал (ДИ) 1,11–15,96; p=0,016) при большем числе традиционных факторов риска. Среди участников ЛПА у носителей генотипа ТТ риск возникновения ИМ был повышен вне зависимости от возраста его развития: ОШ=2,44 (95% ДИ 1,22–4,894; p=0,010). Кроме того, доза облучения пациентов с перенесенным ИМ в возрасте до 60 лет была больше по сравнению с участниками ЛПА с перенесенным ИМ в возрасте старше 60 лет (34,10±10,44 и 10,42±3,12 сЗв соответственно; p=0,039). Высказано предположение, что наличие генетической предрасположенности (генотип ТТ полиморфизма rs966221 гена PDE4D) способствует появлению эндотелиальной дисфункции, особенно на фоне действия ионизирующего излучения, и повышает риск развития ИМ.

Ключевые слова: *участники ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС, ионизирующее излучение, инфаркт миокарда, полиморфизм rs966221 гена фосфодіестерази 4D (PDE4D).*

Association of phosphodiesterase 4D polymorphism with risk of myocardial infarction development in clean-up workers of Chernobyl NPP accident

G.V. Pleskach, O.M. Nastina, D.A. Belyi, A.A. Chumak

Summary. *The investigation of rs966221 phosphodiesterase 4D gene (PDE4D) polymorphism was conducted in clean-up workers of Chernobyl NPP accident (192 men) and in the control group (84 men). In the control group carriers of TT genotype had increased risk of myocardial infarction (MI) development in age >60 years (Odds Ratio (OR)=9.2, 95% confidence interval (CI) 1.11–15.96; p=0.016) and increased number of traditional risk factors. Clean-up workers, carriers of TT genotype, had increased MI risk (OR=2.44, 95% CI 1.22–4.894; p=0.01) regardless of age of IM development. Beside this, dose of irradiation in clean-up workers who developed MI in age below 60 years was higher compared with clean-up workers who developed MI in age more than 60 years (34.10±10.44 and 10.42±3.12 cSv correspondingly; p=0.039). It may be suggested that genetic predisposition (TT genotype of rs966221 PDE4D gene polymorphism) led to development of endothelial dysfunction, especially under influence of ionizing radiation, and increased MI risk.*

Key words: *clean-up workers of Chernobyl NPP accident, ionizing radiation, myocardial infarction, rs966221 phosphodiesterase 4D gene (PDE4D) polymorphism.*

Адреса для листування:

Чумак Анатолій Андрійович
04050, Київ, вул. Мельникова, 53
ДУ «Національний науковий центр
радіаційної медицини НАМН України»
E-mail: ananch@ukr.net

Одержано 15.05.2014

Реферативна інформація

Какова эффективность нехирургических интервенций для похудения?

Ожирение — модифицируемый фактор риска, при этом уменьшение массы тела достоверно снижает смертность и заболеваемость. Как отмечает исследовательская группа во главе со Стефаном Домбровски (Stephan Dombrowski) из Университета Ньюкасла (Newcastle University), Великобритания, длительное уменьшение массы тела достижимо, о чем свидетельствуют результаты систематических обзоров, однако какой метод более эффективен для достижения этой цели — остается до конца не выясненным.

Ученые провели анализ данных 45 релевантных рандомизированных контролируемых исследований с общим участием 7788 индивидов с избыточной массой тела и ожирением. Отбранная информация позволила оценить уменьшение массы тела в отдаленной перспективе лишь для поведенческих интервенций/модификации образа жизни и фармакологических интервенций.

Поведенческие интервенции в большинстве случаев основывались на поведенческой терапии, часто к ней добавляли аэробные физические нагрузки, программы по социальной поддержке и тренировку отдельных навыков. В целом изменения массы тела на 12-м месяце в исследованиях, посвященных этому направлению, были достоверны и составили –1,56 кг (95% доверительный интервал (ДИ) –2,27...–0,86 кг) в сравнении с контролем. После исключения исследований с малой выборкой этот показатель составил –1,37 кг (95% ДИ –2,02...–0,73).

Изменения в массе тела на 18-м и 24-м месяце после начала терапии оставались достоверными и составили –1,96 и –1,48 кг соответственно. Однако к 30-му месяцу эти различия в сравнении с контролем были уже недостоверными.

В исследованиях, посвященных фармакологическим интервенциям, применялся орлистат в комбинации с модификацией образа жизни. Среднее изменение в массе тела в сравнении с контролем (модификация образа жизни + плацебо) составило –1,80 кг (95% ДИ –2,54...–1,06) после первых 12 мес. Длительное наблюдение пациентов (18 и 36 мес) показало сохранение достигнутых изменений.

Резюмируя результаты анализа, ученые отметили, что интервенции по изменению образа жизни, включая диету и физические упражнения, достигаемые путем применения поведенческой терапии, эффективны для похудения при избыточной массе тела и ожирении и для длительного поддержания этих изменений. То же касается применения орлистата. Однако только лишь диета или прием пищевых добавок подобную эффективность не продемонстрировали. Ученые объяснили это тем, что постоянно поддерживать отрицательный энергетический дефицит не представляется возможным.

Dombrowski S.U., Knittle K., Avenell A. et al. (2014) Long term maintenance of weight loss with non-surgical interventions in obese adults: systematic review and meta-analyses of randomized controlled trials. *BMJ*, 348: g2646.

Віталій Безшейко