

doi: 10.17116/flebo201610268-74

Выявление полиморфных вариантов генов, ассоциированных с риском варикозной болезни нижних конечностей у русских жителей Российской Федерации

К.б.н., м.н.с. А.С. ШАДРИНА^{1,2}, к.б.н., м.н.с. М.А. СМЕТАНИНА¹, к.м.н., н.с. К.С. СЕВОСТЬЯНОВА¹, к.б.н., м.н.с. Е.А. СОКОЛОВА^{1,2}, д.м.н., зав. отд. А.И. ШЕВЕЛА¹, к.м.н., асс. Е.Ю. СОЛДАТСКИЙ³, к.м.н., асс. Е.И. СЕЛИВЕРСТОВ³, врач-хирург М.Ю. ДЕМЕХОВА⁴, врач-хирург О.А. ШОНОВ⁴, к.м.н., гл. врач Е.А. ИЛЮХИН⁴, к.б.н., м.н.с. Е.Н. ВОРОНИНА^{1,2}, д.м.н., проф., зав. каф. И.В. ПИКАЛОВ⁵, д.м.н., проф. И.А. ЗОЛОТУХИН³, акад. РАН, д.м.н., проф. А.И. КИРИЕНКО³, к.б.н., зав. лаб. М.Л. ФИЛИПЕНКО

¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия; ²Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия; ³Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия; ⁴Клиника «Medalpr», Санкт-Петербург, Россия; ⁵Новосибирский государственный медицинский университет, Новосибирск, Россия

Цель исследования — изучение влияния полиморфных генетических локусов на риск развития варикозной болезни нижних конечностей (ВБНК) у русских, проживающих в Российской Федерации. Для анализа выбраны однонуклеотидные полиморфные замены (SNP, single nucleotide polymorphisms) в генах *AGGF1*, *HFE*, *MTHFR*, *MTR* и *FOXC2*. **Материал и методы.** В исследование включили 474 пациента: 146 (30,8%) мужчин и 328 (69,2%) женщин (средний возраст 48 лет) русской этнической принадлежности. 333 (70,3%) пациента имели семейный анамнез ВБНК; 124 (26,2%) человека не имели семейного анамнеза; 17 (3,6%) не смогли предоставить такие данные. При анализе ассоциации с ВБНК полиморфизма генов *FOXC2* и *AGGF1* использовали контрольную группу из 478 человек русской этнической принадлежности, не имеющих хронических заболеваний вен нижних конечностей в настоящее время и в анамнезе, — 147 (30,8%) мужчин и 331 (69,2%) женщина (средний возраст 55 лет). При анализе ассоциации полиморфизма гена *HFE* была использована популяционная выборка из 764 человек — 237 (31,0%) мужчин и 527 (69,0%) женщин (средний возраст 32 года), при исследовании ассоциации SNP в генах *MTHFR* и *MTR* — популяционная выборка из 896 человек — 271 (30,2%) мужчина и 625 (69,8%) женщин (средний возраст 44 года). Генотипы определяли методами полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. **Результаты.** Полиморфные варианты гена фактора ангиогенеза (*AGGF1* rs13155212 и rs7704267) и генов фолатного цикла (*MTHFR* C677T и *MTR* A2756G) не ассоциированы с риском ВБНК. С повышением риска ВБНК ассоциирована редкая полиморфная замена rs1800562 G>A в гене *HFE*, ведущая к аккумуляции железа в тканях пациента, а также полиморфные варианты rs1035550 C>T и rs34221221 T>C гена фактора транскрипции *FOXC2*. Ни одна из выявленных ассоциаций не достигла статистической значимости после введения поправки на множественное сравнение. Возможно, это связано с недостаточным размером выборки. **Вывод.** Настоящая работа представляет собой одну из первых попыток изучения генетики варикозной болезни в России. Полученные данные подтверждают перспективность подобного исследования и позволяют наметить дальнейшие шаги.

Ключевые слова: варикозная болезнь нижних конечностей, полиморфный вариант гена, ассоциация.

The Association of Single Nucleotide Polymorphisms with the Risk of Varicose Veins of the Lower Extremities: A Study of the Russian Population of the Russian Federation

A.S. SHADRINA, M.A. SMETANINA, K.S. SEVOST'YANOVA, E.A. SOKOLOVA, A.I. SHEVELA, E.YU. SOLDATSKIY, E.I. SELIVERSTOV, M.YU. DEMEKHOVA, O.A. SHONOV, E.A. ILYUKHIN, E.N. VORONINA, I.V. PIKALOV, I.A. ZOLOTUKHIN, A.I. KIRIENKO, M.L. FILIPENKO

¹Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Novosibirsk, Russia; ²Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia; ³N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia; ⁴Private Surgery Center «Medalpr», Saint-Petersburg, Russia; ⁵Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

Objective — to study the association of polymorphic genetic loci with the risk of varicose veins of lower extremities (VBLE) in ethnic Russians living in the Russian Federation. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the *AGGF1*, *HFE*, *MTHFR*, *MTR* and *FOXC2* genes were selected for analysis. **Material and methods.** The study group consisted of 474 patients presenting with varicose vein disease of the lower extremities and included 146 (30,8%) men and 328 (69,2%) women (median age 48 years). 333 (70,3%) patients had a family history of varicose veins; 124 (26,2%) patients did not have a family history of this pathology; 17 (3,6%) patients did not provide information about family history. For the analysis of the association of polymorphisms in the *FOXC2* and *AGGF1* genes, a control group comprising 478 otherwise healthy individuals without a history of chronic venous disease was formed. In included 147 (30,8%) men and 331 (69,2%) women of the median age 55 years. When studying the *HFE* gene polymorphisms, a population sample of 764 individuals — 237 (31,0%) men and 527 (69,0%) women (median age 32 years) served as a control group. When investigating the effects of SNPs in the *MTHFR* and *MTR* genes, we also used a population-based control group of 896 individuals — 271 (30,2%) men and 625 (69,8%) women (median age 44 years). Genotyping was performed using the real-time polymerase chain reaction. **Results.** Polymorphisms in the angiogenic factor gene (*AGGF1* rs13155212 and rs7704267) and folate-metabolizing

genes (*MTHFR* C677T and *MTR* A2756G) were not associated with the risk of varicose veins of lower extremities in our study. We revealed an association of rare polymorphism rs1800562 G>A in the *HFE* gene which can lead to excessive iron accumulation with the increased prevalence of the pathology of interest. In addition, evidence was obtained that rs1035550 C>T and rs34221221 T>C SNPs in the *FOXC2* gene influence the risk of varicose veins. Nevertheless, none of the revealed associations remained statistically significant after correction for multiple testing. It could probably be due to a limited sample size. *Conclusion.* This study is one of the first attempts to study genetics of varicose veins in Russia. Its results allow the prospects for the further investigation to be outlined.

Keywords: varicose veins of lower extremities, single nucleotide polymorphism, association.

Варикозная болезнь нижних конечностей (ВБНК) — одно из наиболее распространенных заболеваний сосудов, которому подвержены более 20% взрослого населения развитых стран [1]. Помимо косметического дефекта, пациенты страдают от боли, тяжести в ногах, утомляемости, отеков, на более поздних стадиях присоединяются гиперпигментация, липодерматосклероз и трофические язвы. В настоящее время патогенез ВБНК до конца не изучен. Предполагается, что ключевыми событиями, приводящими к развитию заболевания, служат нарушение структуры и функции стенки вен и недостаточность венозных клапанов, что вызывает рефлюкс, застой крови, гипоксию и повреждение тканей. Предполагаемые механизмы, лежащие в основе этих нарушений, — оксидативный стресс, повреждение эндотелиальных клеток, нарушение баланса продукции ростовых факторов и цитокинов, пролиферация гладкомышечных клеток и их переключение с сократительного на секреторный фенотип, нарушение баланса в синтезе и деградации внеклеточного матрикса, инфильтрация лейкоцитов и воспаление [2—5]. Тем не менее последовательность событий не совсем ясна. Факторы, провоцирующие развитие этого состояния и запускающие цепь патологических изменений, — беременность, избыточная масса тела, пожилой возраст, малоподвижный образ жизни, продолжительные статические нагрузки в вертикальном положении и др. В то же время их нельзя назвать причиной развития варикозной трансформации, поскольку их действие является избирательным и заболевание развивается далеко не у каждого, кто оказывается подверженным экспозиции провоцирующего фактора. Важную роль в развитии ВБНК играет наследственность [6], но анализу того, какие именно генетические варианты влияют на риск этого заболевания, посвящено всего несколько исследований [7]. Одни и те же варианты генов могут по-разному влиять на риск заболеваний в разных этнических группах. Это связано как с генетическими особенностями популяций, так и с образом жизни (питание, привычки, занятость и т.д.), на который влияет регион проживания и особенности культуры. Среди генов, мутации которых могут оказаться связанными с риском ВБНК, можно назвать, в частности, гены *AGGF1*, *HFE*, *MTHFR*, *MTR* и *FOXC2*.

Ген *AGGF1* кодирует фактор ангиогенеза, играющий ключевую роль в дифференцировке клеток

венозной системы и обладающий противовоспалительным и ярко выраженным ангиогенным свойством [8, 9]. По данным Y. Ну и соавт. [10], полиморфные локусы rs13155212 (замена нуклеотида Т на С, обозначается Т>С) и rs7704267 (замена G>C), расположенные в этом гене, ассоциированы со снижением риска синдрома Клиппеля—Треноне. У 76—100% лиц с этим синдромом развивается варикозное расширение вен. Мы предположили, что носительство генотипов по этим локусам может влиять на риск ВБНК у лиц без этого синдрома.

В гене *HFE* закодирован белок, регулирующий абсорбцию железа. Два локуса в этом гене, rs1800562 G>A и rs1799945 C>G, ассоциированы с наследственным гемохроматозом — заболеванием, при котором железо накапливается в тканях и органах [11]. Повышенное содержание ионов железа может вызывать индукцию оксидативного стресса, повреждение эндотелия и воспаление [12]. Это может нарушить взаимодействие эндотелиальных клеток с гладкомышечными, приводя к изменениям в структуре стенок вен. Возможно, rs1800562 и rs1799945 связаны с риском развития ВБНК.

Полиморфные локусы в генах фолатного цикла *MTHFR* C677T и *MTR* A2756G влияют на уровень аминокислоты гомоцистеина в крови (первая замена приводит к увеличению уровня, вторая — к снижению) [13]. Гомоцистеин и его метаболиты, в свою очередь, вовлечены во множество процессов, приводящих в конечном счете к эндотелиальной дисфункции и повреждению сосудистой стенки [14, 15]. В том числе он влияет на экспрессию генов, важных для взаимодействия клеток эндотелия с гладкомышечными клетками [16]. Это позволяет предположить влияние указанных замен на риск изучаемой патологии.

Мутации в гене фактора транскрипции *FOXC2* приводят к редкой форме лимфедемы, сопряженной с дистихиазом. Примерно у половины лиц с этим заболеванием развивается варикозное расширение вен в молодом возрасте [17]. Кроме того, мутации этого гена ассоциированы с первичной недостаточностью клапанов поверхностных и глубоких вен нижних конечностей [18]. Мы проанализировали ассоциацию шести полиморфных локусов (rs7189489 C>A, rs4633732 T>G, rs34221221 T>C, rs1035550 C>T, rs34152738 T>G и rs12711457 G>A), расположенных в регионе этого гена, а также его в 5' и 3' областях, с риском ВБНК.

Цель нашей работы — изучение влияния полиморфных генетических локусов на риск развития ВБНК у русских, проживающих в Российской Федерации. Для анализа выбраны однонуклеотидные полиморфные замены (SNP, single nucleotide polymorphisms) в генах *AGGF1*, *HFE*, *MTHFR*, *MTR* и *FOXC2*.

Материал и методы

Выборки. В нашем распоряжении находился материал для генетического исследования (кровь) 505 пациентов с ВБНК, проходивших обследование и хирургическое лечение в Городской клинической больнице №1 им. Н.И. Пирогова (Москва), государственной Новосибирской областной клинической больнице (Новосибирск), Клинике «Medalr» (Санкт-Петербург) и Центре новых медицинских технологий (Новосибирск).

В настоящее исследование включены 474 пациента, заявивших о русской этнической принадлежности (на основе самоидентификации пациента и обоих его родителей). Выборка состояла из 146 (30,8%) мужчин и 328 (69,2%) женщин (медиана распределения по возрасту 48 лет; нижний квартиль 37 лет; верхний квартиль 57 лет). Из них 333 (70,3%) человека имели семейный анамнез ВБНК, что определяли при опросе по наличию хотя бы одного кровного родственника с ВБНК; 124 (26,2%) человека не имели семейного анамнеза; 17 (3,6%) не смогли предоставить данные об анамнезе. У 141 (29,7%) пациента выявили клинический класс С2; у 237 (50,0%) — класс С3; у 80 (16,9%) — класс С4; у 9 (2,0%) — класс С5 и у 7 (1,5%) — класс С6.

При анализе ассоциации с ВБНК полиморфизма генов *FOXC2* и *AGGF1* в качестве контрольной группы была использована выборка из 478 человек русской этнической принадлежности, не имеющих хронических заболеваний вен нижних конечностей в настоящее время и в анамнезе — 147 (30,8%) мужчин и 331 (69,2%) женщина (медиана распределения по возрасту 55 лет; нижний квартиль 44 года; верхний квартиль 62 года). При исследовании ассоциаций SNP в остальных генах в качестве контрольных групп были использованы популяционные выборки этнических русских, члены которых не предоставляли информацию о наличии либо отсутствии у них ВБНК. Использование популяционных выборок не было продиктовано какими-либо специальными соображениями, а было обусловлено лишь наличием именно такого материала на данных этапах работ. В ассоциативных исследованиях оба формата — «случай — здоровый контроль» и «случай — популяционный контроль» — являются приемлемыми, и каждый из них имеет свои преимущества и недостатки. Преимуществом формата «случай — здоровый контроль» является большая статистическая мощность, в то время как использование популяци-

онного контроля снижает вероятность смещенности контрольной группы по какому-либо параметру. При анализе ассоциации полиморфизма гена *HFE* была использована популяционная выборка из 764 человек — 237 (31,0%) мужчин и 527 (69,0%) женщин (медиана распределения по возрасту 32 года; нижний квартиль 29 лет; верхний квартиль 36 лет), при исследовании ассоциации SNP в генах *MTHFR* и *MTR* — популяционная выборка из 896 человек — 271 (30,2%) мужчина и 625 (69,8%) женщин (медиана распределения по возрасту 44 года; нижний квартиль 30 лет; верхний квартиль 54 года).

Выделение ДНК. ДНК выделяли из венозной крови с использованием стандартной процедуры, включающей выделение и лизис клеток крови, гидролиз белков протеиназой К, очистку ДНК экстракцией примесей фенол—хлороформом и осаждение ДНК этанолом.

Генотипирование. Определение генотипов проводилось с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени на ДНК-амплификаторах CFX96 и CFX384 («BioRad», США). Для определения генотипов по локусам *AGGF1* rs13155212, *HFE* rs1799945, *MTHFR* rs1801133, *MTR* rs1805087, *FOXC2* rs7189489, rs4633732 и rs34152738 применяли метод ПЦР с использованием конкурирующих флуоресцентно меченных олигонуклеотидных зондов. Для определения генотипов по локусам *AGGF1* rs7704267, *HFE* rs1800562, *FOXC2* rs34221221, rs1035550 и rs12711457 использовали метод асимметричной ПЦР с добавлением флуоресцентно меченного олигонуклеотидного зонда и последующим анализом кривых плавления в режиме реального времени.

Тест-системы для определения генотипов были разработаны в лаборатории фармакогеномики Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН.

Статистическая обработка. Анализ ассоциации SNP с ВБНК выполняли методом логистической регрессии. При расчете отношения шансов (ОШ), 95% доверительного интервала (95% ДИ) и уровня статистической значимости (p) вводили поправку на пол и возраст пациентов. Соответствие распределения генотипов в выборках закону Харди—Вайнберга проверяли с использованием точного теста. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Вычисления проводили при помощи статистического пакета GenABEL для языка R (version 2.15.1, <http://www.r-project.org>; функции `glm`, `haplo.score` и `haplo.glm`).

Результаты

Частоты аллелей и генотипов исследуемых полиморфных локусов в группе пациентов с ВБНК и группах контроля представлены в **таблице**. Распределение частот генотипов по всем локусам в кон-

трольных группах соответствовало закону Харди—Вайнберга. В группе лиц с ВБНК отклонение от равновесия Харди—Вайнберга было показано для генотипов локусов *FOXC2* rs1035550 ($p=0,04$) и *AGGF1* rs13155212 ($p=0,02$). Частоты аллелей, рассчитанные для русских в нашей выборке, были близки к аналогичным частотам в других европеоидных популяциях, опубликованным на сайте проекта «1000 Genomes» (<http://www.1000genomes.org>). По данным этого проекта, частоты аллелей по указанному локусам у европеоидов таковы: rs13155212 C — 21—29%, rs7704267 C — 31—48%, rs1800562 A — 3—5%, rs1799945 G — 11—25%, rs1801133 T — 27—47%, rs1805087 G — 14—23%, rs7189489 A — 14—23%, rs4633732 G — 16—30%, rs34221221 C — 32—44%, rs1035550 T — 5—16%, rs34152738 G — 15—23%, rs12711457 A — 37—47%.

Нами были показаны статистически значимые различия в частотах встречаемости следующих аллелей и генотипов между группами «случай» и «контроль»: *HFE* rs1800562 G/A (ОШ=1,80; $p=0,02$), *HFE* rs1800562 A (ОШ=1,74; $p=0,02$), *HFE* rs1800562 G/A+A/A (доминантная модель наследования, ОШ=1,79; $p=0,02$), *FOXC2* rs7189489 C/A (ОШ=0,72; $p=0,03$), *FOXC2* rs4633732 T/G (ОШ=1,40; $p=0,02$), *FOXC2* rs1035550 T/T (ОШ=3,65; $p=0,03$) (см. таблицу). Ни одна из ассоциаций не сохранила статистическую значимость при введении поправки Бонферрони на множественное сравнение.

Для полиморфных локусов в генах *AGGF1*, *HFE* и *FOXC2*, в которых мы исследовали по несколько SNP, был выполнен анализ ассоциации гаплотипов (комбинаций SNP) с риском ВБНК. Статистически значимые ассоциации были обнаружены лишь для сочетаний SNP в гене *FOXC2*. Гаплотип rs7189489 C-rs4633732 T-rs34221221 C-rs1035550 C-rs34152738 T-rs12711457 G чаще (3,8%) встречался в группе пациентов с ВБНК, чем в группе контроля (1,3%; $p=0,01$). Наиболее распространенный гаплотип rs7189489 C-rs4633732 T-rs34221221 T-rs1035550 C-rs34152738 T-rs12711457 G, напротив, реже (37,0%) встречался в группе пациентов с ВБНК, чем в контрольной группе (41,6%; $p=0,049$). Поскольку два вышеуказанных гаплотипа отличаются лишь наличием либо отсутствием аллеля rs34221221 C, это позволяет предположить, что данный аллель все же ассоциирован с риском ВБНК, но его эффект может быть маскирован суммарным эффектом остальных локусов региона.

Обсуждение

В настоящей работе мы проанализировали влияние ряда полиморфных вариантов генов *AGGF1*, *HFE*, *MTHFR*, *MTR* и *FOXC2* на риск развития ВБНК у русских жителей Российской Федерации и выявили ряд ассоциаций со значениями $p < 0,05$ (см. таблицу).

Тем не менее уровень значимости этих ассоциаций не был высок, и ни одна из них не выдержала введения поправки на множественное сравнение. Следует отметить, что это типичная ситуация для исследований на выборках, размер которых невелик, а сравнений при этом проводится много. С другой стороны, это не означает, что все выявленные ассоциации ложноположительны. Это означает лишь, что какие-то из них могут быть результатом случайных событий. Поэтому такие результаты, естественно, не могут пока стать основой для практических выводов, но их следует принимать во внимание в дальнейших исследовательских работах и подтверждать на выборках большего размера. В нашей работе очевидно случайными являются ассоциации, выявленные лишь для гетерозиготных генотипов (rs7189489 C/A и rs4633732 T/G), поскольку в данном случае невозможно предложить биологический механизм, объясняющий изменение риска для носителей только одного аллеля (гетерозигот), а не двух (гомозигот).

Интерес представляет ассоциация редкой полиморфной замены rs1800562 G>A в гене *HFE*, приводящей к замене цистеина на тирозин в положении 282 белка HFE и ведущей к аккумуляции железа в тканях пациента, с повышением риска ВБНК. В нашей работе мы выявили ассоциацию для генотипа G/A и аллеля A, ассоциация для генотипа A/A не достигла уровня статистической значимости. Тем не менее мы также провели расчет для разных моделей наследования — доминантной и рецессивной — и показали ассоциацию для доминантной модели. Доминантная модель подразумевает, что носители генотипов G/A и A/A имеют одинаково высокий риск развития ВБНК, т.е. увеличение риска не зависит от дозы аллеля A у пациента. Ранее в работе итальянских исследователей P. Zamboni и соавт. [19] была обнаружена ассоциация этого генетического варианта с риском развития трофических язв у лиц с ВБНК (было проведено сравнение частот аллелей и генотипов в группах лиц с классами C4 и C5—C6). В нашей работе мы провели аналогичный расчет, но значимой ассоциации не выявили. Вероятно, для этого нам не хватило статистической мощности, поскольку пациентов с классами C5—C6 в нашем исследовании было 16, а с классом C4 — 80.

Полиморфный локус rs1035550, расположенный в 3' регионе гена *FOXC2*, в нашей работе проанализирован впервые, ранее в мире таких исследований не проводили. Ассоциация с ВБНК была нами показана только для гомозигот по редкому аллелю (генотип T/T). Возможно, замена C>T расположена в каком-либо регуляторном элементе гена, что влияет на уровень наработки белкового продукта, либо она сцеплена с каким-либо другим генетическим вариантом, имеющим такое свойство. Пока что наш результат стоит расценивать только как

Анализ ассоциации SNP с ВБНК

SNP	генотип/ аллель	Пациенты с ВБНК, абс. (%)	Контрольная группа, абс. (%)	ОШ (95% ДИ)	<i>p</i>	HWE*	HWE**
Ген <i>AGGF1</i>							
rs13155212 T>C	T/T	261 (55,8)	231 (49,9)	1,00		0,02	0,57
	T/C	164 (35,0)	196 (42,3)	0,75 (0,57—1,00)	0,05		
	C/C	27 43 (9,2)	36 (7,8)	1,06 (0,65—1,71)	0,83		
	C	27%	29%	0,91 (0,74—1,11)	0,35		
rs7704267 G/C	G/G	141 (33,3)	137 (29,1)	1,00		0,62	0,19
	G/C	1202 (47,8)	247 (52,6)	0,78 (0,58—1,06)	0,62		
	C/C	80 (18,9)	86 (18,3)	0,90 (0,61—1,33)	0,61		
	C	43%	45%	0,93 (0,76—1,12)	0,44		
Ген <i>HFE</i>							
rs1800562 G>A (p.C282Y)	G/G	408 (91,7)	692 (95,2)	1,00		0,56	0,36
	G/A	36 (8,1)	34 (4,7)	1,80 (1,1—2,92)	0,02		
	A/A	1 (0,2)	1 (0,2)	1,67 (0,11—27,2)	0,71		
	A	4%	2%	1,74 *1,10—2,75)	0,02		
rs1799945 C>G (p.H63D)	C?C	301 (68,4)	514 (69,8)	1,00		0,41	0,12
	C/G	123 (28,0)	195 (26,5)	1,08 (0,82—1,08)	0,59		
	G/G	16 (3,6)	27 (3,7)	1,01 (0,54—1,91)	0,97		
	G	18%	17%	1,05 (0,84—1,30)	0,68		
Ген <i>MTHFR</i>							
C677T rs1801133 C/T (p.A222V)	C/C	233 (50,1)	438 (48,9)	1,00		0,82	0,81
	C/T	191 (41,1)	375 (41,9)	0,95 (0,75—1,21)	0,68		
	T/T	41 (8,8)	83 (9,3)	0,94 (0,62—1,42)	0,78		
	T	29%	30%	0,96 (0,81—1,15)	0,62		
Ген <i>MTR</i>							
A27556G rs1805087 A/G (p.D919G)	A/A	290 (62,4)	572 (63,8)	1,00		0,78	0,22
	A/G	153 (32,9)	280 (31,3)	1,05 (0,83—1,35)	0,67		
	G/G	122 (4,7)	44 (4,9)	0,95 (0,55—1,62)	0,84		
	G	21%	21%	1,02 (0,84—1,23)	0,86		
Ген <i>F0XC2</i>							
rs7189489 C/A	C/C	325 (70,5)	309 (65,7)	1,00		0,24	0,17
	C/A	120 (26,0)	150 (31,9)	0,72 (0,54—0,96)	0,03		
	A/A	16 (3,5)	11 (2,3)	1,42 (0,64—3,14)	0,39		
	A	16%	18%	0,85 (0,67—1,09)	0,20		
rs4633732 T/G	T/T	255 (55,3)	293 (62,3)	1,00		0,54	0,41
	T/G	180 (39,0)	152 (32,3)	1,40 (1,06—1,85)	0,02		
	G/G	26 (5,6)	25 (5,3)	1,16 (0,65—2,09)	0,61		
	G	25%	21%	1,24 (0,99—1,54)	0,06		
rs34221221 T/C	T/T	194 (42,1)	200 (43,0)	1,00		0,76	0,61
	T/C	208 (45,1)	214 (46,0)	1,00 (0,82—1,22)	0,76		
	C/C	59 (12,8)	51 (11,0)	1,19 (0,78—11,82)	0,42		
	C	35%	34%	1,08 (0,88—1,31)	0,46		
rs1035550 C/T	C/C	351 (76,7)	356 (77,6)	1,00		0,04	0,49
	C/T	94 (20,5)	99 (21,6)	0,94 (0,68—1,30)	0,72		
	T/T	13 (2,8)	4 (0,9)	3,65 (1,16—1,14)	0,03		
	T	13%	12%	1,14 (0,86—1,51)	0,36		
rs34152738 C/T	T/T	294 (64,9)	307 (65,0)	1,00		0,66	0,65
	T/G	140 (30,9)	150 (31,8)	0,95 (0,71—1,26)	0,71		
	G/G	19 (4,2)	15 (3,2)	1,35 (0,67—2,74)	0,40		
	G	20%	19%	1,03 (0,81—1,30)	0,84		
rs12711457 G>A	G/G	150 (32,7)	155 (32,8)	1,00		0,57	0,05
	G/A	219 (47,8)	250 (52,9)	0,93 (0,69—1,25)	0,62		
	A/A	90 (19,6)	68 (14,4)	1,37 (0,93—2,03)	0,12		
	A	43%	41%	1,13 (0,93—1,36)	0,22		

Примечание. При вычислении значений ОШ, 95% ДИ и *p* была введена поправка на пол и возраст пациентов. *p*<0,05 выделено жирным шрифтом. * — уровень статистической значимости отклонения от равновесия Харди—Вайнберга в группе пациентов с ВБНК; ** — уровень статистической значимости отклонения от равновесия Харди—Вайнберга в контрольной группе.

предварительный, и в дальнейшем было бы интересно изучить эффекты этого локуса на выборках большего размера.

Анализ сочетаний SNP (гаплотипов) в гене *FOXC2* позволил предположить, что с риском ВБНК также связан локус rs34221221 T>C. Ранее влияние этого SNP на риск ВБНК было оценено S. Surendran и соавт. [20] в индийской популяции. Примечательно, что авторы выявили ассоциацию с увеличением риска для противоположного аллеля — rs34221221 T, который у индийцев является более редким, а у русских и других представителей европеоидной расы — более частым. Ими также было продемонстрировано, что этот аллель ассоциирован с повышенной продукцией белка *FOXC2*. По результатам 2 работ сложно сделать вывод о том, действительно ли данный вариант по-разному ведет себя в разных этнических группах. Целесообразно проанализировать ассоциацию rs34221221 с риском ВБНК на более представительной выборке русских, а также изучить его эффекты у представителей других этнических групп.

Подводя итог, необходимо отметить, что успех работ по исследованию генетики мультифакториальных заболеваний, к которым в полной мере относится варикозная болезнь, во многом зависит от того, насколько представительную и хорошо описанную выборку удалось собрать исследователям. Наша работа является попыткой изучения генетики ВБНК у русских жителей Российской Федерации. Пока что нам удалось сформировать коллекцию из 474 образцов ДНК от пациентов с данным заболеванием на базе нескольких клиник Новосибирска, Москвы и Санкт-Петербурга, но в этой выборке недостаточно представлены пациенты с трофическими осложнениями. Это накладывает ограничения на возможности анализа, снижая статистическую мощность при разделении выборки на подгруппы. Кроме того, было бы интересно выделить и другие подгруппы, например, мужчин и женщин, лиц с наличием или отсутствием семейного анамнеза и т.д. Но пока что размер выборки не позволяет нам провести более глубокий анализ.

Мы намерены продолжить работу, пополняя выборку новыми образцами, включая в анализ новые генетические локусы и используя разные аналитические подходы. В связи с этим мы приглашаем к сотрудничеству тех коллег, кому будет интересно участие в нашем исследовании и которые будут готовы помочь в наборе клинического материала для генетического анализа. Только путем коллективных усилий, объединяя материал, собранный на базе многих медицинских учреждений, мы можем добиться успеха в изучении генетики ВБНК в нашей стране.

Заключение

1. Полиморфные варианты гена фактора ангиогенеза (*AGGF1* rs13155212 и rs7704267) и генов фоллатного цикла (*MTHFR* C677T и *MTR* A2756G) не ассоциированы с риском ВБНК.

2. С повышением риска ВБНК связана редкая полиморфная замена rs1800562 G>A в гене *HFE*, ведущая к аккумуляции железа в тканях пациента, а также полиморфные варианты rs1035550 C>T и rs34221221 T>C гена фактора транскрипции *FOXC2*.

3. Ни одна из выявленных ассоциаций не достигла статистической значимости после введения поправки на множественное сравнение. Возможно, это связано с недостаточным размером выборки.

Работа была выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 14-15-00734, тема: «Поиск генов, вовлеченных в патогенез варикозной болезни вен»).

Конфликт интересов отсутствует.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования — М.Ф., А.Ш., И.З., А.К.

Сбор и обработка материала — А.Ш., М.С., К.С., Е.С., А.Ш., Е.С., Е.С., М.Д., О.Ш., Е.И., Е.В., И.П., И.З.

Статистическая обработка — А.Ш., Е.С.

Написание текста — А.Ш.

Редактирование — И.З., М.Ф.

ЛИТЕРАТУРА

1. Beebe-Dimmer JL, Pfeifer JR, Engle JS, Schottenfeld D. The epidemiology of chronic venous insufficiency and varicose veins. *Annals of Epidemiology*. 2005;15(3):175-184.
doi: 10.1016/j.annepidem.2004.05.015.
2. Lim CS, Davies AH. Pathogenesis of primary varicose veins. *The British journal of surgery*. 2009;96(11):1231-1242.
doi: 10.1002/bjs.6798.
3. Pfisterer L, König G, Hecker M, Korff T. Pathogenesis of varicose veins — lessons from biomechanics. *VASA. Zeitschrift für Gefäßkrankheiten*. 2014;43(2):88-99.
doi: 10.1024/0301-1526/a000335.
4. Raffetto JD, Khalil RA. Mechanisms of varicose vein formation: valve dysfunction and wall dilation. *Phlebology*. 2008;23(2):85-98.
doi: 10.1258/phleb.2007.007027.
5. Segiet OA, Brzozowa M, Piecuch A, Dudek D, Reichman-Warmusz E, Wojnicz R. Biomolecular mechanisms in varicose veins development. *Annals of vascular surgery*. 2015;29(2):377-384.
doi: 10.1016/j.avsg.2014.10.009.
6. Krysa J, Jones GT, van Rij AM. Evidence for a genetic role in varicose veins and chronic venous insufficiency. *Phlebology*. 2012;27(7):329-335.
doi: 10.1258/phleb.2011.011030.

7. Bharath V, Kahn SR, Lazo-Langner A. Genetic polymorphisms of vein wall remodeling in chronic venous disease: a narrative and systematic review. *Blood*. 2014;124(8):1242-1250. doi: 10.1182/blood-2014-03-558478.
8. Fan C, Ouyang P, Timur AA, He P, You SA, Hu Y, Ke T, Driscoll D J, Chen Q, Wang QK. Novel roles of GATA1 in regulation of angiogenic factor AGGF1 and endothelial cell function. *The Journal of biological chemistry*. 2009;284(35):23331-23343. doi: 10.1074/jbc.M1109.036079.
9. Chen D, Li L, Tu X, Yin Z, Wang Q. Functional characterization of Klippel—Trenaunay syndrome gene AGGF1 identifies a novel angiogenic signaling pathway for specification of vein differentiation and angiogenesis during embryogenesis. *Human Molecular Genetics*. 2013;22(5):963-976. doi: 10.1093/hmg/dd501.
10. Hu Y, Li L, Seidelmann SB, Timur AA, Shen PH, Driscoll DJ, Wang QK. Identification of association of common AGGF1 variants with susceptibility for Klippel—Trenaunay syndrome using the structure association program. *Annals of human genetics*. 2008;72(Pt 5):636-643. doi: 10.1111/j.1469-1809.2008.00458.x.
11. Feder JN, Gnirke A, Thomas W, Tsuchihashi Z, Ruddy DA, Basava A, Dormishian F, Domingo R, Ellis MC, Fullan A, Hinton LM, Jones NL, Kimmel BE, Kronmal GS, Lauer P, Lee VK, Loeb DB, Mapa FA, McClelland E, Meyer NC, Mintier GA, Moeller N, Moore T, Morikang E, Prass CE, Quintana L, Starnes SM, Schatzman RC, Brunke KJ, Drayna DT, Risch NJ, Bacon BR, Wolff RK. A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nature genetics*. 1996;13(4):399-408. doi: 10.1038/ng0896-399.
12. Kartikasari AE, Georgiou NA, Visseren FL, van Kats-Renaud H, van Asbeck BS, Marx JJ. Endothelial activation and induction of monocyte adhesion by nontransferrin-bound iron present in human sera. *FASEB journal*. 2005;20(2):353-355. doi: 10.1096/fj.05-4700fje.
13. Fredriksen A, Meyer K, Ueland PM, Vollset SE, Grotmol T, Schneede J. Large-scale population-based metabolic phenotyping of thirteen genetic polymorphisms related to one-carbon metabolism. *Human mutation*. 2007;28(9):856-865. doi: 10.1002/humu.20522.
14. Austin RC, Lentz SR, Werstuck GH. Role of hyperhomocysteinemia in endothelial dysfunction and atherothrombotic disease. *Cell death and differentiation*. 2004;11(suppl1):S56-S64. doi: 10.1038/sj.cdd.4401451.
15. Wu S, Gao X, Yang S, Meng M, Yang X, Ge B. The role of endoplasmic reticulum stress in endothelial dysfunction induced by homocysteine thiolactone. *Fundamental & clinical pharmacology*. 2015;29(3):252-259. doi: 10.1111/fcp.12101.
16. Zhang D, Chen Y, Xie X, Liu J, Wang Q, Kong W, Zhu Y. Homocysteine activates vascular smooth muscle cells by DNA demethylation of platelet-derived growth factor in endothelial cells. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2012;53(4):487-496. doi: 10.1016/j.yjmcc.2012.07.010.
17. Brice G, Mansour S, Bell R, Collin JR, Child AH, Brady AF, Sarfarazi M, Burnand KG, Jeffery S, Mortimer P, Murday VA. Analysis of the phenotypic abnormalities in lymphoedema-distichiasis syndrome in 74 patients with FOXC2 mutations or linkage to 16q24. *Journal of medical genetics*. 2002;39(7):478-483. doi: 10.1136/jmg.39.7.478.
18. Mellor RH, Brice G, Stanton AW, French J, Smith A, Jeffery S, Levick JR, Burnand KG, Mortimer PS. Mutations in FOXC2 are strongly associated with primary valve failure in veins of the lower limb. *Circulation*. 2007;115(14):1912-1920. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.675348.
19. Zamboni P, Tognazzo S, Izzo M, Pancaldi F, Scapoli GL, Liboni A, Gemmati D. Hemochromatosis C282Y gene mutation increases the risk of venous leg ulceration. *Journal of vascular surgery*. 2005;42(2):309-314. doi: 10.1016/j.jvs.2005.04.003.
20. Surendran S, Girijamma A, Nair R, Ramegowda KS, Nair DH, Thulaseedharan JV, Lakkappa RB, Kamalapurkar G, Kartha CC. Forkhead box C2 promoter variant c.512C>T is associated with increased susceptibility to chronic venous diseases. *PLoS One*. 2014;9(3):e90682. doi:10.1371/journal.pone.0090682.



medi

CIRCAID¹

Революционный подход к компрессионному лечению хронических заболеваний вен и лимфатических отеков

¹ CIRCAID, Дрезден и Ремин на международной выставке 2018 г.

Медицинские неэластичные компрессионные бинды circaid[®]

Мировой эксперт в сфере компрессионных технологий компания medi (Германия) представляет новое поколение компрессионных изделий, объединенных под общим брендом circaid и предназначенных для эффективного лечения хронических заболеваний вен и лимфатических отеков.

Медицинские неэластичные компрессионные бинды (МНКБ) circaid – инновационные компрессионные изделия, которые не только обладают важными преимуществами медицинского компрессионного трикотажа (заданный уровень давления и его физиологическое распределение), но и дают возможность пациентам самостоятельно задавать терапевтический уровень давления и его физиологическое распределение в участках меняющегося объема конечности (при уменьшении или увеличении отека). Жесткость МНКБ circaid обеспечивает более высокий уровень рабочего давления, чем при многослойном биндовании бинтами короткой растяжимости. При этом МНКБ circaid просты и удобны в обращении и могут быть использованы в амбулаторных и/или домашних условиях в течение длительного времени. Это позволяет пациентам получать эффективное компрессионное лечение без привлечения медицинского персонала, сохраняя независимый и подлинный образ жизни.



Ball-In-Pressure[®] system (BPS)²

Система мониторинга и контроля уровня давления.

² патентная система (англ-го)



Variety[®]

Многообразие видов изделий для удовлетворения потребностей широкого круга пользователей.

³ патент



Breathe-O-Plane[®]

Дышащий, гибкий и комфортный при использовании материал.

⁴ патент



Easy handling[®]

Легкое надевание и снятие, простота в использовании.

⁵ патент



Layered band system⁴

Система лент, исходящих из центральной части изделия и последовательно накладывающихся друг на друга, обеспечивает наилучшую посадку и дает возможность индивидуально регулировать бинды во время использования.

⁴ патентная система (англ)



Inelastic⁷

Неэластичный, как кожа жирафа, материал – основа технологии всех продуктов circaid.

⁷ патент

medi. I feel better.



ФИБРО-ВЕЙН™ 3 1 .5 .2 %

ВЫБОР ПРОФЕССИОНАЛОВ ДЛЯ СКЛЕРОТЕРАПИИ



**Владелец регистрационного удостоверения
и выпускающий контроль качества
СТД Фармасьютикал Продактс Лтд
Пилу Лейн, Харрофорд, HR4 0EL, Великобритания**

**Официальный представитель в РФ
ООО «МЕДИ РУС», Россия, 121508
Москва, ул. Осенняя, 4, корп. 1
+7 (485) 374-04-55, доб. 161, 173
fibrovein@medirus.ru
www.fibrovein.ru
www.medirus.ru**



На правах рекламы

Торговое наименование: ФИБРО-ВЕЙН® (FIBRO-VEIN®). Международное непатентованное наименование: Натрия тетрадецилсульфат. Активные вещества: Фибро-вейн 3% (30 мг/мл), Фибро-вейн 1.5% (15 мг/мл), Фибро-вейн 0.5% (5 мг/мл), Фибро-вейн 0.2% (2 мг/мл). Состав: Натрия тетрадецилсульфат, Бензиловый спирт, Калий дигидрофосфат, Натрия тетрафосфат (дигидрат), Натрия гидроксид, Вода для инъекций. Владелец регистрационного удостоверения и выпускающий контроль качества: СТД Фармасьютикал Продактс Лтд, Пилу Лейн, Харрофорд, HR4 0EL, Великобритания. Производитель: Хамелон Фармасьютикал ГмбХ, Лангес Фельд 13, 31788 Хамелон, Германия. Регистрационный номер: П 00147027/01.