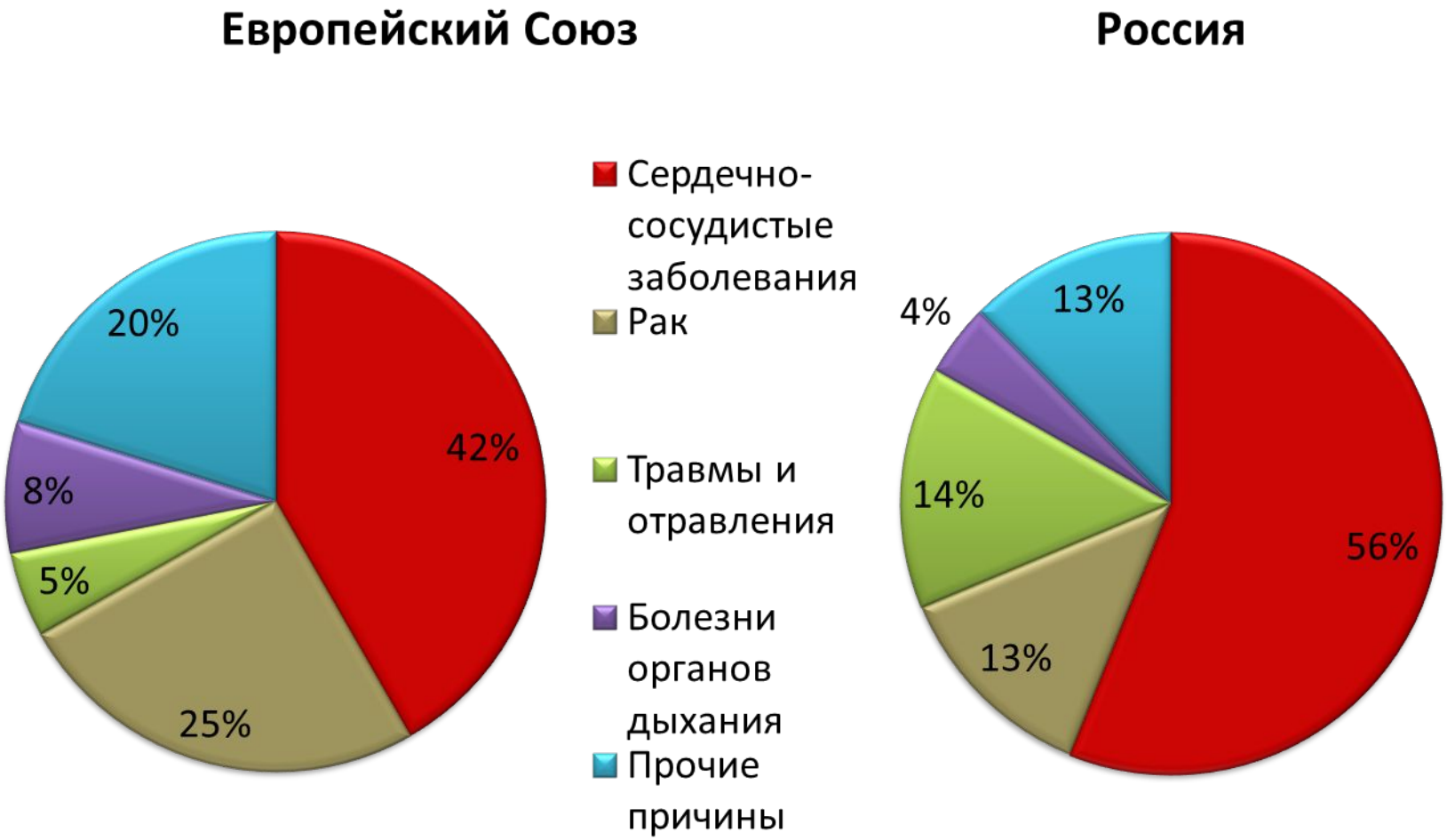
НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ГЕНОДИАГНОСТИКЕ И ТЕРАПИИ АТЕРОСКЛЕРОЗА

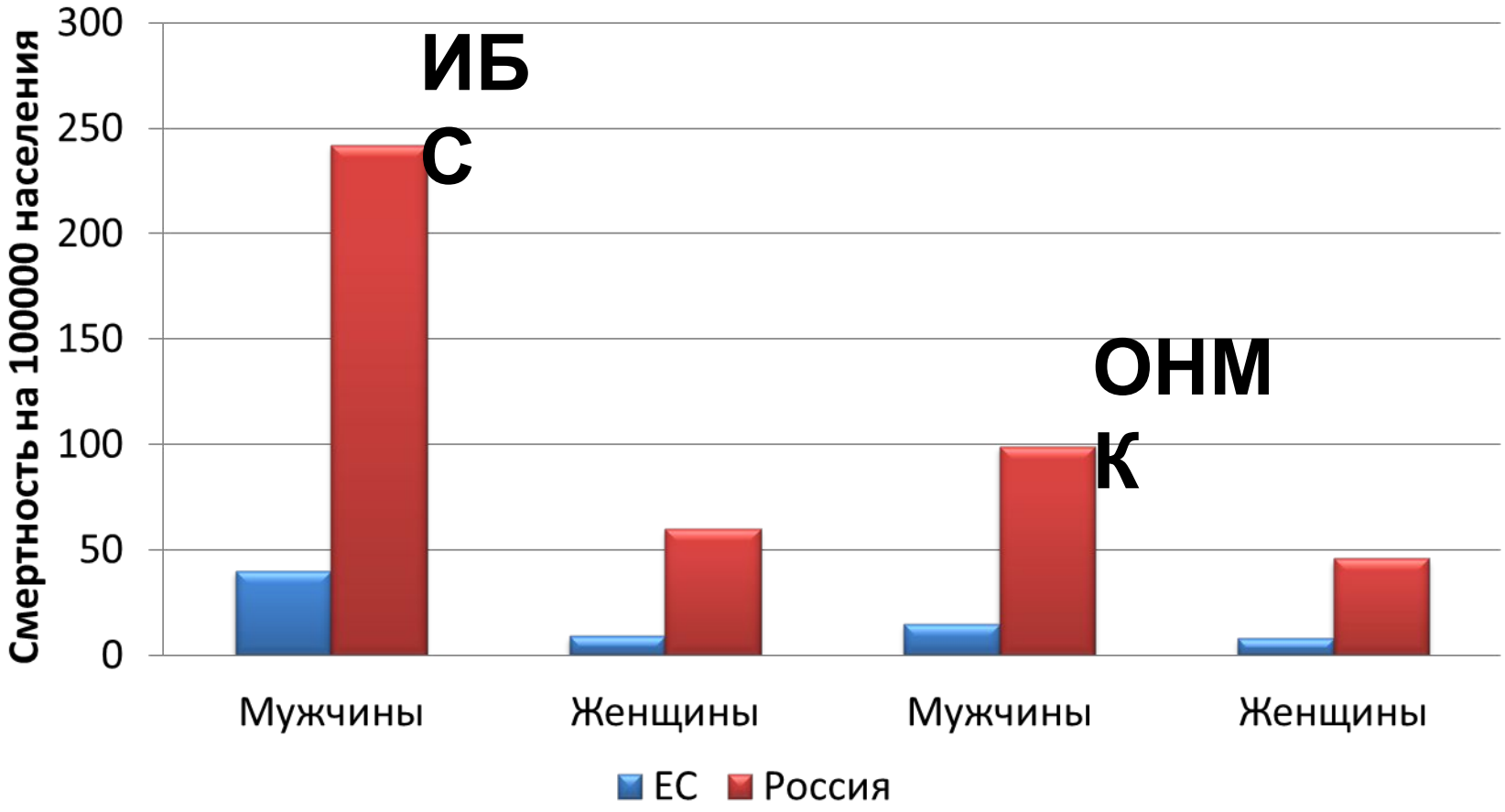
И.А. Собенин, д.м.н.
НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН

Смертность в ЕС и России



European Cardiovascular Disease statistics 2010

Стандартизованные показатели смертности от ИБС и ОНМК



European Cardiovascular Disease statistics 2010

Проблемы

- стратегические
  - атеросклероз не рассматривается как самостоятельная научная и медицинская проблема
  - большая часть населения нуждается в профилактике атеросклероза
  - отсутствует система надежной первичной профилактики атеросклероза
- тактические
  - отсутствуют надежные алгоритмы определения сердечно-сосудистого риска
  - отсутствует класс средств для массовой профилактики атеросклероза

Задачи

- разработка новых методов оценки риска развития атеросклероза и его клинических проявлений (решение – комплексный анализ генетических и фенотипических факторов риска)
- создание класса средств для массовой профилактики атеросклероза (решение – использование нелекарственных средств, обладающих антиатеросклеротическим действием)

Создание метода комплексной оценки риска развития сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений на основе анализа генотипа и фенотипа

Участники исследования

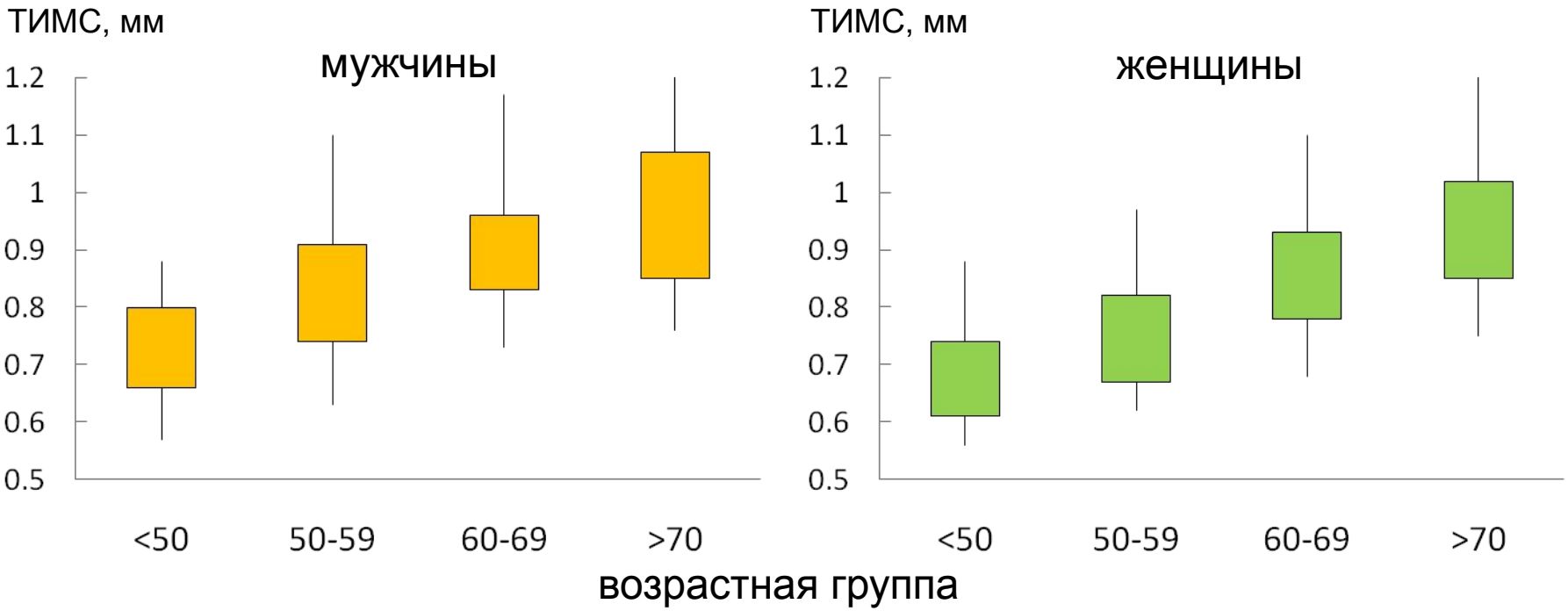
	Условно здоровые лица	Больные ИБС	Всего
Мужчины	429	132	561
Женщины	858	221	1079
Всего	1287	353	1640

Измеряемые биомаркеры

- фенотипические
  - антропометрические (пол, возраст, индекс массы тела)
  - клинические (артериальное давление, гипертрофия левого желудочка миокарда, курение, гипертония, сахарный диабет)
  - липидные (общий холестерин, холестерин ЛНП, холестерин ЛВП, триглицериды, липидный индекс атерогенности, **холестерин ЦИК***)
  - инструментальные (**толщина интимо-медиального слоя сонных артерий – 12 показателей***, **атеросклеротические бляшки***)
- генетические
  - семейный анамнез (отягощенная наследственность по ИБС, гипертонии, сахарному диабету)
  - мутации митохондриального генома (**11 маркеров и их сочетания***)

*** разработано в рамках данного исследования**

Разработаны ультразвуковые критерии предрасположенности к атеросклерозу в российской популяции, скорректированные по половой принадлежности и возрастной группе



Результаты получены на выборке их 1200 человек, не имеющих клинических проявлений атеросклероза (условно здоровых лиц). Ультразвуковое сканирование сонных артерий проводили в В-режиме с использованием линейного датчика 7,5 МГц. Толщину интимо-медиального слоя общих сонных артерий определяли с использованием аппаратно-программного комплекса M'Ath (IMT, Франция).

Принадлежность к 1-й квартили распределения следует расценивать как низкую предрасположенность к атеросклерозу, ко 2-3 квартили распределения – как возрастную норму, к 4-й квартили – как высокую предрасположенность к атеросклерозу.

Разработан метод количественного определения степени гетероплазмии митохондриального генома

Atherosclerosis 204 (2009) 184–190

Contents lists available at ScienceDirect

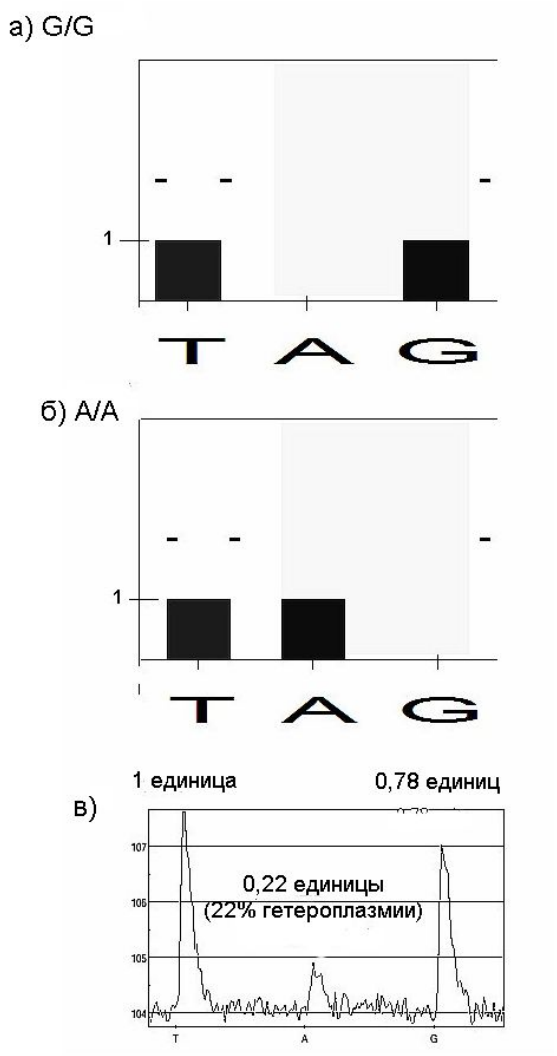
Atherosclerosis

journal homepage: www.elsevier.com/locate/atherosclerosis

Studies of the human aortic intima by a direct quantitative assay of mutant alleles in the mitochondrial genome

M. Sazonova[a,*], E. Budnikov[b,1], Z. Khasanova[b,1], I. Sobenin[a], A. Postnov[b,1], A. Orehov[a]

[a] Institute of General Pathology and Pathophysiology RAMS, 8 Baltiyskaya Str., Moscow 125315, Russia
[b] Russian Cardiology Research-and-Production Complex, 15a, 3rd Cherepkovskaya Str., Moscow 121552, Russia



Пример: детекция мутации G→A

а) теоретическая высота пиков нуклеотидов при гомоплазмии при отсутствии замены G→A в 100% митохондриальных хромосом

б) теоретическая высота пиков нуклеотидов при гомоплазмии при наличии замены G→A в 100% митохондриальных хромосом

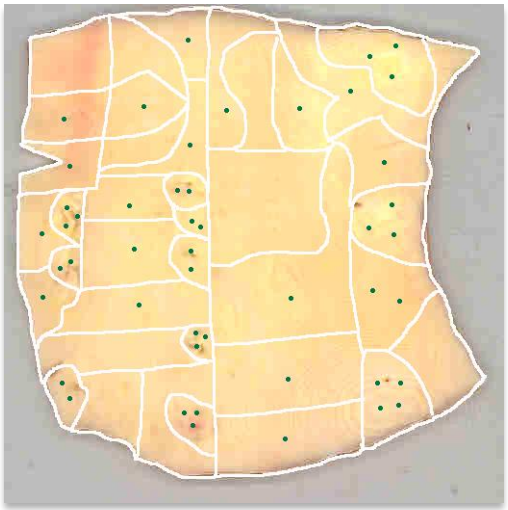
в) практическая пирограмма исследуемого образца ДНК (22% хромосом имеют мутантный аллель, то есть степень гетероплазмии составляет 22%)

Идентифицированы митохондриальные мутации, ассоциированные с атеросклеротическими поражениями артерий человека и клиническими проявлениями атеросклероза

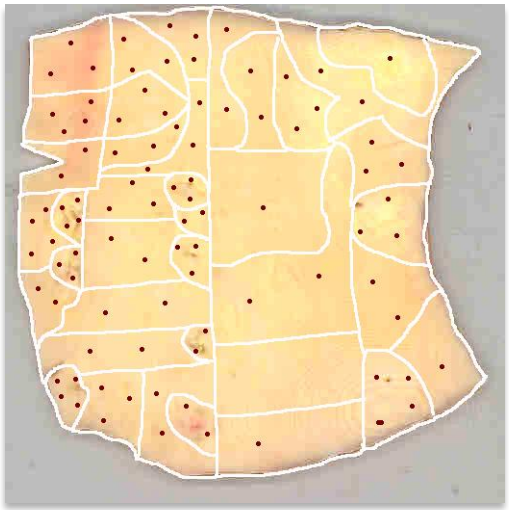
Ген	Мутация	Коэффициент корреляции			
		ТИМС	АСБ	ИБС	ИМ
MT-RNR1	insG	-0,168 *	-0,127	NS	NS
MT-TL1	C□T	0,363 **	0,333 **	0,153 *	0,147 *
MT-ND1	T□C	0,152 *	0,330 **	0,168 *	0,110
MT-TL2	G□A	0,308 **	0,372 **	0,153 *	0,146 *
MT-ND5	G□A	-0,357 **	-0,498 **	-0,197 *	-0,130
MT-ND6	G□A	NS	NS	-0,162 *	NS
MT-CYB	G□A (1)	NS	-0,164 *	NS	-0,130
MT-CYB	G□A (2)	0,317 **	0,221 **	NS	NS

ТИМС – средняя толщина интимо-медиального слоя общих сонных артерий;
АСБ – наличие и степень выраженности атеросклеротических бляшек в бассейне сонных артерий;
ИБС – наличие ишемической болезни сердца;
ИМ – перенесенный инфаркт миокарда.

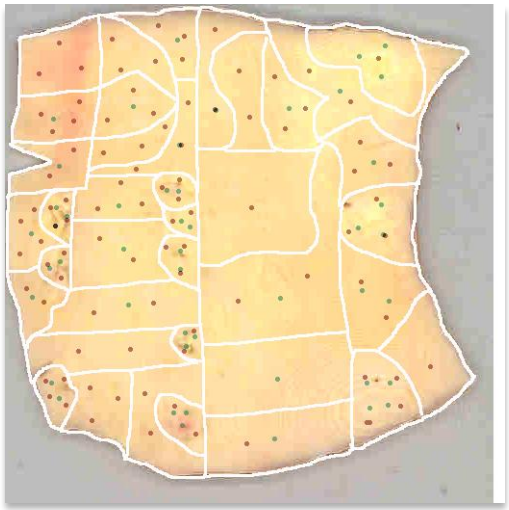
Генетико-морфологические ассоциации



атеросклеротическая нагрузка



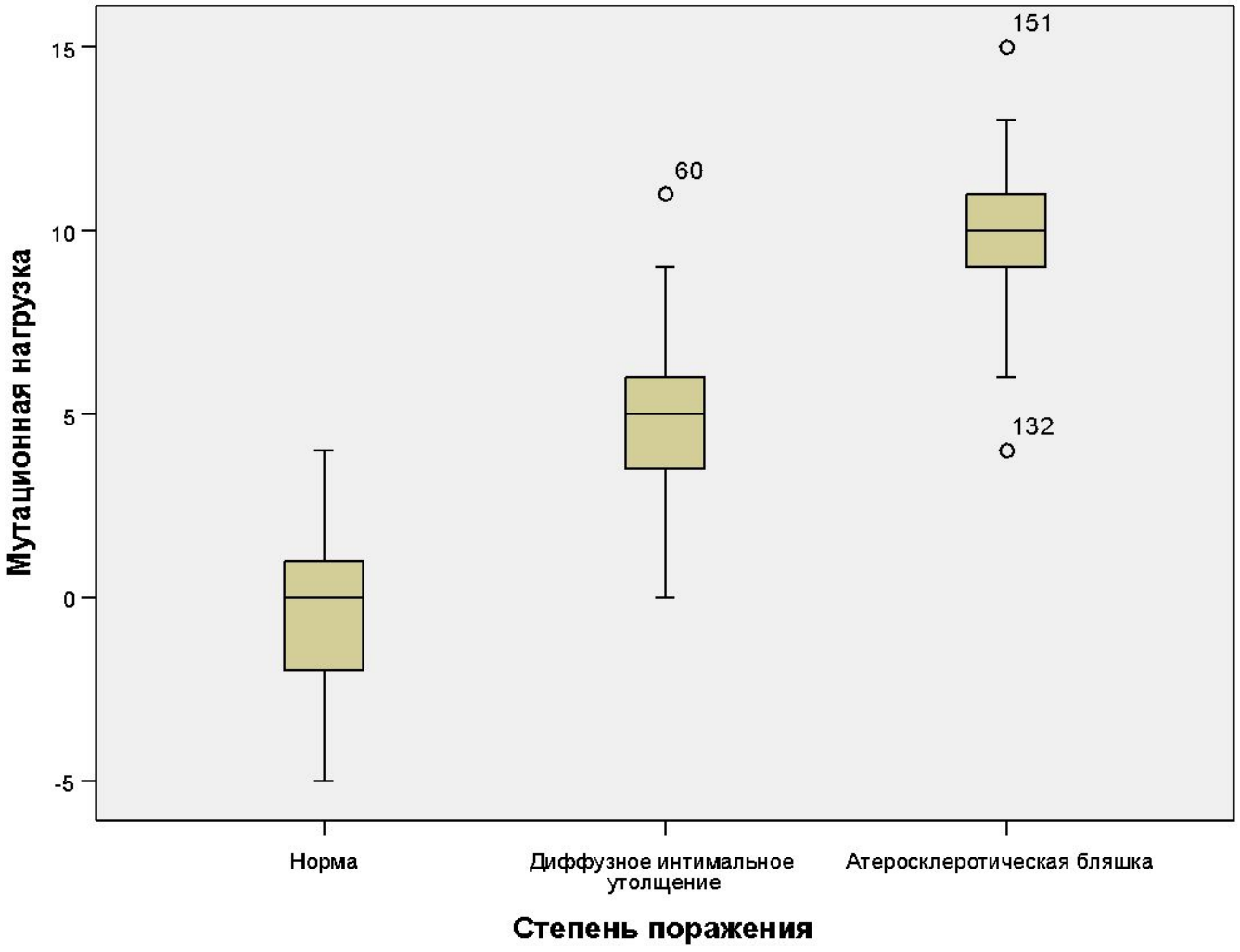
суммарная мутационная нагрузка



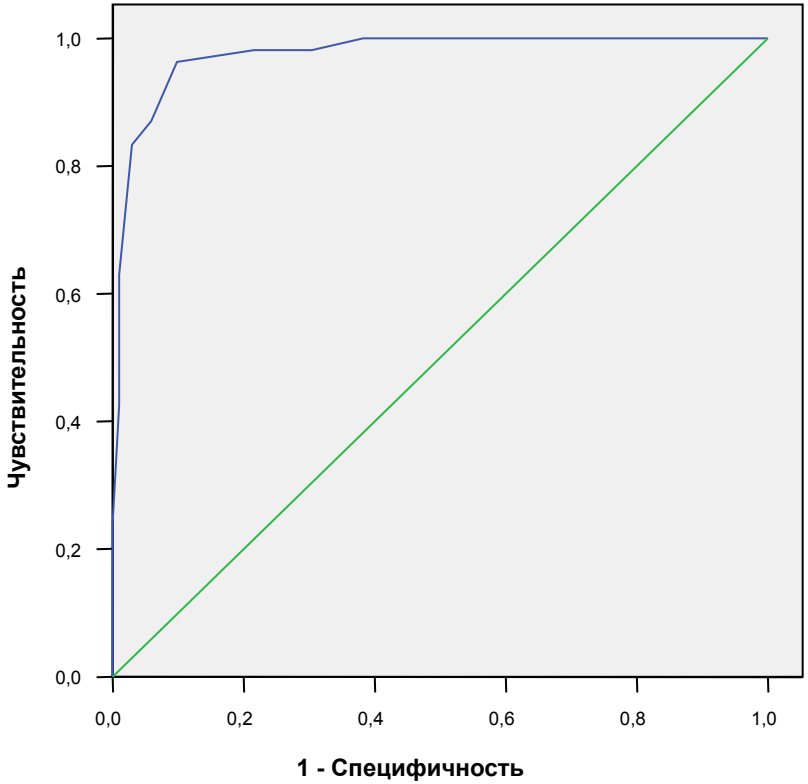
наложение карт нагрузки

Коэффициент корреляции между атеросклеротической и мутационной нагрузкой составляет 0,120 при $P<0,05$.

Выявлена связь суммарной мутационной нагрузки в лейкоцитах крови человека со степенью выраженности каротидного атеросклероза



Чувствительность и специфичность генетических маркеров в отношении бессимптомного атеросклероза



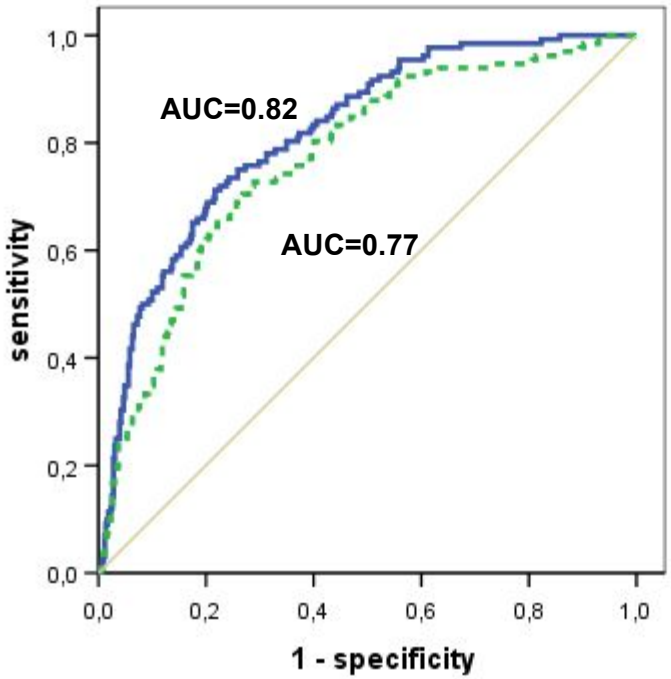
Положительным реальным состоянием является наличие атеросклеротической бляшки.

Площадь под ROC-кривой 0,975 (95% ДИ 0,954-0,966, p<0.0001)

Разработан метод комплексной оценки риска ишемической болезни сердца на основе анализа генотипа и фенотипа

Показатель	Разработанный метод	Фрамингемский алгоритм	Преимущество разработанного метода
Чувствительность	87,6%	66,7%	в 1,3 раза
Специфичность	86,7%	60,0%	в 1,5 раз
Точность	86,9%	61,9%	в 1,4 раза
Разрешающая способность	72,4%	40,0%	в 1,8 раз

Алгоритм оценки риска ИБС на основе анализа фенотипических маркеров



Фактор	Фраминге м	Москва
Возраст	+	+
САД	+	+
ДАД	-	+
Курение	+	+
ГЛЖ	+	+
Гипертония	-	+
Диабет	+	+
Холестерин	+	-
Холестерин ЛНП	-	+
Холестерин ЛВП	+	+
ТИМС	-	+

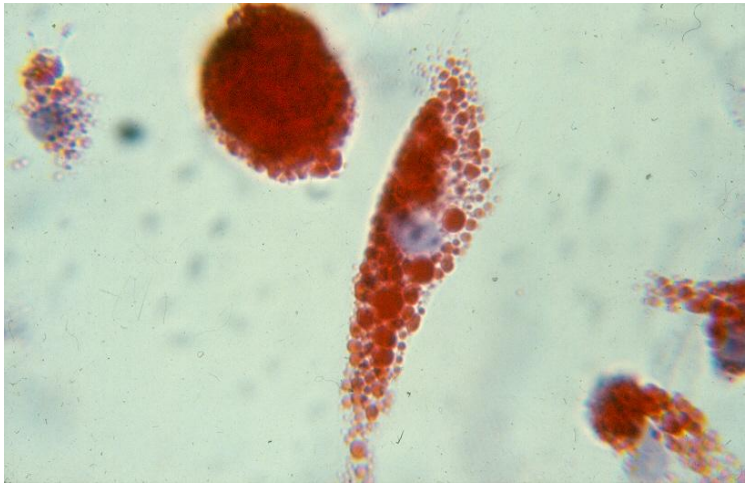
Московское исследование, 2007-2010

Разработка средств для массовой профилактики атеросклероза

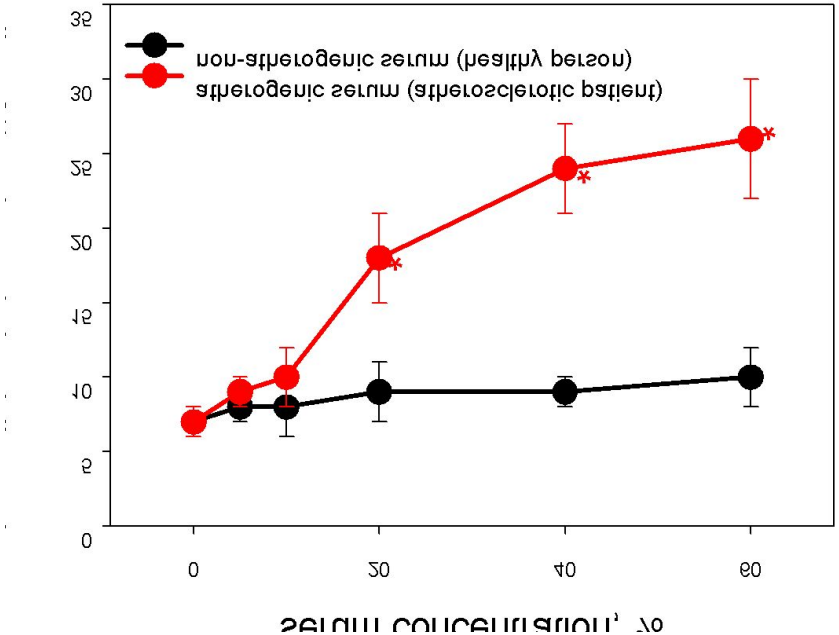
Принципы разработки

- патогенетическое действие
  - антиатерогенное
  - антицитокиновое
- биологически активные компоненты природного происхождения

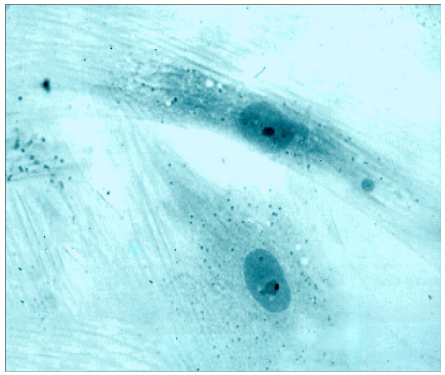
Внутриклеточный холестерин и атерогенность сыворотки крови



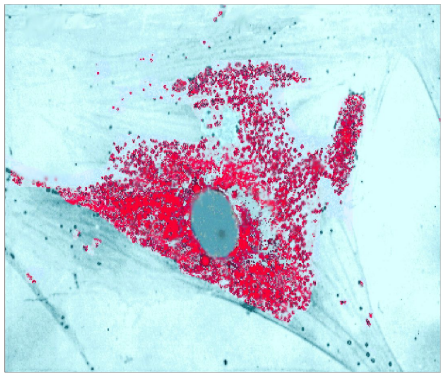
пенистые клетки из атеросклеротической бляшки



клетки из непораженной артериальной интимы



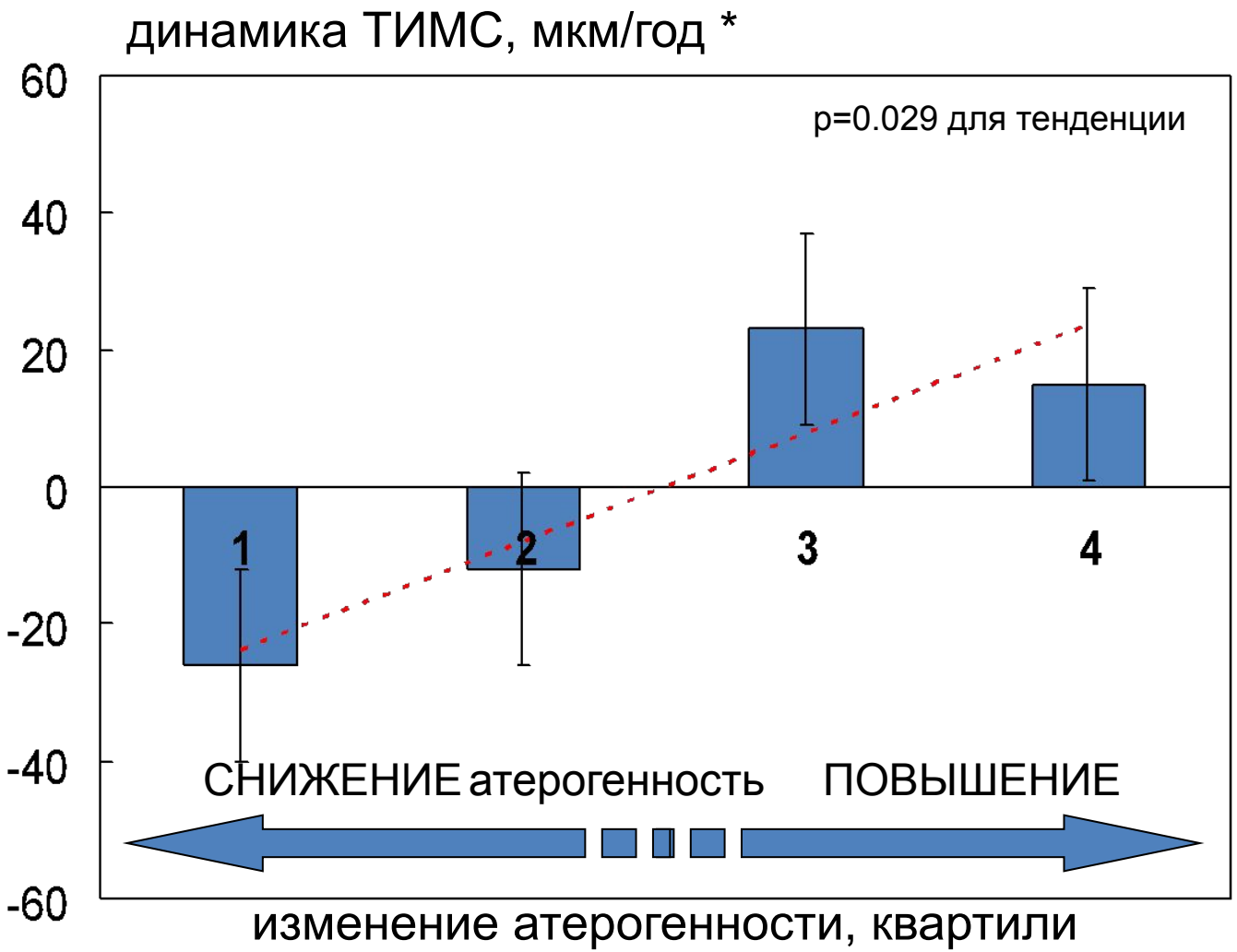
до



после

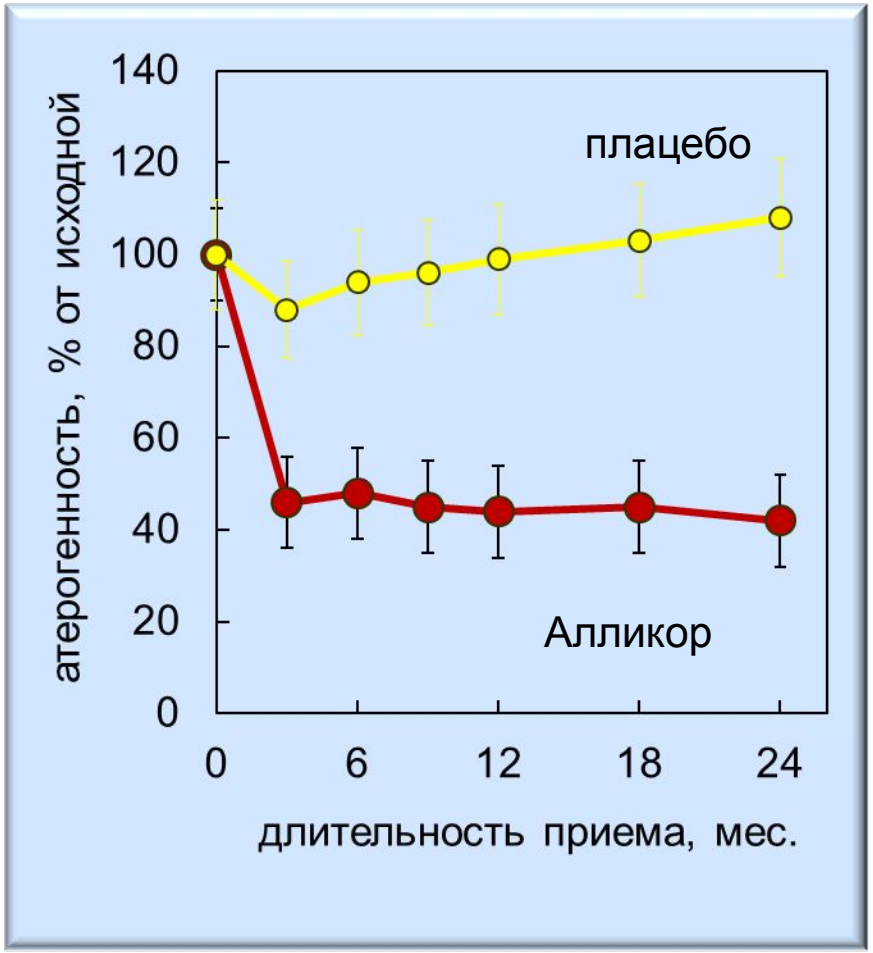
окраска Oil Red O

Изменение атерогенных свойств сыворотки крови и течение каротидного атеросклероза

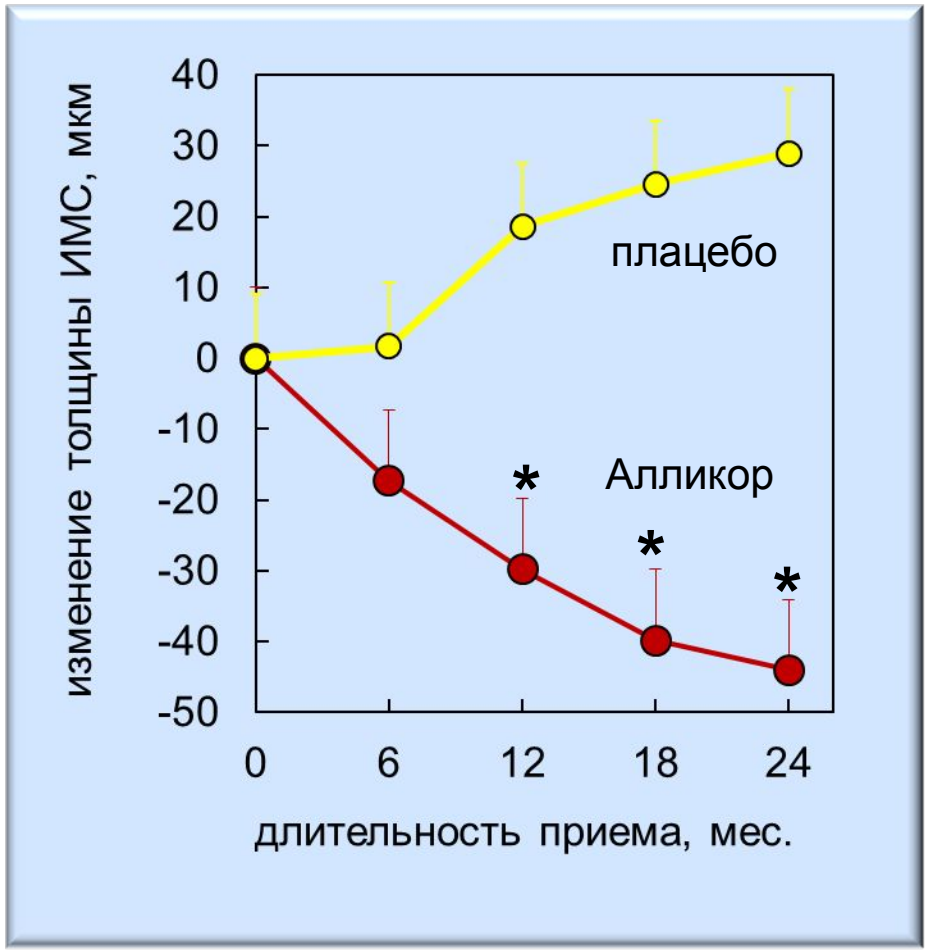


* с коррекцией по возрасту, САД, ДАД, холестерину ЛНП, холестерину ЛВП

Снижение атерогенности и регрессия атеросклероза

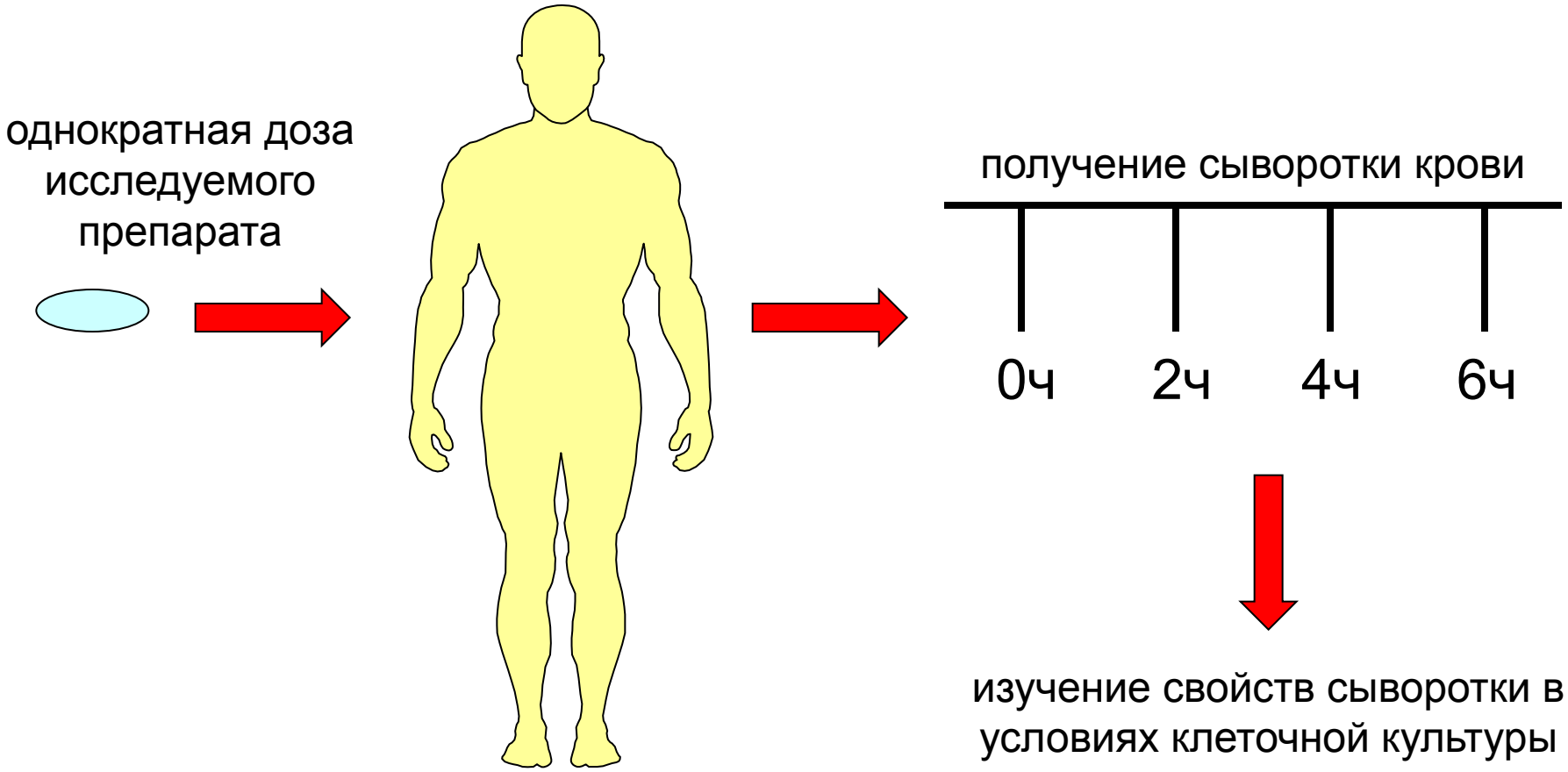


динамика атерогенности



динамика толщины ИМС

Тест-система *Ex Vivo*



Заключение

- Разработан способ оценки риска атеросклероза, сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений, основанный на количественном анализе точечных мутаций митохондриального генома и их сочетаний (гаплотипов)
- Разработан способ оценки риска атеросклероза, сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений, основанный на количественном ультразвуковом измерении толщины интимо-медиального слоя общих сонных артерий
- Разработана математическая модель комплексной оценки риска сердечно-сосудистых заболеваний с использованием генетических и фенотипических маркеров
- Разработаны средства для профилактики атеросклероза, обладающие патогенетическим действием и пригодные для массового применения