

Развитие тяжелых форм остеоартритов ассоциируют в том числе с микроРНК let-7e [4]. Отмечается связь низких уровней let-7e с повышенным риском артропластики из-за тяжелого течения остеоартрита. На экспериментальной модели крыс деформирующих заболеваний выявлено снижение экспрессии let-7e в сыворотке крови и хряще коленного сустава. Показана обратная зависимость уровня экспрессии let-7e с тяжелым течением остеоартритов коленного и тазобедренного суставов [5].

Кроме молекулярно-генетического исследования нами проанализированы клинико-лабораторных показатели у пациентов с остеоартритами, а также их связь с экспрессией микроРНК.

Клинико-лабораторные исследования показали изменения в общем анализе крови пациентов с остеоартритами, характерные для воспалительного процесса. Установлено статистически значимое увеличение количества лейкоцитов, сегментоядерных нейтрофилов и моноцитов ($p < 0,05$, соответственно). Также выявлены изменения в анализе гемостазиограммы (снижение ПТИ, увеличение МНО) и активности аланинаминотрансферазы периферической крови данной группы пациентов ($p < 0,05$, соответственно). Данные гемостазиограмм пациентов с деформирующими заболеваниями суставов указывают на тенденцию к удлинению периода формирования кровяного сгустка и более низкой свертывающей способности крови пациентов исследуемой группы.

На основе изучения экспрессии циркулирующих микроРНК выявлены взаимосвязи нарушений клинико-лабораторных и молекулярно-генетических показателей при деформирующих заболеваниях суставов.

Экспрессия miR-140 / let-7e микроРНК ассоциирована с изменениями клинико-лабораторных показателей периферической крови пациентов с остеоартритами. При гонартрозе установлена прямая сильная статистически значимая связь уровня экспрессии miR-140 с количеством нейтрофилов ($R_s = 0,9$, $p < 0,05$) в периферической крови, а коэффициент нормализации let-7e прямо коррелировал с относительным количеством моноцитов ($R_s = 0,7$, $p < 0,05$) и обратно коррелировал со средней концентрацией гемоглобина в эритроцитах ($R_s = -0,8$, $p < 0,05$). Развитие коксартроза сопровождается наличием связи между уровнем экспрессии miR-140 в плазме и средней концентрацией гемоглобина в эритроцитах ($R_s = 0,9$, $p < 0,05$) а также обратной корреляцией между относительным изменением экспрессии let-7e и средним содержанием гемоглобина в эритроците ($R_s = -0,9$, $p < 0,05$).

Анализ экспрессии циркулирующих микроРНК miR-140 и let-7e в синовиальной жидкости и периферической крови показал участие данных биомолекул в развитии деформирующих заболеваний суставов и возможность использования в качестве биомаркеров при оценке прогноза течения деформирующих заболеваний суставов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Serum microRNA array analysis identifies miR-140-3p, miR-33b-3p and miR-671-3p as potential osteoarthritis biomarkers involved in metabolic processes / E. Ntounou L. Feng [et al.] // Clin Epigenetics. – 2017. – Vol. 9. – DOI: 10.1186/s13148-017-0428-1.
2. Mirzamohammadi, F. MicroRNAs in cartilage development, homeostasis, and disease / F. Mirzamohammadi, G. Papaioannou, T. Kobayashi // Curr Osteoporos Rep. – 2014. – Vol. 12, № 4. – P. 410–419.
3. Let-7 and miR-140 microRNAs coordinately regulate skeletal development / G. Papaioannou [et al.] // Proc Natl Acad Sci U S A. – 2013. – Vol. 110, № 35. – P. E3291– E3300.
4. Dysregulation of both miR-140-3p and miR-140-5p in synovial fluid correlate with osteoarthritis severity / C-M. Yin [et al.] // Bone Joint Res. – 2017. – Vol. 6, № 11. – P. 612–618.
5. Circulating microRNA let-7e is decreased in knee osteoarthritis, accompanied by elevated apoptosis and reduced autophagy / L. Feng [et al.] // Int J Mol Med. – 2020. – Vol. 45, № 5. – P. 1464–1476.

АНАЛИЗ ЧАСТОТЫ ВСТРЕЧАЕМОСТИ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ПАТОЛОГИИ У СПОРТСМЕНОВ

ANALYSIS OF THE FREQUENCY OF OCCURRENCE OF MOLECULAR GENETIC MARKERS OF PREDISPOSITION TO CARDIOVASCULAR PATHOLOGY IN ATHLETES

А. С. Люльченко

A. Lyulchenko

*Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,
г. Минск, Республика Беларусь
makarevich.nastyusha@gmail.com*

Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

Сердечно-сосудистые патологии на протяжении десятилетий занимают лидирующие позиции по инвалидизации и смертельным исходам во всём мире. Среди спортсменов риск сердечно-сосудистой патологии

существенно возрастает по причине экстремальных физических нагрузок. В работе проведено генотипирование образцов ДНК спортсменов и контрольной группы по отобранным генам-кандидатам патологии сердечно-сосудистой системы. В сформированных группах выявлены носители неблагоприятных генотипов, существенно повышающих риск тромбозов: у 3,2 % гимнастов и 17,1% представителей пожарно-спасательного спорта выявлены опасные мутации II и V факторов свёртываемости крови.

For decades, cardiovascular diseases have been the leading cause of disability and death worldwide. Among athletes, the risk of cardiovascular disease increases significantly due to extreme physical exertion. Genotyping of the DNA samples of athletes and the control group based on the selected candidate genes for the pathology of the cardiovascular system was carried out. Carriers of unfavorable genotypes that significantly increase the risk of thrombosis were identified in the formed groups: dangerous mutations of blood clotting factors II and V were detected in 3.2 % of gymnasts and 17.1% of representatives of fire and rescue sports.

Ключевые слова: мутация, полиморфизм, гемостаз, фактор риска, тромб, тромбообразование, сердечно-сосудистые заболевания, смертность.

Keywords: mutation, polymorphism, hemostasis, risk factor, blood clot, thrombosis, cardiovascular diseases, mortality.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2021-2-58-62>

Сердечно-сосудистые заболевания – группа болезней сердца и кровеносных сосудов. В настоящее время данные патологии являются одной из ведущих причин смертности населения по всему миру. По оценке ВОЗ 17,9 миллионов смертей ежегодно вызваны сердечно-сосудистыми заболеваниями; что составляет 44% всех случаев неинфекционных заболеваний и 31% всех смертей в мире [1]. Публикуемые ежегодно статистические данные по Республике Беларусь указывают на высокий уровень заболеваемости и смертности от болезней системы кровообращения (~25%).

Из вышесказанного можно сделать вывод, что ущерб, наносимый данной группой заболеваний, для экономики существенен и включает в себя не только затраты на лечение, но и потери, обусловленные инвалидностью, снижением производительности труда и преждевременной смертью. Поэтому важно рассматривать мультифакторный риск развития сердечно-сосудистых патологий для возможности ранней диагностики заболеваний и их осложнений, профилактики. Следовательно, изучение роли генетических факторов в этиологии и патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний имеет большое значение.

Особое место в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний занимает тромбообразование. Так при инфаркте миокарда частота тромбозов сердечных артерий составляет до 90%. Развитие инсультов связано с тромбозами сосудов головного мозга в 75 – 80% случаев. Мутации генов систем гемостаза и антигемостаза или отсутствие таких мутаций определяют, насколько сильным должно быть воздействие внешних факторов, чтобы произошло тромбообразование. В целом, наибольшее клиническое и прогностическое значение для тромбозов имеют полиморфные варианты Thr/Ala гена α -цепи фибриногена (F1 свёртываемости крови), мутация G20210A гена FII свёртывания крови (протромбин), лейденская мутация (точечная мутация гена FV свёртывания крови), а также вариант Val/Leu FXIII свёртываемости крови и 4G/5G гена PAI-1 [2].

Участок гена с полиморфизмом Thr/Ala, кодирует часть фибриногена, ответственную за его взаимодействие с FXIII свёртывания, также в этой части белка находится центр взаимодействия α 2-антиплазмина и фибрина. α 2-антиплазмин локализуется в сгустке фибрина, который, благодаря этому, не расщепляется под действием плазмина, образуется тромб [3]. Мутация гена FII свертывания крови связана с заменой последовательности нуклеотидов в протромбине, что приводит к нарушению его основной функции, образованию фибрина, а точнее либо к его гиперэкспрессии, либо наоборот – к снижению. Лейденовская мутация – фактор предрасположенности к венозным тромбозам, характеризуется резистентностью FV к действию протеина C, который в норме является антикоагулянтом и расщепляет FV, из-за чего возникает гиперкоагуляция. Мутация замедляет скорость, с которой APC инактивирует FV, из-за чего растёт риск образования тромба. Вариант Val/Leu FXIII гена свёртываемости крови приводит к увеличению скорости активации FXIII в несколько раз. Повышение активности FXIII свёртываемости крови сопровождается увеличением адгезивности и агрегации кровяных пластинок. Кодированный геном ингибитора активатора плазминогена PAI-1 4G/5G белок играет важнейшую роль в регуляции фибринолиза. Наличие 4 гуанинов вместо 5 в структуре гена ингибитора активатора плазминогена приводит к повышению его функциональной активности [4].

Особый интерес представляет изучение частоты встречаемости молекулярно-генетических маркеров сердечно-сосудистой патологии у профессиональных спортсменов, экстремальные физические и эмоциональные нагрузки могут способствовать проявлению неблагоприятной наследственности, приводящей к летальным или инвалидизирующим событиям. Среди спортсменов риск смерти из-за сердечно-сосудистой патологии существенно превышает таковой в общей популяции (1,6 на 100 тыс. для спортсменов и 0,75 на 100 тыс. для популяции в целом). Например, в структуре внезапной смерти спортсменов более 50% приходится на сердечно-сосудистую патологию, причём средний возраст погибших составляет 18±5 лет [5]. Выявление групп повышенного риска среди спортсменов позволит снизить вероятность развития патологии. Зная о наличии предрасположенности к,

например, рассматриваемому здесь тромбообразованию, с помощью индивидуального медико-биологического обеспечения могут быть скорректированы образ жизни и система тренировок спортсмена.

Целью настоящей работы является анализ частоты встречаемости молекулярно-генетических маркеров сердечно-сосудистой патологии у спортсменов по сравнению с контрольной группой.

Материалы и методы

В исследование были включены следующие группы спортсменов: представители команд по художественной гимнастике (32 человека) и футболу (46 человек), сотрудники Министерства по чрезвычайным ситуациям, занимающиеся пожарно-спасательным спортом (41 человек), представители спецназа Министерства внутренних дел (9 человек). Контрольная группа включала 167 человек. В качестве биологического материала для молекулярно-генетических исследований была использована ДНК, выделенная из Buccal epithelium.

Локусы генов F1 Thr312Ala, F2 G20210A, F5 G1691A, F13 Val34Leu и PAI-1 4G/5G определяли с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени.

Амплификационная смесь с конечным объемом 10 мкл на одну реакцию содержала 5 мкл 2×ПЦР буфера, 1 мкл 10× TaqMan-зонда, и доведена H₂O. В пробирки для ПЦР вносилось по 9 мкл амплификационной смеси и 1 мкл (15нг) образца ДНК. В амплификаторе проводилась денатурация образцов при 95°C в течение 10 минут, после – 40 циклов амплификации при следующих условиях: 15 с. денатурации при 95°C; 60 с. отжига и синтеза при 60°C и считывание флуоресценции плашки. Для статистического анализа использовался критерий согласия Пирсона (χ^2), при необходимости с учётом поправки Йетса.

Результаты и их обсуждение

Распределение искомым генотипов в контрольных группах для всех проанализированных полиморфизмов соответствовало распределению Харди-Вайнберга. Распределения частот генотипов и аллелей среди сформированных групп с контрольной группой, состоявшей из 167 человек, без явной патологии сердечно-сосудистой системы.

Результаты генотипирования представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Частоты распределения генотипов по полиморфизмам генов сердечно-сосудистой патологии сформированных групп и контрольной группы

	Гимнасты	МЧС	Спецназ	Футбол	Контроль
<i>F1 Thr312Ala</i>	N=32	N=41	N=9	N=46	N=167
<i>Thr/Thr</i>	68,8	50,0	88,9	57,7	58,7
<i>Thr/Ala</i>	25,0	42,5	11,1	34,6	37,1
<i>Ala/Ala</i>	6,2	2,5	0	7,7	4,2
<i>P</i>	0,4	0,76	0,21	0,48	–
<i>F2 G20210A</i>	N=32	N=41	N=9	N=46	N=161
<i>G/G</i>	100	92,7	100	97,8	96,3
<i>G/A</i>	0	7,3	0	2,2	3,7
<i>A/A</i>	0	0	0	0	0
<i>P</i>	0,54	0,61	0,84	0,88	–
<i>F5 G1691A</i>	N=32	N=41	N=9	N=46	N=161
<i>G/G</i>	90,6	90,2	100	100	95,0
<i>G/A</i>	9,4	9,8	0	0	5,0
<i>A/A</i>	0	0	0	0	0
<i>P</i>	0,62	0,51	0,79	0,3	–
<i>F13 Val34Leu</i>	N=32	N=41	N=9	N=46	N=165
<i>Val/Val</i>	43,8	54,5	66,7	73,1	46,7
<i>Val/Leu</i>	46,9	35,7	33,3	26,9	47,3
<i>Leu/Leu</i>	9,3	9,5	0	0	6,0
<i>P</i>	0,78	0,36	0,45	0,03	–
<i>PAI-1 4G/5G</i>	N=32	N=41	N=9	N=46	N=150
<i>4G/4G</i>	25,0	36,6	0	39,1	27,7
<i>4G/5G</i>	50,0	51,2	55,6	52,2	50,0
<i>5G/5G</i>	25,0	12,2	44,4	8,7	21,3
<i>P</i>	0,87	0,36	0,1	0,11	–

Представленные результаты, позволили выявить статистически значимые различия в распределении частот генотипов полиморфизма Val34Leu гена FXIII в группе футболистов: среди них частота неблагоприятных генотипов, являющихся фактором риска тромбообразования, существенно ниже, чем в контрольной популяции. Кроме того, в группе футболистов статистически достоверно повышена частота аллеля 4G полиморфизма 4G/5G гена PAI-1 ($\chi^2 = 3,82$, $p < 0,05$), который является фактором риска тромбообразования. Наличие этого аллеля сопровождается повышенной экспрессией гена PAI-1 и повышением уровня ингибитора активатора плазминогена, в результате чего снижается активность фибринолитической системы, и риск тромбообразования увеличивается в 2 раза.

Обращает на себя внимание существенно повышенная частота носителей лейденской мутации в группах лиц, занимающихся художественной гимнастикой (9,4%) и работников МЧС (9,8%) по сравнению с контрольной группой (5,0%). Кроме того, у работников МЧС частота гетерозиготных носителей мутации G20210A в гене FII (7,3%) практически в 2 раза выше по сравнению с контрольной группой (3,7%). В то же время, среди сотрудников спецназа и футболистов не выявлено ни одного носителя лейденской мутации.

Следует отметить, что по результатам генотипирования по генам сердечно-сосудистой патологии среди сотрудников спецназа частота неблагоприятных вариантов по всем проанализированным полиморфизмам существенно ниже по сравнению с контролем. При анализе не было обнаружено ни одной Лейденской мутации или мутации протромбина, а также гомозиготных генотипов 4G/4G по гену PAI-1. Частота благоприятных гомозигот 5G/5G по гену PAI-1 оказалась выше по сравнению с контрольной группой.

Была произведена оценка индивидуального риска развития сердечно-сосудистой патологии в исследуемых выборках. При этом проводили комплексный анализ сразу по 5 наиболее информативным маркерам патологии сердечно-сосудистой системы, что позволяет более точно рассчитать риск этой патологии и в дальнейшем разработать для них персональные рекомендации.

В соответствии с функциональной значимостью вариантов полиморфизмов генов, ассоциированных с предрасположенностью к сердечно-сосудистой патологии (см. таблица 2), каждому неблагоприятному аллелю присваивается значимость риска «1», а благоприятному «-1». Таким образом, по результатам генотипирования по каждому неблагоприятному полиморфизму возможны значения риска «0», «1» и «2», для благоприятного (протекторного) – соответственно «0», «-1» и «-2». В зависимости от суммы баллов и комбинаций генотипов определяется общий риск сердечно-сосудистой патологии: низкий – сумма баллов значимости составляет 1 и менее; умеренный – сумма баллов значимости составляет 2 – 3; высокий – сумма баллов значимости составляет 4 или более.

В случае носительства опасных Лейденской мутации и мутации протромбина риск сердечно-сосудистой патологии считали высоким независимо от комбинации генотипов по другим генам. Риск дополнительно повышается за счет совместного действия неблагоприятной гомозиготы PAI-1 4g/4g и неблагоприятного аллеля по полиморфизму гена F13 (аллель Leu – на +1, гомозигота Leu/Leu – на +2).

Таблица 2 – Варианты полиморфизмов генов предрасположенности к сердечно-сосудистой патологии и их значимость при оценке риска

Ген	Полиморфизм	Аллель	Характеристика риска сердечно-сосудистой патологии	Значимость (вклад в общий риск), баллов
F1	Thr312Ala	Thr	N	0
		Ala	Повышен	1
F2	G20210A	G	N	0
		A	Повышен	1
FVL	G1691A	G	N	0
		A	Повышен	1
F13	Val34Leu	Val	N	0
		Leu	Повышен	1*
PAI-1	4G/5G	4G	Повышен	1*
		5G	N	0
ACE	I/D	I	Снижен	-1
		D	Повышен	1

*Риск дополнительно повышается из-за совместного действия неблагоприятной гомозиготы PAI-1 4g/4g и неблагоприятного аллеля по полиморфизму гена F13 (аллель Leu – на +1, гомозигота Leu/Leu – на +2).

По результатам генотипирования и расчета риска сердечно-сосудистой патологии у представителей национальных команд Республики Беларусь по художественной гимнастике, у 4 гимнасток риск этой патологии определен как высокий, причем у 3 из них обнаружена опасная Лейденская мутация.

По результатам генотипирования сборных команд Республики Беларусь по пожарно-спасательному спорту по генам предрасположенности к патологии сердечно-сосудистой системы выявлено 15 спортсменов с высоким

риском этой патологии. Особое внимание следует уделить 4 спортсменам, с выявленной Лейденской мутацией в гетерозиготном состоянии, существенно повышающая риск тромбообразования.

Анализ генов, продукты которых отвечают за синтез и активность факторов свертывания крови и фибринолиза, дает возможность оценить риск развития патологий, связанных с нарушением баланса свертывающей и противосвертывающей систем крови. Большое значение имеет комплексный анализ сразу по нескольким маркерам патологии сердечно-сосудистой системы, что позволит ещё более точно рассчитать риск нарушений. Именно изменения в системе гемостаза и фибринолиза при постоянном внешнем воздействии, по мнению некоторых исследователей, являются независимыми и одними из решающих факторов риска возникновения сердечно-сосудистых заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Top 10 causes of death [Электронный ресурс] / World health organization – Режим доступа: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death> - Дата доступа: 09.04.2021.

2. Heit, J. A. Thrombophilia: Clinical and Laboratory Assessment and Management. / J. A. Heit // Consultative Hemostasis and Thrombosis. 3rd ed. Philadelphia / ed. C. Kitchens. – Saunders Elsevier, 2013. – P. 205–39.

3. Крючкова, Н. М. Полиморфизм генов MTHFR, GP1BA, FGA при тромбоэмболии легочной артерии / Н. М. Крючкова, Т. Е. Федорова, А. А. Чернова // РМЖ – 2020. – Т.28, №3. – С. 18-20.

4. Баркаган, З. С. Основы диагностики нарушений гемостаза / З. С. Баркаган, А. П. Момот – М.: Ньюдиамед, 1999. – 217 с.

5. Бойцов, С. А. Национальные рекомендации по допуску спортсменов с отклонениями со стороны сердечно-сосудистой системы к тренировочно-соревновательному процессу // С. А. Бойцов, И. П. Колос, П. И. Лидов // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. – 2011. – Т.7, №6. – С. 4-60.

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ПЛОДОВЫХ ТЕЛ *GANODERMA LUCIDUM* НА ПОКАЗАТЕЛИ ВИДОВОГО ИММУНИТЕТА В МОДЕЛИ ИММУННОГО ОТВЕТА У МЫШЕЙ ЛИНИИ BALB/C INFLUENCE OF THE *GANODERMA LUCIDUM* FRUIT BODIES EXTRACT ON INNATE IMMUNITY INDICATORS IN THE MODEL OF AN IMMUNE RESPONSE IN BALB/C MICE

A. K. Лямцева, Т. Р. Романовская
A. Lyamtseva, T. Romanovskaya

Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А.Д. Сахарова БГУ,
г. Минск, Республика Беларусь
lyamtseva98@gmail.com
Belarusian State University, ISEI BSU
Minsk, Republic of Belarus

Современные лабораторные и клинические исследования выявили противоопухолевые, иммуномодулирующие, гепатопротекторные, антиоксидантные и др. свойства *Ganoderma lucidum* благодаря наличию в его составе индивидуальных компонентов с фармакологической активностью. Его воздействие на иммунную систему разнообразно. Основной иммуностропный эффект экстракта плодовых тел *Ganoderma lucidum* направлен на увеличение показателей фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов и увеличение активности классического пути активации системы комплемента.

Modern laboratory and clinical studies have revealed antitumor, immunomodulatory, hepatoprotective, antioxidant, and other properties of *Ganoderma lucidum* due to the presence in its composition of individual components with pharmacological activity. Its effects on the immune system are varied. The main immunotropic effect of the *Ganoderma lucidum* fruit bodies extract is aimed at increasing the indicators of the phagocytic activity of peritoneal macrophages and increasing the activity of the classical pathway of activation of the complement system.

Ключевые слова: *Ganoderma lucidum*, экстракт плодовых тел, иммуностропная активность, биологически активные вещества, иммунный ответ.

Keywords: *Ganoderma lucidum*, fruit body extract, immunotropic activity, biologically active substances, immune response.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2021-2-62-65>