

Огляди

Молекулярно-генетичні аспекти ранньої діагностики та персоналізованого лікування облітеруючого атеросклерозу артерій нижніх кінцівок



**В. Г. Мішалов, В. А. Черняк, Л. В. Натрус,
Б. М. Коваль, В. М. Голінко, С. О. Махиня**

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Київ

Облітеруючий атеросклероз артерій нижніх кінцівок (ОААНК) — це мультифакторне захворювання, тобто є наслідком комплексного впливу генетичних, епігенетичних чинників і чинників довкілля. Доведено роль близько 50 одонуклеотидних генетичних поліморфізмів (SNP) у патогенезі ОААНК. Проведення генетичного скринінгу та визначення схильності до розвитку ОААНК дасть змогу здійснити своєчасну профілактику захворювання шляхом модифікації способу життя та дієти. Оскільки сама наявність генетичної мутації не завжди призводить до синтезу дефектного білка, лікування захворювання можна починати ще до появи клінічних симптомів, але лише після виявлення найбільш ранніх патологічних біохімічних маркерів захворювання, у цьому випадку — ендотеліальної дисфункції. Використання сучасних методів молекулярної біології та врахування молекулярно-генетичних особливостей пацієнта дасть змогу провести своєчасну профілактику, рано діагностувати дебют захворювання при виявленні біохімічних маркерів ендотеліальної дисфункції, індивідуалізувати вибір консервативних лікарських засобів, а отже, підвищити їх ефективність і безпечність, відтермінувати початок оперативного лікування та знизити рівень інвалідизації у пацієнтів з ОААНК.

Ключові слова: одонуклеотидні генетичні поліморфізми (SNP), персоналізоване лікування, ендотеліальна дисфункція, облітеруючий атеросклероз артерій нижніх кінцівок.

Частота виникнення атеросклеротичного ураження периферичних артерій в Європі та Північній Америці становить 16% у популяції осіб віком понад 55 років [14]. При скринінгу в групах високого ризику цей показник збільшується до 20–30% [9]. Прогресування облітеруючого атеросклерозу артерій нижніх кінцівок є причиною ранньої інвалідизації майже третини хворих, а у 10% з них проводять ампутації кінцівок [23].

Персоналізована медицина — порівняно новий напрям сучасної медицини, який отримав розвиток завдяки використанню методів спрямованого

пацієнт-асоційованого лікувально-діагностичного впливу з врахуванням впливу регіональних, генетичних чинників і чинників довкілля [15], тобто це цільова діагностика (геномно-протеомна, метаболомна, транскриптомна) і лікування (індивідуально орієнтований вплив, зокрема лікарська, клітинна терапія) хворого відповідно до результатів дослідження його генетичного профілю [28].

Принципи персоналізованої медицини успішно застосовують для лікування хворих онкологічного та ревматологічного профілю. Вони потребують додаткового вивчення для визначення можливості їх застосування в судинній хірургії [15, 28].

Облітеруючий атеросклероз артерій нижніх кінцівок (ОААНК) — мультифакторне захворювання, тобто є наслідком комплексного впливу генетичних, епігенетичних чинників і чинників довкілля [1, 23, 27]. Доведено роль близько 50 одонуклеотидних генетичних поліморфізмів (SNP) у патогенезі цього захворювання [2, 8, 20, 26], їх кількість може

Мішалов Володимир Григорович, д. мед. н., проф.,
зав. кафедри хірургії №4
<http://orcid.org/0000-0001-7263-7375>
01601, м. Київ, вул. Шовковична, 39/1. Тел. (44) 255-15-60

© В. Г. Мішалов, В. А. Черняк, Л. В. Натрус, Б. М. Коваль, В. М. Голінко, С. О. Махиня, 2018

значно зрости, оскільки роль більшості з відомих науці 10 млн SNP ще не вивчено остаточно [23, 28]. Серед груп генів, однонуклеотидні поліморфізми яких здатні призвести до розвитку облітеруючих захворювань артерій нижніх кінцівок, слід відзначити такі: 1) гени, які кодують білки, відповідальні за продукцію оксиду азоту (*NOS3*); 2) гени, які кодують білки ренін-ангіотензин-альдостеронової системи (*ADD1*, *AGT*, *AGTR1*, *CYP11B2*); 3) гени, які кодують білки β-адренергічної системи (*ADRB1*, *ADRB2*); 4) гени, які кодують білки-ферменти антиоксидантної системи (*SOD1*, *SOD2*, *SOD3*, *CAT*, *GPX1*); 5) гени, які кодують білки, відповідальні за мітохондріальний метаболізм (*CRAT*, *MTHFR*, *MTRR*, *MTR*); 6) гени, які кодують білки ліпопротеїнів крові (*APOB*, *LIPC*, *LPA*, *MTP*, *PCSK9*, *SCARB1*); 7) гени, які кодують структурні білки судин (*MMP1*, *MMP2*, *MMP3*); 8) гени, які кодують білки-рецептори активації проліферації пероксисом (*PPARγ*) тощо [2, 3, 5, 8, 13, 17, 18].

Одним з ключових генів у патогенезі ОААНК та інших серцево-судинних захворювань вважають ген *NOS3*, який кодує ендотеліальну NO-синтазу (eNOS) — фермент, котрий синтезує оксид азоту (NO) з L-аргініну [7, 11, 12]. Відомі два однонуклеотидні генетичні поліморфізми цього гена: 1) Glu-298Asp (позначення за референсним сиквенсом людини rs1799983) і 2) T786C (позначення за референсним сиквенсом людини rs2070744) [16]. За наявності в генотипі алеля T при однонуклеотидному генетичному поліморфізмі гена *NOS3* Glu-298Asp та/або за наявності в генотипі алеля C при однонуклеотидному генетичному поліморфізмі гена *NOS3* T786C зростає ризик розвитку ендотеліальної дисфункції і, відповідно, ОААНК, артеріальної гіпертензії, спазму коронарних артерій, ішемічної хвороби серця, ішемічного інсульту, інфаркту міокарда та інших серцево-судинних захворювань, хвороби Альцгеймера з пізнім початком, під час вагітності — розвитку артеріальної гіпертензії, відшарування плаценти [2, 3, 13].

Проведення генетичного скринінгу та визначення схильності до розвитку ОААНК дасть змогу проводити своєчасну профілактику шляхом модифікації способу життя та дієти [3, 17, 26]. Оскільки сама наявність генетичної мутації не завжди призводить до синтезу дефектного білка, лікування захворювання можна починати ще до появи клінічних симптомів, але лише після виявлення найбільш ранніх патологічних біохімічних маркерів захворювання, у цьому випадку — ендотеліальної дисфункції (ЕД) [5, 18]. Це ранній етап (доліпідна стадія) розвитку атеросклерозу, коли ще відсутні морфологічні зміни судинної стінки, але вже визначаються патологічні біохімічні маркери ЕД [4, 6].

Ендотелій (внутрішня вистилка судин) складається приблизно з $1 \cdot 10^{13}$ — $6 \cdot 10^{13}$ клітин [22]. Ендотелій інтими судин виконує бар'єрну, секреторну,

гемостатичну та вазотонічну функції, відіграє важливу роль у процесах запалення і ремоделювання судинної стінки [25]. Вперше про самостійну роль ендотелію в регуляції судинного тону повідомили в 1980 р. Furchgott і Zawadzki [4, 10]. Автори виявили здатність ізольованої артерії до самостійної зміни м'язового тону у відповідь на ацетилхолін без участі центральних (нейрогуморальних) механізмів [10]. Провідну роль у цьому відігравали ендотеліальні клітини, які автори охарактеризували як «серцево-судинний ендокринний орган, який здійснює зв'язок у критичних ситуаціях між кров'ю і тканинами» [4]. У 1998 р. Ф. Мурад, Р. Фуршгот і Л. Ігнарро отримали Нобелівську премію в галузі медицини за відкриття ролі NO як сигнальної молекули в регуляції серцево-судинної системи [4, 6]. Авторами було встановлено, що нітрогліцерин і подібні препарати діють як вазодилататори внаслідок перетворення їх за участю ендотелію на NO, який чинить основну розслаблювальну дію [4, 10, 12]. Крім того, молекули NO пригнічують такі ключові ланки в розвитку атеросклерозу, як адгезія та агрегація тромбоцитів, адгезія і міграція лейкоцитів, а також проліферація гладеньких міоцитів [12].

Ендотелій визнано найважливішим органом паракринної секреції, який відіграє ключову роль у регуляції гомеостазу, судинного тону та його структури [22, 25]. Ендотелій виробляє вазодилататори й антиагреганти (NO, брадикінін, простагліцин, ендотеліальний фактор гіперполяризації, натрійуретичний пептид С-типу), вазоконстриктори і проагреганти (ендотелін-1, ангіотензин-II, серотонін, лейкотрієни С₄, Д₄, тромбоксан А₂), гепарин, активатори плазміногену, фактори росту [4]. Він володіє судинною, антитромбоцитарною, антикоагулянтною, тромболітичною, протизапальною, антиоксидантною та антипроліферативною активністю, відіграє важливу роль у розвитку атеросклеротичних змін судинної стінки, ремоделюванні судин, ангіогенезі [4, 6, 12].

Основним показником функціонального стану ендотелію є ендотелійзалежна вазодилатація, яка регулюється NO [21, 24]. Під дією різних медіаторів відбувається збільшення концентрації внутрішньоклітинного кальцію (Ca^{2+}), який утворює комплекс Ca-кальмодулін — кофактор, котрий активує eNOS. Реакція синтезу NO перебігає за участі низки кофакторів, таких як нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат, флавінаденіндинуклеотид, флавінмононуклеотид, тетрагідробіоптерин (BH₄), гем- і кальмодулін. Оксид азоту проникає в гладенькі міоцити і спричиняє релаксацію шляхом активації гуанілатциклази, збільшуючи концентрацію циклічного гуанозинмонофосфату, який опосередковує ефекти NO. Є низка речовин, які є аналогами L-аргініну, наприклад, асиметричний диметиларгінін (ADMA), L-N-монометиларгінін

(L-NMMA) і L-нітроаргініну метиловий ефір (L-NAME), та відіграють роль антагоністів синтезу NO [10, 21, 22, 24, 25]. Підвищений рівень ADMA також є показником ЕД. Навіть при нормальному синтезі NO у разі вираженого окисного стресу відбувається швидка його інактивація. Оксид азоту є медіатором ендотеліалізалежної вазодилатації завдяки інгібувальному впливу на такі вазоконстриктори, як ангіотензин-ІІ та ендотелін [7, 11, 13, 16]. Крім цього, NO гальмує агрегацію тромбоцитів, адгезію лейкоцитів, інфільтрацію і проліферацію гладеньких міоцитів судин, перешкоджає окисній модифікації ліпопротеїнів низької густини. Таким чином, при порушенні синтезу або активності NO створюються умови для прогресування атеросклерозу, зокрема вазоконстрикції, підвищення агрегації тромбоцитів, проліферації та міграції гладеньких міоцитів судин, адгезії лейкоцитів та окисного стресу [7, 13, 16].

Ендотеліальна дисфункція відіграє роль у розвитку тромбозу, неоангіогенезу, ремоделюванні судин, внутрішньосудинної активації тромбоцитів і лейкоцитів. Її виявляють практично при всіх серцево-судинних захворюваннях, атеросклерозі, діабеті, гіпертонії, сепсисі, злоякісних утвореннях, еректильній дисфункції. Оскільки ЕД є найбільш раннім виявом серцево-судинних захворювань, зокрема ОААНК, її наявність має важливе діагностичне і прогностичне значення [6, 10, 21, 22, 24, 25].

Корекція ЕД спрямована на відновлення дилататорної відповіді судин залежно від патогенетичного механізму її формування у пацієнта. В цілому лікарські препарати, які потенційно здатні впливати на функцію ендотелію, можна розподілити на 4 основні категорії [1, 4, 19]:

- 1) донатори NO;
- 2) синтетичні аналоги простагландину E₁;
- 3) інгібітори або антагоністи ендотеліальних констрикторних факторів (інгібітори ангіотензинперетворювального ферменту, антагоністи рецепторів ангіотензину-ІІ тощо);
- 3) цитопротекторні й антиоксидантні речовини;
- 4) гіполіпідемічні препарати.

Використання судинним хірургом сучасних методів молекулярної біології та врахування молекулярно-генетичних особливостей пацієнта дасть змогу проводити своєчасну профілактику ОААНК при визначенні генетичної схильності до нього, рано діагностувати дебют захворювання при виявленні біохімічних маркерів ЕД, індивідуалізувати вибір консервативних лікарських засобів, а отже, підвищити їх ефективність і безпечність, відтермінувати початок оперативного лікування і знизити рівень інвалідизації [1, 4, 12, 17, 19].

Конфлікту інтересів немає.

Участь авторів: концепція і дизайн дослідження — В. М., В. Ч., Л. Н., Б. К.;

збір матеріалу — В. Г., С. М.; опрацювання матеріалу, написання тексту — В. Г.; редагування — В. Ч., В. Г.

Висновки

Облітеруючий атеросклероз артерій нижніх кінцівок є мультифакторним захворюванням, у розвитку якого провідну роль відіграють генетичні чинники. Доведено роль близько 50 одонуклеотидних генетичних поліморфізмів у патогенезі облітеруючого атеросклерозу артерій нижніх кінцівок.

Одним з ключових генів у патогенезі облітеруючого атеросклерозу та інших серцево-судинних захворювань є ген NOS3, який кодує ендотеліальну NO-синтазу (eNOS). Відомі два одонуклеотидних генетичних поліморфізми цього гена: Glu298Asp і T786C. За наявності в генотипі алеля Т при одонуклеотидному генетичному поліморфізмі гена NOS3 Glu298Asp та/або за наявності в генотипі алеля С при одонуклеотидному генетичному поліморфізмі гена NOS3 T786C зростає ризик розвитку ендотеліальної дисфункції і, відповідно, облітеруючого атеросклерозу та інших серцево-судинних захворювань.

Проведення генетичного скринінгу та визначення схильності до розвитку облітеруючого атеросклерозу артерій нижніх кінцівок дасть змогу проводити своєчасну профілактику шляхом модифікації способу життя і дієти. Лікування захворювання можна починати ще до появи клінічних симптомів після виявлення патологічних біохімічних маркерів.

Ендотеліальна дисфункція є раннім етапом (доліпідна стадія) облітеруючого атеросклерозу артерій нижніх кінцівок, коли ще відсутні морфологічні зміни судинної стінки, але вже визначаються патологічні біохімічні маркери ендотеліальної дисфункції, тобто зниження протекторних (судинорозширювальних і антитромбогенних) та підвищення агресивних (судинозвужувальних і протромбогенних) чинників, котрі виробляються ендотеліоцитами. Тому наявність ендотеліальної дисфункції має важливе діагностичне і прогностичне значення.

Використання сучасних методів молекулярної біології та врахування молекулярно-генетичних особливостей конкретного пацієнта дасть змогу проводити своєчасну профілактику облітеруючого атеросклерозу артерій нижніх кінцівок при визначенні генетичної схильності до нього, рано діагностувати дебют захворювання при визначенні біохімічних маркерів ендотеліальної дисфункції, індивідуалізувати вибір консервативних лікарських засобів, а отже, підвищити їх ефективність і безпечність, відтермінувати початок оперативного лікування і знизити рівень інвалідизації у пацієнтів з облітеруючим атеросклерозом артерій нижніх кінцівок.

Література

1. Калинин Р.Е., Сучков И.А., Пшенников А.С., Никифоров А.А. Влияние полиморфизма генов на эффективность эндотелиотропной терапии (клинические наблюдения) // Врач-Аспирант. — 2012. — № 1.2. — С. 318–325.
2. Коваленко В.Н., Кучменко Е.Б., Мхитарян Л.С. Роль одиночных нуклеотидных полиморфизмов и микроРНК в патогенезе заболеваний сердечно-сосудистой системы // Журн. НАМН України. — 2014. — Т. 20, № 1. — С. 62–73.
3. Рыбачков В.В., Четверикова Е.Н. Полиморфизм генов, ассоциированных с риском развития артериальной гипертензии и наследственных тромбофилий, у больных с хроническими окклюзионными заболеваниями нижних конечностей // Вестн. Иванов. мед. акад. — 2014. — Т. 19, № 4. — С. 27–35.
4. Шабров А.В., Апресян А.Г., Добкес А.Л. и др. Современные методы оценки эндотелиальной дисфункции и возможности их применения в практической медицине // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. — 2016. — № 12(6). — С. 733–742.
5. Allison M.A., Peralta C.A., Wassel C.L. et al. Genetic ancestry and lower extremity peripheral artery disease in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis // Vasc. Med. — 2010. — Vol. 15(5). — P. 351–359.
6. Bonetti P.O., Lerman L.O., Lerman A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk // Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. — 2003. — Vol. 23. — P. 168–175.
7. Casas J.P., Cavalleri G.L., Bautista L.E. et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and cardiovascular disease: A HuGE Review // Am. J. Epidemiol. — 2006. — Vol. 164. — P. 921–935.
8. Ding K., Kullo I.J. Geographic differences in allele frequencies of susceptibility SNPs for cardiovascular disease // BMC Med. Genet. — 2011. — Vol. 12. — P. 55.
9. Dormandy J., Rutherford R.B. Management of peripheral arterial disease (PAD) // J. Vasc. Surg. — 2000. — Vol. 31. — P. 281–296.
10. Edwards G., Feletou M., Weston A.H. Endothelium-derived hyperpolarising factors and associated pathways: a synopsis // Pflugers Arch. — 2010. — Vol. 459. — P. 863–879.
11. Emdin C.A., Khera A.V., Klarin D. et al. Phenotypic consequences of a genetic predisposition to enhanced nitric oxide signaling // Circulation. — 2017. — Vol. 137. — P. 222–232.
12. Flammer A.J., Luscher T.F. Three decades of endothelium research: from the detection of nitric oxide to the everyday implementation of endothelial function measurements in cardiovascular diseases // Swiss Med Wkly. — 2010. — Vol. 140. — P. 312–323.
13. Fowkes F.G., Lee A.J., Hau C.M. et al. Methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) and nitric oxide synthase (eNOS) genes and risks of peripheral arterial disease and coronary heart disease: Edinburgh Artery Study // Atherosclerosis. — 2000. — Vol. 150. — P. 179–185.
14. Fowkes F.G., Rudan D., Rudan I. et al. Comparison of global estimates of prevalence and risk factors for peripheral artery disease in 2000 and 2010: a systematic review and analysis // Lancet. — 2013. — Vol. 382. — P. 1329–1340.
15. Jain K.K. Textbook of Personalized Medicine. — Springer, New York, 2009. — 419 p.
16. Kullo I.J., Greene T.M., Boerwinkle E. et al. Association of polymorphisms in nos3 with the ankle-brachial index in hypertensive adults // Atherosclerosis. — 2008. — Vol. 196(2). — P. 905–912.
17. Kullo I.J., Leeper N.J. The genetic basis of peripheral arterial disease: current knowledge, challenges and future directions // Circ Res. — 2015. — Vol. 116(9). — P. 1551–1560.
18. Leeper N.J., Kullo I.J., Cooke J.P. Genetics of peripheral artery disease // Circulation. — 2012. — Vol. 125. — P. 3220–3228.
19. Madigan M., Zuckerbraun B. Therapeutic potential of the nitrite-generated NO pathway in vascular dysfunction // Front. Immunol. — 2013. <http://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00174>
20. Matsukura M., Ozaki K., Takahashi A. et al. Genome-wide association study of peripheral arterial disease in a Japanese population // PLoS ONE. — 2015. — Vol. 10(10). — e0139262.
21. Parker B.A., Tschakovsky M.E., Augeri A.L. et al. Heterogenous vasodilator pathways underlie flow-mediated dilation in men and women // Am. J. Physiol. — 2011. — Vol. 301. — P. 1118–1126.
22. Sena C.M., Pereira R., Seica A.M. Endothelial dysfunction — A major mediator of diabetic vascular disease. Molecular basis of disease // Biochimica et Biophysica Acta (BBA). — 2013. — Vol. 1832, N 12. — P. 2216–2231.
23. Spence D.J. Time course of atherosclerosis regression // Atherosclerosis. — 2014. — Vol. 235, N 2. — P. 347–348.
24. Thijssen D.H., Black M.A., Pyke K.E. et al. Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline // Am. J. Physiol. — 2011. — Vol. 300. — P. 112–12.
25. Virdis A., Ghiadoni L., Taddei S. Human endothelial dysfunction: EDCFs // Pflugers Arch. — 2010. — Vol. 459. — P. 1015–1023.
26. Wahlgren C.M., Magnusson P.K. Genetic influences on peripheral arterial disease in a twin population // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. — 2011. — Vol. 31. — P. 678–682.
27. Wassel C.L., Loomba R., Ix J.H. et al. Family history of peripheral artery disease is associated with prevalence and severity of peripheral artery disease: the San Diego population study // J. Am. Coll. Cardiol. — 2011. — Vol. 58. — P. 1386–1392.
28. Willard H.F., Ginsburg G.S. Genomic and personalized medicine. — Academic Press, 2009. — 1558 p.

Молекулярно-генетические аспекты ранней диагностики и персонализированного лечения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей

В. Г. Мишалов, В. А. Черняк, Л. В. Натрус, Б. М. Коваль, В. Н. Голинко, С. А. Махиня

Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца

Облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей (ОААНК) — это мультифакторное заболевание, то есть следствие комплексного воздействия генетических, эпигенетических факторов и факторов окружающей среды. Доказана роль около 50 однонуклеотидных генетических полиморфизмов (SNP) в патогенезе ОААНК. Проведение генетического скрининга и определения предрасположенности к развитию ОААНК позволит осуществить своевременную профилактику заболевания путем модификации образа жизни и диеты. Поскольку само наличие генетической мутации не всегда приводит к синтезу дефектного белка, лечение заболевания можно начинать еще до появления клинических симптомов, но только после выявления наиболее ранних патологических биохимических маркеров заболевания, в этом случае — эндотелиальной дисфункции. Использование современных методов молекулярной биологии с учетом молекулярно-генетических особенностей пациента позволит провести своевременную профилактику, рано диагностировать дебют заболевания при выявлении биохимических маркеров эндотелиальной дисфункции, индивидуализировать выбор консервативных лекарственных средств, а следовательно, повысить их эффективность и безопасность, отсрочить начало оперативного лечения и снизить уровень инвалидизации у пациентов с ОААНК.

Ключевые слова: однонуклеотидные генетические полиморфизмы (SNP), персонализированное лечение, эндотелиальная дисфункция, облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей.

Molecular genetic aspects of early diagnosis and personalized treatment of obliterating atherosclerosis of lower limb arteries

V. G. Mishalov, V. A. Cherniak, L. V. Natrus, B. M. Koval, V. M. Holinko, S. O. Makhynia

O. O. Bogomolets National Medical University, Kyiv

Obliterating atherosclerosis of lower limb arteries (OALLA) is a multifactorial disease, which results from the complex influence of genetic, epigenetic and environmental factors. Nowadays the role of about 50 single-nucleotide genetic polymorphisms (SNPs) has been proven in the pathogenesis of OALLA. Conducting the genetic screening and determining the susceptibility to the development of OALLA will allow for the timely prevention of the disease by modifying the lifestyle and diet. Since the mere presence of a genetic mutation does not always lead to the synthesis of a defective protein, the treatment of the disease can begin even before the onset of clinical symptoms, but only after the detection of the earliest pathological biochemical markers of the disease, in this case – endothelial dysfunction. The use of modern methods of molecular biology, with consideration of the molecular genetic characteristics of the patient, will allow timely prevention, early diagnosis of the disease after detection of biochemical markers of endothelial dysfunction, individualization of the choice of conservative drugs, and therefore increase in their effectiveness and safety, delay of the start of surgical treatment and reduction of disability in patients with OALLA.

Key words: single-nucleotide genetic polymorphisms (SNP), personalized medicine, endothelial dysfunction, obliterating atherosclerosis of lower limb arteries.