

На правах рукописи

НИКИТИН АЛЕКСЕЙ ГЕОРГИЕВИЧ

**ИССЛЕДОВАНИЕ АССОЦИАЦИИ РЯДА ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ С
ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА**

03.00.03 – молекулярная биология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2008

Работа выполнена в лаборатории молекулярной диагностики и геномной дактилоскопии ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов» (ФГУП «ГосНИИ генетика»).

Научный руководитель:

доктор биологических наук, профессор,
ФГУП «ГосНИИ генетики и селекции
промышленных микроорганизмов»,
г. Москва.

Носиков Валерий Вячеславович

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, Институт
молекулярной генетики РАН, г. Москва.

Сломинский Петр Андреевич

доктор медицинских наук, профессор,
Московский государственный медико-
стоматологический университет им. Н.А.
Семашко, г. Москва.

Терещенко Сергей Николаевич

Ведущая организация:

ГУ Медико-генетический научный центр
Российской академии медицинских наук (ГУ
МГНЦ РАМН, г. Москва).

Защита состоится «___» марта 2008 г. в 14 часов на заседании Диссертационного совета Д.217.013.01 при Государственном научно-исследовательском институте генетики и селекции промышленных микроорганизмов по адресу: 117545, Москва, 1-й Дорожный проезд, 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГУП «ГосНИИ генетика».

Реферат разослан «___» марта 2008 г.

Ученый секретарь

Диссертационного совета,
кандидат биологических наук

Г. Г. Заиграева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. В настоящее время сердечно-сосудистые заболевания являются основной причиной инвалидности и смертности в экономически развитых странах, при этом на долю ишемической болезни сердца (ИБС) и инфаркта миокарда приходится примерно две трети случаев смерти от сердечно-сосудистых заболеваний.

Известно, что данные сердечно-сосудистые патологии являются многофакторными заболеваниями с многочисленными звеньями патогенеза. Для таких заболеваний характерен сложный механизм формирования фенотипа, в основе которого лежит взаимодействие генетических факторов с факторами внешней среды. Исходя из современных представлений о механизмах развития ИБС, можно выделить группы так называемых генов-кандидатов, продукты которых могут быть прямо или косвенно вовлечены в развитие данной патологии.

Так как атеросклероз является основным этиологическим фактором ишемической болезни сердца, к генам-кандидатам, определяющим развитие ИБС и ее осложнений, можно отнести группу генов системы антиокислительной защиты, генов системы репарации ДНК и генов, кодирующих адоренорецепторы и рецепторы, активируемые пролифераторами пероксисом. Современная стратегия исследования генетической составляющей многофакторных заболеваний включает в себя поиск полиморфных маркеров в генах-кандидатах и оценку их ассоциации с заболеванием.

Установление ассоциации гена с заболеванием и последующая оценка индивидуального генетического риска имеют важное значение для разработки дифференцированного подхода к профилактике и лечению данной патологии и ее осложнений в зависимости от наследственной предрасположенности конкретного пациента. Поэтому в настоящее время одним из наиболее прогрессивных подходов является разработка стратегии ранней диагностики, прогнозирования и превентивной терапии заболевания с использованием генетических маркеров.

Цель и задачи работы. Целью данной работы было изучение ассоциации полиморфных маркеров ряда генов-кандидатов с развитием ишемической болезни сердца. Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Определить частоты аллелей и генотипов полиморфных маркеров генов, кодирующих рецептор, активируемый пролифератором пероксисом типа $\gamma 3$ (*PPARG3*), коак-

тиватор 1α рецептора, активируемого пролифератором пероксисом типа γ (*PPARGC1A*), рецептор, активируемый пролифератором пероксисом типа δ (*PPARD*), адоренорецепторы $\beta 1$, $\beta 2$ (*ADRB1*, *ADRB2*), фермент, превращающий ангиотензин I (*ACE*), $\beta 3$ -субъединицу G-белка (*GNB3*), поли(АДФ-рибоза)-полимеразу 1 (*ADPRT1*), поли(АДФ-рибоза)-гидролазу (*PARG*) и α -субъединицу цитохрома b(-245) (*CYBA*) в группе больных ишемической болезнью сердца и группе здоровых индивидов среди русских г. Москвы.

2. Провести сравнительный анализ распределения аллелей и генотипов полиморфных маркеров данных генов-кандидатов в исследованных выборках больных и здоровых индивидов для выявления ассоциации изученных маркеров с развитием болезни и определения вклада данных генов в наследственную предрасположенность к патологии.

Научная новизна работы. В данной работе впервые исследована ассоциация полиморфных маркеров *C(-681)G* гена *PPARG3*, *Gly482Ser* гена *PPARGC1A*, *T(-87)C* гена *PPARD*, *Ser49Gly* и *Gly389Arg* гена *ADRB1*, *Gly16Arg* и *Glu27Gln* гена *ADRB2*, *G7831A* гена *ACE*, *C825T* гена *GNB3*, *Leu64Phe* и *Val762Ala* гена *ADPRT1*, *A(-431)G* гена *PARG* и *Tyr72His* гена *CYBA* с ишемической болезнью сердца (ИБС). Обнаружена ассоциация полиморфного маркера *Tyr72His* гена *CYBA* с развитием ИБС. Установлено, что носители генотипа *Tyr/Tyr* данного полиморфного маркера имеют повышенный риск развития ИБС, тогда как носители генотипа *His/His* имеют пониженный риск развития ИБС. Обнаружена ассоциация полиморфного маркера *C825T* гена *GNB3* с развитием ИБС. Установлено, что носители аллеля *C* и генотипа *CC* данного полиморфного маркера имеют повышенный риск развития ИБС. Обнаружена ассоциация полиморфного маркера *T(-87)C* гена *PPARD* с развитием ИБС. Установлено, что носители аллеля *C* и генотипа *CC* данного полиморфного маркера имеют повышенный риск развития ИБС. Все вышеизложенные результаты получены впервые.

Практическая ценность работы. Показано, что исследованные полиморфные маркеры генов *CYBA*, *GNB3* и *PPARD* могут использоваться для прогноза течения заболевания у больных с ИБС. Выявление ассоциации полиморфных маркеров генов *CYBA*, *GNB3* и *PPARD* с развитием ИБС открывает новые перспективы в выделении групп пациентов с высоким риском развития патологии.

Апробация работы. Диссертационная работа была представлена на заседании Секции молекулярной биологии Ученого Совета ФГУП «ГосНИИ Генетика» 19 февраля

2008 г. Результаты настоящей работы докладывались на Российском национальном конгрессе кардиологов "Российская кардиология: от центра к регионам", г. Томск, Россия (12 – 14 октября 2004 г.); Российском национальном конгрессе кардиологов "От диспансеризации к высоким технологиям", Москва, Россия (10 – 12 октября 2006 г.); на международной конференции "From Human Genetic Variations to Prediction of Risks and Responses to Drugs and Environment", остров Санторин, Греция (29 сентября – 2 октября 2006 г.).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 11 печатных работ, включая 3 статьи, а также тезисы докладов и сообщений на конференциях.

Структура диссертации. Диссертация состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, описание использованных материалов и методов, результаты и их обсуждение, выводы и список литературы. Материалы диссертации изложены на 126 страницах машинописного текста и содержат 18 таблиц и 8 рисунков. В работе процитировано 174 зарубежных и 12 отечественных литературных источников.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Исследование ассоциации полиморфных маркеров ряда генов-кандидатов с ишемической болезнью сердца (ИБС).

Изучение ассоциации полиморфных маркеров генов-кандидатов с ИБС проводили, используя две группы пациентов, общая характеристика которых приведена в таблице 1. В исследование включались пациенты с ИБС, поступившие в стационар Городской клинической больницы (ГКБ) № 51. Диагноз ставили на основании клинических и биохимических исследований и данных коронароангиографии (у части больных). У части больных ИБС был диагностирован инфаркт миокарда (ИМ). Контрольная группа представляла собой случайную выборку пациентов, имеющих аналогичный профиль основных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний, у которых проведенная эхо- и электрокардиография не выявила достоверных признаков ИБС.

Выборки были этнически однородны и составлены из русских (на основании паспортных данных), проживающих в г. Москве. Геномную ДНК пациентов использовали для амплификации фрагментов ДНК, содержащих полиморфные маркеры ряда генов-кандидатов, предположительно вовлеченных в патогенез атеросклероза и ишемической болезни сердца.

Анализ нуклеотидных последовательностей осуществляли с помощью системы NCBI в сети Интернет (www.ncbi.nlm.nih.gov). Использовали следующие разделы: MapView (построение генетической карты), dbSNP (информация о полиморфных маркерах). Для подбо-

ра праймеров и рестриктаз использовали пакет программ Invitrogen Vector NTI Advance 10 (версия Education).

Таблица 1.

Общая характеристика обследованных групп больных с наличием ("ИБС+") и отсутствием ("ИБС–") ишемической болезни сердца.

Показатель	"ИБС+" (n = 313)	"ИБС–" (n = 132)
Возраст, лет (среднее значение ± S.D*)	60,2 ± 4,9	55,5 ± 9,0
Пол (мужчины / женщины)	167/146	69/63
Курящие	66	15
Сахарный диабет типа 2 в анамнезе	67	0
Систолическое давление (мм.рт.ст.)	137.1 ± 1.18	144.1 ± 1.82
Диастолическое давление (мм.рт.ст.)	81.7 ± 0.59	88.8 ± 0.97
Уровень холестерина (мм/л)	6.2 ± 0.09	5.6 ± 0.21
Уровень триглицеридов (мм/л)	2.56 ± 0.094	1.90 ± 0.17

*S.D. – стандартное отклонение

Идентификация аллелей полиморфных маркеров проводилась с использованием полимеразной цепной реакции, последующего расщепления фрагментов ДНК рестриктазами, и электрофоретического разделения фрагментов ДНК в 8%-ном полиакриламидном геле или 2%-ном агарозном геле.

1.1. Исследование ассоциации полиморфного маркера C(-681)G гена *PPARG3* с ИБС.

Продукт экспрессии гена *PPARG*, *PPARγ*, контролирует экспрессию генов, вовлеченных в регуляцию обмена жирных кислот и адипогенез. *PPARγ* существует в виде нескольких белковых изоформ, являющихся результатом альтернативного сплайсинга на 5'-конце гена *PPARG*. Точный механизм транскрипционного регулирования метаболизма сердечной мышцы семейством *PPARγ* до настоящего времени остается невыясненным, но ряд исследований показал, что наблюдается высокий уровень экспрессии этих транскрипционных факторов в миоцитах (Yamamoto et al., 2001; Asakawa et al., 2002; Gilde et al., 2003; Xu et al., 2005). Помимо прямого влияния на метаболизм сердечной мышцы, *PPARγ* является регуля-

тором энергетического баланса и ряд полиморфных маркеров в гене *PPARG* ассоциированы с повышенным индексом массы тела и распределением жировой ткани в организме, что является факторами риска для развития атеросклероза.

Известно несколько полиморфных маркеров в гене, кодирующем PPAR γ , и фланкирующих его областях. Из них наиболее изучен однонуклеотидный полиморфизм C/G в экзоне 1, приводящий к аминокислотной замене *Pro12Ala* в аминокислотной последовательности белка PPAR γ . Но по данным, полученным разными исследователями, этот полиморфизм не ассоциирован с развитием патологий сердечно-сосудистой системы (Al-Shali et al., 2004; Rhee et al., 2007; Wang et al., 2007). В нашей работе мы использовали малоизученный однонуклеотидный полиморфизм C(-681)G, который находится в промоторной области гена *PPARG*. Недавно было показано, что аллель G этого полиморфного маркера ассоциирован с повышенным индексом массы тела (Cecil et al., 2006), но других исследований ассоциации с патологиями сердечно-сосудистой системы не проводилось.

В нашей работе при исследовании распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера C(-681)G гена *PPARG3* в группах “ИБС+” и “ИБС-” статистически достоверных различий получено не было (табл. 2).

Таким образом, полиморфный маркер C(-681)G гена *PPARG3* не ассоциирован с развитием ИБС у русских г. Москвы.

Таблица 2.

Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера C(-681)G гена *PPARG3* в группах “ИБС+” и “ИБС-”.

Аллели и генотипы	Частота аллелей и генотипов		Значение χ^2	Уровень значимости <i>p</i>
	“ИБС+” (n = 313)	“ИБС-” (n = 132)		
Аллель C	0,773	0,788	0,23	0,63
Аллель G	0,227	0,212		
Генотип CC	0,601	0,629	0,32	0,85
Генотип CG	0,345	0,318		
Генотип GG	0,054	0,053		

1.2 Исследование ассоциации полиморфного маркера *Gly482Ser* гена *PPARGC1A* с ИБС.

Продукт экспрессии гена *PPARGC1A* играет ключевую роль в метаболизме клеток миокарда. Активация PGC-1 α в миоцитах сердца ведет к индукции генов, кодирующих ферменты системы перекисного окисления липидов (Lehman et al., 2000), а также активирует ряд транскрипционных факторов, таких как ERR α , ERR γ и NRF-1, которые стимулируют биогенез митохондрий и усиливают экспрессию генов, кодирующих компоненты системы переноса электронов в митохондриях (Huss et al., 2004). Белки семейства PGC-1 увеличивают активность транскрипционных факторов путем прямых белок-белковых взаимодействий и, помимо PGC-1 α , в это семейство входит также коактиваторы PGC-1 β и PGC-1 γ (Andersson et al., 2001; Lin et al., 2002; Lin et al., 2005; Finck et al., 2006; Soyol et al., 2006).

PGC-1 α и PGC-1 β экспрессируются в бурой жировой ткани, сердце, скелетных мышцах и почках (Puigserver et al., 1998). Несмотря на относительно большое количество информации об эффектах PGC-1 α в изолированных миоцитах и модельных системах, о его регуляторной роли в человеческом сердце известно мало. Пока неизвестно, уменьшается ли экспрессия или активность PGC-1 α при сердечно-сосудистых патологиях. В гене *PPARGC1A* обнаружен ряд полиморфных маркеров, которые показали ассоциацию с инсулинорезистентностью и сахарным диабетом типа 2 (Ek et al., 2001; Hara et al., 2002; Andrulionyte et al., 2004; Oberkofler et al., 2004). Однако остается неясным, ассоциированы ли эти полиморфные маркеры с заболеваниями сердечно-сосудистой системы.

Таблица 3.

Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера *Gly482Ser* гена *PPARGC1A* в группах “ИБС+” и “ИБС-”.

Аллели и генотипы	Частота аллелей и генотипов		Значение χ^2	Уровень значимости <i>p</i>
	“ИБС+” (n = 313)	“ИБС-” (n = 132)		
Аллель <i>Gly</i>	0,671	0,667	0,02	0,90
Аллель <i>Ser</i>	0,329	0,333		
Генотип <i>Gly/Gly</i>	0,431	0,409	0,56	0,76
Генотип <i>Gly/Ser</i>	0,479	0,515		
Генотип <i>Ser/Ser</i>	0,089	0,076		

В нашей работе мы использовали полиморфный маркер *Gly482Ser* гена *PPARGC1A*, расположенный в экзоне 8. Ряд новых исследований показал ассоциацию этого полиморфизма с сердечно-сосудистыми патологиями при сахарном диабете типа 2 (Lai et al., 2008) и гипертонией (Andersen et

al., 2005; Xie et al., 2007). Данные по изучению ассоциации этого полиморфного маркера с ИБС отсутствуют.

В нашей работе при исследовании распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера *Gly482Ser* гена *PPARGC1A* в группах “ИБС+” и “ИБС-” статистически достоверных различий получено не было (табл. 3). Таким образом, полиморфный маркер *Gly482Ser* гена *PPARGC1A* не ассоциирован с развитием ИБС у русских г. Москвы.

1.3. Исследование ассоциации полиморфного маркера *T(-87)C* гена *PPARD* с ИБС.

Белки семейства PPAR регулируют экспрессию генов с помощью связывания с регуляторными элементами в промоторных областях генов. Необходимым кофактором для них является рецептор ретиноидов X (RXR) и активность комплекса PPAR/RXR зависит от доступности лигандов для PPAR и RXR. Наиболее значимыми эндогенными лигандами для семейства PPAR являются длинноцепочечные жирные кислоты и их метаболиты. До недавних пор изоформы PPAR β/δ были мало изучены. PPAR β/δ экспрессируются во всех тканях тела, но в миоцитах наблюдается повышенный уровень экспрессии (Gilde et al., 2003). Было показано, что изоформы PPAR β/δ защищают миоциты от апоптоза, вызванного окислительным стрессом, с помощью увеличения экспрессии каталазы, которая разлагает перекись водорода (Pesant et al., 2006).

В гене *PPARD* обнаружен ряд полиморфизмов, для одного из которых, а именно *T(-87)C*, показана ассоциация с сахарным диабетом типа 2 (Andrulionyte et al., 2006), инсулинорезистентностью (Hu et al., 2006), метаболическим синдромом (Robitaille et al., 2007) и уровнем липопротеинов высокой плотности (Aberle et al., 2006).

Полиморфизм *T(-87)C* (также известен под обозначением *T294C*) находится в промоторной области гена *PPARD* на расстоянии 87 нуклеотидов от точки инициации трансляции. Было обнаружено, что этот полиморфизм оказывает влияние на связывание транскрипционного фактора Sp-1 и аллель *C* ассоциирован с повышенной транскрипционной активностью (Skogsberg et al., 2003). В этом же исследовании было установлено, что аллель *C* полиморфного маркера *T(-87)C* гена *PPARD* ассоциирован с пониженным уровнем липопротеинов низкой плотности, в то время как другие полиморфные маркеры (*C(-409)T*, *C73T* и *A255G*) не показали ассоциации с уровнями липопротеинов высокой и низкой плотности. В связи с этим в нашем исследовании мы анализировали полиморфный маркер *T(-87)C* гена *PPARD*, как наиболее вероятный функционально значимый полиморфизм промоторной области.

При анализе распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера *T(-87)C* гена *PPARD* (табл. 4) были обнаружены статистически достоверные различия. Было показано, что носители аллеля *C* и генотипа *CC* имеют повышенный риск развития ИБС ($OR = 1,43$ и $2,19$, соотв.), в то время как носители аллеля *T* и генотипа *TC* – пониженный риск ($OR = 0,28$ и $0,70$, соотв.).

Таблица 4.

Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера *T(-87)C* гена *PPARD* в группах “ИБС+” и “ИБС-”.

Аллели и генотипы	Частота аллелей и генотипов		Значение χ^2	Уровень значимости p	$OR [CI 95\%]$
	“ИБС+” (n = 313)	“ИБС-” (n = 132)			
Аллель <i>T</i>	0,347	0,432	5,77	0,02	0,70 [0,52 – 0,94]
Аллель <i>C</i>	0,653	0,568			1,43 [1,07 – 1,92]
Генотип <i>TT</i>	0,281	0,258	29,24	$4,7 \cdot 10^{-7}$	–
Генотип <i>TC</i>	0,131	0,348			0,28 [0,17 – 0,46]
Генотип <i>CC</i>	0,588	0,394			2,19 [1,45 – 3,32]

Таким образом, полиморфный маркер *T(-87)C* гена *PPARD* ассоциирован с развитием ИБС у русских г. Москвы.

1.4. Исследование ассоциации полиморфных маркеров *Ser49Gly* и *Gly389Arg* гена *ADRB1* с ИБС.

β -адренергические рецепторы играют важную роль в функционировании сердечно-сосудистой системы и развитии ее заболеваний. β_1 -рецепторы превалирует в сердце, составляя примерно 80% от всех бета-рецепторов миокарда, а β_1 - и β_2 -рецепторы в почках стимулируют высвобождение ренина, который активирует ренин-ангиотензин-альдостероновую систему. β_2 -рецепторы также находятся в артериях, где их стимуляция ведет к расширению сосудов. β_3 -рецепторы были обнаружены относительно недавно и их роль до конца не установлена (Johnson et al., 2002).

Роль бета-адренорецепторов в работе сердечно-сосудистой системы подтверждается широким применением лекарственных средств, действие которых основано на связывании с β -рецепторами. Бета-адреноблокаторы используются при лечении хронических заболеваний сердца, гипертонии, инфаркта миокарда и т.д.

Исходя из этого, представляется интересным исследовать вклад генетических полиморфизмов генов, кодирующих бета-адренорецепторы, в развитие сердечно-сосудистых патологий, таких как ИБС.

Полиморфизмы в гене *ADRB1*, который кодирует β 1-рецептор, были обнаружены в 1999 г. (Maqbool et al., 1999). Наиболее изученными являются полиморфные маркеры *Ser49Gly* и *Gly389Arg*, так как они имеют удобные для исследований по схеме «случай-контроль» частоты минорных аллелей. Позже были найдены еще 12 однонуклеотидных полиморфизмов, пять из которых приводили к замене аминокислоты в аминокислотной последовательности белка, но так как все эти полиморфизмы обнаружены одной группой исследователей, требуется независимое подтверждение их существования (Podlowski et al., 2000).

Было показано, что полиморфизм *Ser49Gly*, который находится на N-концевом внеклеточном участке рецептора, не оказывает какого-либо эффекта ни на связывание лиганда с рецептором, ни на эффективность связывания с G-белком, но при длительном взаимодействии с агонистами плотность рецепторов с вариантом *Ser49* оказывается на 25% выше плотности рецепторов с вариантом *49Gly*. Дальнейшие исследования подтвердили, что вариант *Ser49* имеет более высокий уровень экспрессии чем *49Gly* (Rathz et al., 2002), что безусловно оказывает влияние на степень активации симпатической нервной системы и течение заболеваний, связанных с этим.

Таблица 5.

Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера *Ser49Gly* гена *ADRB1* в группах «ИБС+» и «ИБС-».

Аллели и генотипы	Частота аллелей и генотипов		Значение χ^2	Уровень значимости p
	«ИБС+» (n = 313)	«ИБС-» (n = 132)		
Аллель <i>Ser</i>	0,915	0,913	0,01	0,90
Аллель <i>Gly</i>	0,085	0,087		
Генотип <i>Ser/Ser</i>	0,840	0,833	0,10	0,95
Генотип <i>Ser/Gly</i>	0,150	0,159		
Генотип <i>Gly/Gly</i>	0,010	0,008		

вой для варианта *Gly389* (Mason et al., 1999).

Все эти данные позволяют предположить, что полиморфизмы *Ser49Gly* и *Gly389Arg* гена *ADRB1* имеют функциональную значимость и могут влиять на процессы лиганд-

рецепторных взаимодействий в клетке. Был проведен ряд исследований для изучения ассоциации этих полиморфных маркеров с гипертонией (Bengtsson, Melander et al., 2001; Ranade et al., 2002) и сердечной недостаточностью (Tesson et al., 1999; Borjesson et al., 2000). К сожалению, полученные данные противоречивы и скудны, что требует более широких исследований этих несомненно интересных полиморфизмов.

Таблица 6.

Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера *Gly389Arg* гена *ADRB1* в группах «ИБС+» и «ИБС-».

Аллели и генотипы	Частота аллелей и генотипов		Значение χ^2	Уровень значимости p
	«ИБС+» (n = 313)	«ИБС-» (n = 132)		
Аллель <i>Arg</i>	0,773	0,780	0,05	0,82
Аллель <i>Gly</i>	0,227	0,220		
Генотип <i>Arg/Arg</i>	0,601	0,629	0,92	0,63
Генотип <i>Arg/Gly</i>	0,345	0,303		
Генотип <i>Gly/Gly</i>	0,054	0,068		

Ser49Gly и *Gly389Arg* гена *ADRB1* не ассоциированы с развитием ИБС у русских г. Москвы.

В нашей работе при исследовании распределения частот аллелей и генотипов полиморфных маркеров *Ser49Gly* и *Gly389Arg* гена *ADRB1* в группах «ИБС+» и «ИБС-» статистически достоверных различий получено не было (табл. 5–6). Таким образом, полиморфные маркеры

1.5. Исследование ассоциации полиморфных маркеров *Gly16Arg* и *Glu27Gln* гена *ADRB2* с ИБС.

К настоящему времени обнаружено 11 полиморфизмов в гене *ADRB2*, который кодирует β 2-адренорецептор, четыре из которых приводят к заменам аминокислот в позициях 16, 27, 34 и 164 (Liggett, 1997). Полиморфный маркер *Val34Met* имеет очень низкую частоту встречаемости минорного аллеля и малоинтересен для исследований ассоциации с сердечно-сосудистыми заболеваниями.

Функциональные эффекты полиморфизмов *Gly16Arg* и *Glu27Gln* были исследованы в нескольких работах (Green et al., 1994; Green et al., 1995; Chong et al., 2000), но никакого влияния на лиганд-рецепторное взаимодействие или экспрессию обнаружено не было.

Множество исследований ассоциации этих полиморфных маркеров с гипертонией (Timmermann et al., 1998; Gratze et al., 1999; Busjahn et al., 2000; Rosmond et al., 2000; Bengtsson, Orho-Melander et al., 2001) и сердечной недостаточностью (Liggett et al., 1998; Wagoner et al., 2000) не обнаружили значимых ассоциаций полиморфизмов *Gly16Arg* и *Glu27Gln* гена *ADRB2* с заболеваниями, но одно из исследований показало изменение соот-

ношения $\beta 1$ - и $\beta 2$ -рецепторов в сердце от 80:20 к 60:40 при сердечной недостаточности, что указывает на возможную роль полиморфных маркеров гена *ADRB2* в течении заболевания (Bristow, 2000).

Таблица 7.

Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера *Gly16Arg* гена *ADRB2* в группах “ИБС+” и “ИБС-”.

Аллели и генотипы	Частота аллелей и генотипов		Значение χ^2	Уровень значимости <i>p</i>
	“ИБС+” (n = 313)	“ИБС-” (n = 132)		
Аллель <i>Gly</i>	0,695	0,682	0,15	0,70
Аллель <i>Arg</i>	0,305	0,318		
Генотип <i>Gly/Gly</i>	0,466	0,477	1,95	0,38
Генотип <i>Gly/Arg</i>	0,457	0,409		
Генотип <i>Arg/Arg</i>	0,077	0,114		

Таблица 8.

Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера *Glu27Gln* гена *ADRB2* в группах “ИБС+” и “ИБС-”.

Аллели и генотипы	Частота аллелей и генотипов		Значение χ^2	Уровень значимости <i>p</i>
	“ИБС+” (n = 313)	“ИБС-” (n = 132)		
Аллель <i>Glu</i>	0,577	0,545	0,74	0,39
Аллель <i>Gln</i>	0,423	0,455		
Генотип <i>Glu/Glu</i>	0,403	0,386	1,06	0,59
Генотип <i>Glu/Gln</i>	0,348	0,318		
Генотип <i>Gln/Gln</i>	0,249	0,295		

те, интересным представляется дальнейшее изучение эти полиморфизмов в области фармакогеномики препаратов, применяемых при лечении ИБС и гипертонии, таких как бета-адреноблокаторы.

1.6. Исследование ассоциации полиморфного маркера *G7831A* гена *ACE* с ИБС.

Регуляция кровообращения осуществляется за счет сложного взаимодействия двух прессорных систем – симпато-адреналовой и ренин-ангиотензиновой. Ренин-ангиотензиновая система (РАС) отвечает за регуляцию тонуса кровеносных сосудов, поддержание водно-солевого гомеостаза, обеспечивает питание и стимулирует пролиферацию клеток гладкой мускулатуры сосудов и миокарда. Таким образом, РАС напрямую вовлечена в физиологическую регуляцию кровяного давления, и гены, кодирующие компоненты данной системы, могут рассматриваться в качестве генов-кандидатов, чьи продукты участвуют в развитии сосудистых патологий. Помимо общесистемных существуют автономные и специфичные локальные РАС (сосудистые, миокардиальная). Фермент ренин (синтезируется юктагломерулярными клетками почек), являясь дипептидилкарбоксипептидазой, катализирует реакцию превращения неактивного белка ангиотензиногена, секретруемого печенью, в ангиотензин I (AI) (*Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu*). Последний, в свою очередь, под действием другой карбоксипептидазы (фермента, превращающего ангиотензин I, локализованного на поверхности клеток эндотелия) превращается в регуляторный вазоактивный октапептид ангиотензин II (AII) (*Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe*). AII повышает артериальное давление, вызывая спазм артериол.

Наиболее изученным полиморфизмом гена *ACE*, кодирующего фермент, превращающий ангиотензин I, является полиморфизм типа вставка/отсутствие вставки (insertion/deletion, *I/D*). Показано, что полиморфизм типа *I/D* связан со степенью экспрессии данного гена и, следовательно, с содержанием фермента в плазме. К настоящему времени накоплено множество данных об ассоциации *I/D* полиморфизма гена *ACE* с инфарктом миокарда (Cambien et al., 1992; Tiret et al., 1993; Kamitani et al., 1995), заболеваниями почек (Tanaka et al., 1998) и сосудистыми осложнениями сахарного диабета (Fujisawa et al., 1995; Keavney et al., 1995; Huang et al., 1998). Но работы, посвященные изучению ассоциации этого и других полиморфных маркеров гена *ACE* с ИБС, показали как наличие предрасположенности, так и ее отсутствие в зависимости от рассматриваемых факторов риска, что требует дальнейшего изучения взаимосвязи полиморфизмов гена *ACE* и клинических проявлений сердечно-сосудистых патологий. Нами был выбран полиморфный маркер *G7831A*, расположенный в интроне 7 гена *ACE*.

Таблица 9. Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера *G7831A* гена *ACE* в группах “ИБС+” и “ИБС-”.

Аллели и генотипы	Частота аллелей и генотипов		Значение χ^2	Уровень значимости p
	“ИБС+” (n = 313)	“ИБС-” (n = 132)		
Аллель <i>A</i>	0,401	0,333	3,60	0,06
Аллель <i>G</i>	0,599	0,667		
Генотип <i>AA</i>	0,131	0,091	4,14	0,13
Генотип <i>AG</i>	0,540	0,485		
Генотип <i>GG</i>	0,329	0,424		

ИБС у русских г. Москвы.

1.7. Исследование ассоциации полиморфных маркеров *Leu54Phe* и *Val762Ala* гена *ADPRT1* с ИБС.

Поли(АДФ-рибоза)-полимераза (PARP1) играет существенную роль в распознавании повреждений и репарации ДНК. PARP1 интенсивно связывается с одиночными и двойными разрывами ДНК, образовавшимися при непосредственном повреждении ДНК или при ферментативном воздействии во время репарации ДНК. Дальнейший процесс синтеза поли(АДФ-рибозы) предшествует началу репарации поврежденной ДНК. Цепи полимера, синтезированные в ядрах в ответ на мутагенное воздействие, распадаются через 1–2 минуты после завершения их синтеза благодаря действию гидролазы поли(АДФ-рибозы) – PARP.

Недавние исследования показали патогенетическую роль окислительного стресса и сопутствующих процессов, таких как активация металлопротеиназ (семейство MMP) и поли(АДФ-рибоза)-полимеразы, в различных формах сердечно-сосудистых патологий (Li et al., 2001; Sorescu et al., 2002; Tyagi et al., 2003; Berry et al., 2004; Ferrari et al., 2004; Szabo et al., 2004). Была продемонстрирована повышенная активность поли(АДФ-рибоза)-полимеразы в тканях сердца при сердечной недостаточности по сравнению со здоровыми донорами, что явилось клеточным ответом на возросшие уровни конечных продуктов гликозилирования вследствие окислительного стресса (Molnar et al., 2006).

В нашей работе при исследовании распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера *G7831A* гена *ACE* в группах “ИБС+” и “ИБС-” статистически достоверных различий получено не было (табл. 9). Таким образом, полиморфный маркер *G7831A* гена *ACE* не ассоциирован с развитием

Таблица 10. Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера *Leu54Phe* гена *ADPRT1* в группах “ИБС+” и “ИБС-”.

Аллели и генотипы	Частота аллелей и генотипов		Значение χ^2	Уровень значимости p
	“ИБС+” (n = 313)	“ИБС-” (n = 132)		
Аллель <i>Leu</i>	0,390	0,462	4,01	0,05
Аллель <i>Phe</i>	0,610	0,538		
Генотип <i>Leu/Leu</i>	0,185	0,288	5,82	0,05
Генотип <i>Leu/Phe</i>	0,409	0,348		
Генотип <i>Phe/Phe</i>	0,406	0,364		

Таблица 11.

Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера *Val762Ala* гена *ADPRT1* в группах “ИБС+” и “ИБС-”.

Аллели и генотипы	Частота аллелей и генотипов		Значение χ^2	Уровень значимости p
	“ИБС+” (n = 313)	“ИБС-” (n = 132)		
Аллель <i>Val</i>	0,850	0,879	1,28	0,26
Аллель <i>Ala</i>	0,150	0,121		
Генотип <i>Val/Val</i>	0,760	0,803	1,01	0,60
Генотип <i>Val/Ala</i>	0,179	0,152		
Генотип <i>Ala/Ala</i>	0,061	0,045		

PARP1, состоит из двух функционально различающихся частей: N-концевого ДНК-связывающего и C-концевого каталитического доменов. Между ними находится домен аутомодификации. Известен ряд полиморфизмов в этом гене из которых наиболее изученными являются *Leu54Phe*, расположенный в экзоне 2 в области «цинковых пальцев», и *Val762Ala*, расположенный в экзоне 17 в начале каталитического домена. Исследований ассоциации этих полиморфных маркеров с ИБС или другими сердечно-сосудистыми патологиями до настоящего времени не проводилось.

В нашей работе при исследовании распределения частот аллелей и генотипов полиморфных маркеров *Leu54Phe* и *Val762Ala* гена *ADPRT1* в группах “ИБС+” и “ИБС-” статистически достоверных различий получено не было (табл. 10–11), но полученные значения

Очевидно, что гены, кодирующие компоненты ферментных систем, участвующих в защите клеток от воздействия окислительного стресса и свободных радикалов, являются генами-кандидатами для изучения ассоциации с развитием атеросклероза и дальнейших осложнений, так как окислительный стресс стал рассматриваться в последнее время как один из главных факторов возникновения атеросклеротических бляшек и эндотелиальных дисфункций.

Ген *ADPRT1*, кодирующий поли(АДФ-рибоза)-полимеразу

уровней значимости для аллелей и генотипов полиморфного маркера *Leu54Phe* указывают на возможную малочисленность выборки, что не позволило обнаружить ассоциацию с ИБС. На основе полученных данных можно говорить о тенденции повышения частоты генотипа *Phe/Phe* и понижения частоты генотипа *Leu/Leu* в группе “ИБС+” и о возможном предрасполагающем и защитном действиях этих генотипов соответственно.

Таким образом, полиморфные маркеры *Leu54Phe* и *Val762Ala* гена *ADPRT1* не ассоциированы с развитием ИБС у русских г. Москвы.

1.8. Исследование ассоциации полиморфного маркера *A(-431)G* гена *PARG* с ИБС.

Ген *PARG* кодирует недавно открытую гидролазу поли(АДФ-рибозы) и действует в клетке в тесном взаимодействии с поли(АДФ-рибоза)-полимеразой. В настоящий момент основная часть исследований посвящена установлению структуры и функций поли(АДФ-рибоза)-гидролазы и данные по изучению ассоциации гена *PARG* с какими-либо заболеваниями отсутствуют. Для изучения ассоциации с ИБС нами был выбран однонуклеотидный полиморфизм *A(-431)G*, расположенный в промоторной области гена *PARG*.

Таблица 12.

Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера *A(-431)G* гена *PARG* в группах “ИБС+” и “ИБС-”.

Аллели и генотипы	Частота аллелей и генотипов		Значение χ^2	Уровень значимости p
	“ИБС+” (n = 313)	“ИБС-” (n = 132)		
Аллель <i>A</i>	0,800	0,761	1,69	0,19
Аллель <i>G</i>	0,200	0,239		
Генотип <i>AA</i>	0,681	0,621	1,48	0,48
Генотип <i>AG</i>	0,240	0,280		
Генотип <i>GG</i>	0,080	0,098		

В нашей работе при исследовании распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера *A(-431)G* гена *PARG* в группах “ИБС+” и “ИБС-” статистически достоверных различий получено не было (табл. 12).

Таким образом, полиморфный маркер

A(-431)G гена *PARG* не ассоциирован с развитием ИБС у русских г. Москвы.

1.9. Исследование ассоциации полиморфного маркера *C242T* гена *CYBA* с ИБС.

Выше была отмечена роль окислительного стресса в развитии сердечно-сосудистых патологий. Потенциальными источниками высокореакционных частиц в сердце являются митохондрии, NO-синтаза и оксидазы НАДФ. Все оксидазы НАДФ состоят из каталити-

ческой субъединицы Nox (существует пять подтипов Nox1-5) и субъединицы с низкой молекулярной массой p22rhox, общей для всех оксидаз НАДФ. Было установлено, что экспрессия Nox2, Nox4 (эти субъединицы являются основными субъединицами НАДФ-оксидаз в сердце) и p22rhox увеличивается после инфаркта миокарда (Fukui et al., 2001), а количество супероксидных радикалов, образуемых оксидазами НАДФ, возрастает при различных эндотелиальных дисфункциях (Bauersachs et al., 1999). Все это дает основания предполагать, что полиморфные маркеры в генах, кодирующих субъединицы НАДФ-оксидаз, могут быть ассоциированы с развитием различных сердечно-сосудистых патологий.

Наиболее изученным полиморфным маркером гена, кодирующего субъединицу p22rhox, является полиморфизм *C/T* в положении 242 мРНК, которому соответствует аминокислотная замена His на Tug в положении 72 аминокислотной последовательности белка p22rhox. Ряд исследований обнаружили ассоциацию этого полиморфного маркера с неблагоприятными исходами при ИБС (Kuroda et al., 2007), гипертонией (Moreno et al., 2006) и ишемической болезнью сердца (Mata-Balaguer et al., 2004) в различных европейских популяциях, но подобных исследований среди русских не проводилось.

При анализе распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера *C242T* гена *CYBA* (табл. 13) были обнаружены статистически достоверные различия. Было показано, что носители аллеля *T* и генотипа *TT* имеют повышенный риск развития ИБС ($OR = 1,49$ и $3,90$, соотв.), в то время как носители аллеля *C* – пониженный риск ($OR = 0,67$).

Таким образом, полиморфный маркер *C242T* гена *CYBA* ассоциирован с развитием ИБС у русских г. Москвы.

Таблица 13.

Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера *C242T* гена *CYBA* в группах “ИБС+” и “ИБС-”.

Аллели и генотипы	Частота аллелей и генотипов		Значение χ^2	Уровень значимости p	$OR [CI 95\%]$
	“ИБС+” (n = 313)	“ИБС-” (n = 132)			
Аллель <i>C</i>	0,746	0,814	4,85	0,03	0,67 [0,47 – 0,96]
Аллель <i>T</i>	0,254	0,186			1,49 [1,04 – 2,14]
Генотип <i>CC</i>	0,601	0,659	7,31	0,03	0,69 [0,49 – 0,99]
Генотип <i>CT</i>	0,291	0,311			–
Генотип <i>TT</i>	0,109	0,030			3,90 [1,36 – 11,22]

1.10. Исследование ассоциации полиморфного маркера *C825T* гена *GNB3* с ИБС.

G-белки экспрессируются во всех клетках человеческого организма и играют главную роль в передаче сигналов от множества рецепторов с поверхности клетки. G-белки являются гетеротримерами и состоят из α -, β - и γ -субъединиц. Семейство G-белков насчитывает 18 α -субъединиц, 5 β -субъединиц и 12 γ -субъединиц, кодируемых различными генами (Downes et al., 1999), что позволяет образовывать различные варианты гетеротримеров. Было показано, что вид α -, β - и γ -субъединиц определяет специфичность образуемого ими G-белка (Gautam et al., 1998).

Из-за ключевого положения G-белков в системе передачи сигналов, предполагается, что мутации, изменяющие экспрессию или структуру этих белков, вносят свой вклад в большое количество заболеваний. Было найдено большое количество полиморфизмов в генах, кодирующих различные субъединицы G-белков, но наиболее интересным оказался полиморфный маркер *C825T* гена *GNB3*, который кодирует G β 3-субъединицу. Этот полиморфизм расположен в экзоне 10 и связан с альтернативным сплайсингом экзона 9, который приводит к укороченному варианту субъединицы G β 3, называемому G β 3s (Siffert et al., 1998). Позже были найдены полиморфные маркеры *A(-350)G*, расположенный в промоторной области гена *GNB3*, и *C1429T*, расположенный в 3'-нетранслируемой области гена *GNB3*, но оба они оказались функционально незначимыми (Rosskopf et al., 2000). Биохимические исследования доказали, что вариант G β 3s может образовывать димеры с различными γ -субъединицами (Rosskopf, Koch et al., 2003; Rosskopf, Manthey et al., 2003). Эти исследования также подтвердили, что аллель *825T* приводит к образованию варианта G β 3s, обладающего повышенной биологической активностью, что значительно усиливает способности образуемых G-белков к передаче сигналов (Virchow et al., 1999; Lindemann et al., 2001). Все это вместе дает основания рассматривать аллель *825T* полиморфного маркера *C825T* гена *GNB3* в качестве генетического маркера усиленной сигнальной трансдукции.

К настоящему времени проведено большое количество исследований, посвященных изучению ассоциации полиморфного маркера *C825T* гена *GNB3* с гипертонией (Benjafield et al., 1998; Siffert et al., 1998; Hengstenberg et al., 2001), атеросклерозом (Schafers et al., 2001; Nanon et al., 2002; Nurnberger et al., 2004) и ИБС (von Beckerath et al., 2000; von Beckerath et al., 2003). Данные этих исследований носят противоречивый характер и сравнение их затруднено в силу различных подходов к формированию выборок, этнических неоднородностей и методов обработки результатов, что безусловно потребовало проведения аналогичного исследования в России, которое для полиморфизма *C825T* гена *GNB3* было проведено впервые.

При анализе распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера *C825T* гена *GNB3* (табл. 14) были обнаружены статистически достоверные различия. Было показано, что носители аллеля *C* и генотипа *CC* имеют повышенный риск развития ИБС ($OR = 1,55$ и $1,63$, соотв.), в то время как носители аллеля *T* – пониженный риск ($OR = 0,65$).

Таким образом, полиморфный маркер *C825T* гена *GNB3* ассоциирован с развитием ИБС у русских г. Москвы.

Таблица 14.

Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера *C825T* гена *GNB3* в группах “ИБС+” и “ИБС-”.

Аллели и генотипы	Частота аллелей и генотипов		Значение χ^2	Уровень значимости p	$OR [CI 95\%]$
	“ИБС+” (n = 313)	“ИБС-” (n = 132)			
Аллель <i>C</i>	0,759	0,670	7,40	0,01	1,55 [1,13 – 2,12]
Аллель <i>T</i>	0,241	0,330			0,65 [0,47 – 0,89]
Генотип <i>CC</i>	0,591	0,470	6,76	0,03	1,63 [1,08 – 2,46]
Генотип <i>CT</i>	0,335	0,402			–
Генотип <i>TT</i>	0,073	0,129			–

На основании полученных результатов можно сделать вывод о том, что в развитии ИБС существенную роль играют гены, кодирующие факторы, определяющие уровень образования супероксидных радикалов (*СУВА*), эффективность регуляции энергетического баланса (*PPARD*) и скорость передачи сигналов (*GNB3*).

ВЫВОДЫ.

1. Определены частоты аллелей и генотипов полиморфных маркеров генов *PPARG3*, *PPARGC1A*, *PPARD*, *ADRB1*, *ADRB2*, *ACE*, *GNB3*, *ADPRT1*, *PARG* и *CYBA* в группах больных ишемической болезнью сердца, а также в контрольной группе русских г. Москвы.
2. Для ряда полиморфных маркеров генов *PPARG3*, *PPARGC1A*, *ADRB1*, *ADRB2*, *ACE*, *ADPRT1* и *PARG* показано отсутствие ассоциации с ишемической болезнью сердца у русских г. Москвы.
3. Обнаружена ассоциация полиморфного маркера *T(-87)C* гена *PPARD* с развитием ишемической болезни сердца у русских г. Москвы. Было показано, что носители аллеля *C* и генотипа *CC* имеют повышенный риск, в то время как носители аллеля *T* и генотипа *TC* – пониженный риск развития ИБС.
4. Обнаружена ассоциация полиморфного маркера *Tyr72His* гена *CYBA* с развитием ишемической болезни сердца у русских г. Москвы. Было показано, что носители генотипа *Tyr/Tyr* имеют повышенный риск, в то время как носители генотипа *His/His* – пониженный риск развития ИБС.
5. Обнаружена ассоциация полиморфного маркера *C825T* гена *GNB3* с развитием ишемической болезни сердца у русских г. Москвы. Было показано, что носители аллеля *C* и генотипа *CC* имеют повышенный риск, в то время как носители аллеля *T* – пониженный риск развития ИБС.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Никитин, А.Г., Горашко, Н.М., Минушкина, Л.О., Кудряшова, О.Ю., Затеищиков, Д.А., Сидоренко, Б.А., Носиков, В.В. (2003) Изучение ассоциации полиморфного маркера *G7831A* гена *ACE* с ишемической болезнью сердца в московской популяции. *Молекулярная биология*, **37**(1), 54-56.
2. Никитин, А.Г., Чудакова, Д.А., Спицина, Е.В., Минушкина, Л.О., Затеищиков, Д.А., Носиков, В.В., Дебабов, В.Г. (2007) Ассоциация полиморфного маркера *C825T* гена *GNB3* с ишемической болезнью сердца. *Генетика*, **43**(8), 1129-33.
3. Zateyshchikov, D.A., Minushkina, L.O., Brovkin, A.N., Savel'eva, E.G., Zateyshchikova, A.A., Manchaeva, B.B., Nikitin, A.G., Sidorenko, B.A., Nosikov, V.V. (2007) Association of *CYP2D6* and *ADRB1* genes with hypotensive and antichronotropic action of betaxolol in patients with arterial hypertension. *Fundamental Clininical Pharmacology*, **21**(4), 437-43.
4. Nosikov, V.V., Zateyshchikov, D.A., Nikitin, A.G., Minushkina, L.O., Babunova, N.B., Sidorenko, B.A. Association of *MTHFR* and *GNB3* genes with coronary artery disease among Russians. Abstracts of the Second "Biologie Prospective" Conference "From Human Genetic Variations to Prediction of Risks and Responses to Drugs and Environment", p.A54, Santorini Island, Greece (September 30 – October 4, 2004).
5. Затеищиков, Д.А., Никитин, А.Г., Минушкина, Л.О., Затеищикова, А.А., Носиков, В.В., Сидоренко, Б.А. Ассоциация полиморфного маркера *C825T* гена *GNB3* с регуляцией тонуса сосудов у больных ишемической болезнью сердца. Материалы Российского национального конгресса кардиологов "Российская кардиология: от центра к регионам", стр.174, г. Томск, Россия (12 – 14 октября 2004 г.).
6. Носиков, В.В., Затеищиков, Д.А., Никитин, А.Г., Чумакова, О.С., Воронько, О.Е., Минушкина, Л.О., Бабунова, Н.Б., Сидоренко, Б.А. Генетические основы наследственной предрасположенности к ишемической болезни сердца. Анализ ассоциации генов *GNB3*, *NOS3* и *AT2R1*. Материалы Российского национального конгресса кардиологов "Российская кардиология: от центра к регионам", стр. 355, г. Томск, Россия (12 – 14 октября 2004 г.).
7. Nosikov, V.V., Zateyshchikov, D.A., Nikitin, A.G., Chumakova, O.S., Savost'yanov, K.V., Minushkina, L.O., Voron'ko, O.E., Babunova, N.B., Sidorenko, B.A. Genetic basis of inherited predisposition to coronary artery disease. Abstracts of the 75th Congress of European Atherosclerosis Society, p.14 (Abstract W03-P-008), Prague, Czech Republic (April 23 – 26, 2005).

8. Никитин, А.Г., Затеишиков, Д.А., Воронько, О.Е., Минушкина, Л.О., Бабунова, Н.Б., Чумакова, О.С., Горашко, Н.М., Чудакова, Д.А., Сидоренко, Б.А., Носиков, В.В. Генетические основы наследственной предрасположенности к ишемической болезни сердца. Материалы V Съезда Российского общества медицинских генетиков, стр. 238, г. Уфа, Россия (24 – 27 мая 2005).
9. Zateyshchikov, D.A., Dankovtseva, E.N., Nikitin, A.G., Koroleva, O.S., Brovkin, A.N., Yakunina, N.Yu., Chudakova, D.A., Nosikov, V.V., Sidorenko, B.A. Genetic predisposition to early onset of coronary artery disease. Abstracts of the XIV International Symposium on Atherosclerosis, p.131 (Abstract Mo-P6:387), Rome, Italy (June 18 – 22, 2006).
10. Zateyshchikov, D.A., Nosikov, V.V., Brovkin, A.N., Minushkina, L.O., Nikitin, A.G., Sidorenko, B.A. Relationship between clinical response to betaxolol (lokren) in Russian patients with essential hypertension and polymorphous markers of *ADRB1*, *CYP1A1*, *CYP1A2* and *CYP2D6* genes. Abstracts of the Third "Biologie Prospective" Conference "From Human Genetic Variations to Prediction of Risks and Responses to Drugs and Environment", p.A77 – A78, Santorini Island, Greece (September 29 – October 2, 2006).
11. Носиков, В.В., Затеишиков, Д.А., Никитин, А.Г., Чумакова, О.С., Бровкин, А.Н., Минушкина, Л.О., Чудакова, Д.А., Шестаков, А.Е., Воронько, О.Е., Бабунова, Н.Б., Сидоренко, Б.А. Генетические основы наследственной предрасположенности к ишемической болезни сердца среди этнических русских, проживающих в Москве. Материалы Российского национального конгресса кардиологов "От диспансеризации к высоким технологиям", стр. 263, Москва, Россия (10 – 12 октября 2006 г.).