



DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-3-0-6

УДК 575.174.015.3:577.125:616.127-005.4

Полиморфизм гена *VEGFA*, курение и ишемическая болезнь сердца: значимость генно-средовых взаимодействий для развития заболевания

М.А. Солодилова , М.В. Медведева , М.А. Быканова ,
О.В. Васильева , В.П. Иванов

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет», ул. Карла Маркса, д. 3, г. Курск, 305041, Российская Федерация
Автор для переписки: М.В. Медведева (medvedevamariakgavm@yandex.ru)

Резюме

Актуальность: В России ишемическая болезнь сердца (ИБС) является очень распространенным заболеванием, характеризующимся высокой смертностью, поэтому проблема раннего прогноза и профилактики данного заболевания представляется особенно актуальной. В связи с мультифакториальной этиологией ИБС, понимание генетических факторов развития заболевания медицинскими работниками является перспективным для более полноценного формирования групп риска среди населения нашей страны и проведения предупредительных мероприятий. **Цель исследования:** Изучение роли взаимодействий полиморфизмов гена сосудистого эндотелиального фактора роста-А (*VEGFA*) и курения в развитии ИБС. **Материалы и методы:** Образцы ДНК 1214 неродственных индивидов (555 больных ИБС и 659 здоровых лиц) использовались для генотипирования SNPs rs3025039, rs2010963, rs833061, rs3025000 и rs833068 гена *VEGFA* методом ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) с помощью TaqMan-зондов. **Результаты:** Мы впервые выявили ассоциации полиморфных вариантов rs2010963, rs833061, rs3025000 и rs833068 с риском развития ИБС исключительно у курильщиков независимо от пола и возраста ($P_{G \times E} \leq 0,01$). Установлено, что аллели rs2010963C, rs833061T, rs3025000T и rs833068A были ассоциированы с повышением уровня экспрессии гена *VEGFA* в тканях организма. **Заключение:** SNPs rs3025000 и rs833068 в рамках данной работы были впервые нами представлены как генетические маркеры предрасположенности к ишемической болезни сердца. Рассмотренные полиморфные варианты гена *VEGFA* (rs2010963, rs833061, rs3025000 и rs833068) ассоциированы с риском развития ИБС посредством потенцирования негативных влияний химических компонентов табачного дыма на формирование атеросклеротического процесса в коронарных артериях.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца; ген сосудистого эндотелиального фактора роста-А (*VEGFA*); однонуклеотидный полиморфизм (SNP); куре-

ние; генно-средовые взаимодействия; аннотирование SNP; эпигенетические модификации

Для цитирования: Солодилова МА, Медведева МВ, Быканова МА, и др. Полиморфизм гена *VEGFA*, курение и ишемическая болезнь сердца: значимость генно-средовых взаимодействий для развития заболевания. Научные результаты биомедицинских исследований. 2020;6(3):350-366. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-3-0-6

Polymorphism of the *VEGFA* gene, smoking and coronary heart disease: the significance of gene-environmental interactions for disease susceptibility

Maria A. Solodilova , Maria V. Medvedeva , Marina A. Bykanova ,
Oksana V. Vasilyeva , Vladimir P. Ivanov 

Kursk State Medical University,
3 Karl Marx St., Kursk, 305041, Russia

Corresponding author: Maria V. Medvedeva (medvedevamariakgavm@yandex.ru)

Abstract

Background: Coronary heart disease (CHD) is a common disease with a high mortality rate in Russia, so the problem of early prognosis and prevention of this disease is particularly relevant. In connection with the multifactorial etiology of CHD, understanding the genetic factors of the disease development for medical professionals is promising for more complete formation of risk groups among the population of our country and carrying out preventive measures. **The aim of the study:** To investigate the role of interactions between *VEGFA* gene polymorphisms and smoking in coronary heart disease (CHD) risk. **Materials and methods:** DNA samples from 1214 unrelated individuals (555 CHD patients and 659 controls) were genotyped for SNPs rs3025039, rs2010963, rs833061, rs3025000 and rs833068 of *VEGFA* by the TaqMan-based assays. **Results:** In this study, we found that the alleles rs2010963C, rs833061T, rs3025000T, and rs833068A were associated with increased expression of the *VEGFA* gene in body tissues. For the first time we have identified associations of the polymorphic variants of rs2010963, rs833061, rs3025000 and rs833068 with the risk of developing coronary heart disease exclusively in smokers, regardless of gender and age ($PG \times E \leq 0,01$). **Conclusion:** In the framework of this work, SNPs rs3025000 and rs833068 were first presented by us as genetic markers of predisposition to coronary heart disease. The considered polymorphic variants of the *VEGFA* gene (rs2010963, rs833061, rs3025000 and rs833068) are associated with the risk of developing heart artery disease by potentiating the negative effects of the chemical components of smoke on the formation of the atherosclerotic process in the coronary arteries.

Keywords: coronary heart disease; vascular endothelial growth factor A gene (*VEGFA*); single nucleotide polymorphism (SNP); smoking; gene-environment interactions; SNP annotation; epigenetic modifications

For citation: Solodilova MA, Medvedeva MV, Bykanova MA, et al. Polymorphism of the *VEGFA* gene, smoking and coronary heart disease: the significance of gene-environmental interactions for disease susceptibility. *Research Results in Biomedicine*. 2020;6(3):350-366. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-3-0-6

Введение. Ишемическая болезнь сердца (ИБС) – это заболевание, возникающее вследствие уменьшения или прекращения кровоснабжения миокарда, в связи с поражением в системе коронарных артерий. Согласно статистическим данным в 2016 году в Российской Федерации было зарегистрировано более 7 миллионов пациентов с установленным диагнозом ИБС, а смертность от заболевания составила 397,4 случаев на 100 тысяч человек [1]. Согласно данным ВОЗ в подавляющем большинстве развитие случаев ИБС (примерно у 95% больных) связано с атеросклеротическим процессом в коронарных артериях. Основными факторами риска развития ИБС являются: артериальная гипертензия, ожирение, гиперхолестеринемия, сахарный диабет 2-го типа, принадлежность к мужскому полу, наследственная отягощенность по ИБС, нерациональное питание, курение, а также возраст старше 55 лет [2, 3].

Известно, что этиология ишемической болезни сердца имеет мультифакториальную природу, то есть в развитии заболевания играют роль взаимодействия многочисленных генетических и средовых факторов [4]. К настоящему времени идентифицирован широкий спектр генов, ассоциированных с предрасположенностью к ИБС, включая полиморфные варианты генов регуляции липидного обмена, контролирующих свертывание крови и тонус сосудов, факторов адгезии и эндотелиальной дисфункции [5]. Установленные ген-кандидаты, ассоциированные с предрасположенностью к ИБС, характеризовались слабыми или умеренными фенотипическими эффектами и даже их совокупное влияние на коронарный атеросклероз объ-

ясняет лишь незначительную долю подверженности болезни, что указывает на значимую роль факторов окружающей среды в формировании заболевания [5]. Как правило, в генетических исследованиях этиологии ИБС, как впрочем, и других мультифакториальных заболеваний, совместная оценка генетических маркеров и средовых факторов на развитие болезни проводится далеко не во всех работах, хотя именно для этого класса болезней влияние факторов окружающей среды имеет наибольшее значение [6]. Хорошо известно, что курение в значительной степени повышает риск развития ИБС, особенно у генетически восприимчивых людей [7]. Однако молекулярные механизмы, посредством которых средовые факторы потенцируют влияние генов на развитие ИБС, по-прежнему, остаются еще недостаточно изученными.

Одной из патогенетически значимых для развития ИБС групп генов, потенциально вовлеченных в формирование артериального русла (в том числе коронарных артерий) и развитие коллатерального кровообращения, являются сосудистые эндотелиальные факторы роста (*VEGF*). Семейство *VEGF* включают в себя шесть факторов роста: *VEGFA*, *VEGFB*, *VEGFC*, *VEGFD*, *VEGFE* и плацентарный фактор роста (*PLGF*) [8]. Одним из генов, которые могут вносить вклад в развитие ИБС, является *VEGFA*, который регулирует миграцию, пролиферацию и дифференцировку клеток эндотелия сосудов, в связи с чем, полиморфные варианты данного гена представляют интерес в качестве потенциальных генетических маркеров риска развития ИБС. Полиморфные варианты гена *VEGFA* при ИБС ранее были изучены в не-

которых популяциях мира, а их результаты суммированы в двух недавно опубликованных мета-анализах [9, 10]. Мета-анализ, выполненный Wang с соавт. [9], позволил установить взаимосвязь между однонуклеотидными полиморфизмами (SNPs) rs699947 и rs3025039 гена *VEGFA* и повышенным риском ИБС. Кроме того, полиморфизм rs2010963 был связан с развитием инфаркта миокарда. Результаты мета-анализа, проведенного Ma с соавт. [10], подтвердили результаты Wang с соавт., и показали, что полиморфизмы rs699947, rs2010963 и rs3025039 гена *VEGF* ассоциированы с повышенным риском развития ИБС. Анализ подгрупп, стратифицированный по расово-этническому признаку, показал, что полиморфизмы rs699947 и rs3025039 связаны с риском развития ИБС только в азиатских популяциях [10], тем самым, демонстрируя межрасовые/межэтнические различия во вкладе полиморфных вариантов гена *VEGFA* в детерминацию предрасположенности к ИБС. К сказанному следует добавить, что исследований, сфокусированных на поиске ассоциаций полиморфных вариантов гена *VEGFA* с риском развития ИБС в российских популяциях до настоящего времени не проводилось, а исследования, которые бы анализировали совместные влияния факторов риска (например, курения) и полиморфизмов *VEGFA* на риск развития болезни в мире немногочисленны.

Цель исследования. Целью настоящего исследования явилось изучение роли взаимодействий полиморфных вариантов гена сосудистого эндотелиального фактора роста-А и одного из ведущих средовых факторов риска болезни – курения в реализации наследственной предрасположенности к ишемической болезни сердца. Важной задачей исследования был биоинформатический анализ регуляторного потенциала SNPs, которые покажут ассоциации с развитием ИБС, с целью патофизиологической интерпретации гено-фенотипических корреляций.

Материалы и методы. В исследование было включено 1214 образцов ДНК

биобанка научно-исследовательского института генетической и молекулярной эпидемиологии Курского государственного медицинского университета (КГМУ). Исследуемая когорта включала образцы ДНК 555 больных с диагнозом ИБС (53% мужчин и 47% женщин) и 659 относительно здоровых добровольцев без хронических заболеваний (51% мужчин и 49% женщин) – неродственных жителей Курской области славянского происхождения (более 90% были этнически русскими). У всех пациентов было получено информированное согласие на участие в исследовании. Протокол исследования был рассмотрен и утвержден на заседании Регионального этического комитета при КГМУ.

Все пациенты с ИБС находились на стационарном лечении в кардиологическом отделении, отделении сосудистой хирургии и рентгенохирургических методов диагностики областной клинической больницы (БМУ КОКБ), кардиологическом отделении больницы скорой медицинской помощи (ОБУЗ КГКБ СМП) г. Курска в период с 2011 по 2015 гг. в рамках проведения генетико-эпидемиологических исследований различных сердечно-сосудистых заболеваний [11-15]. Диагноз ИБС (стенокардия, инфаркт миокарда, постинфарктный кардиосклероз) устанавливался квалифицированными врачами-кардиологами на основании результатов клинического и лабораторно-инструментального обследования (данные суточного мониторирования ЭКГ, коронарографии). Анкетирование по наличию фактора риска курение проводилось при непосредственном общении с пациентами с использованием анкеты, разработанной на кафедре биологии, медицинской генетике и экологии КГМУ и использовавшейся нами в ранее проводившихся исследованиях [12, 13, 14, 16, 17].

Выделение ДНК производилось из цельной венозной крови методом фенольно-хлороформной экстракции. Для исследования было отобрано пять частых SNP rs3025039, rs2010963, rs833061, rs3025000 и rs833068 гена *VEGFA*. Выбор SNPs осно-

вывался на оценке гаплотипической структуры гена (отбор tagSNPs, $r^2 \geq 0.8$), частоте минорного аллеля (MAF > 5%), регуляторном потенциале SNP – параметрах, необходимых для наиболее полного охвата вариабельности гена и включения наиболее функционально значимых полиморфных вариантов [18]. Генотипирование ДНК-полиморфизмов гена *VEGFA* проводилось методом ПЦР в режиме реального времени с дискриминацией аллелей с помощью TaqMan-зондов на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad, США) с использованием коммерческих наборов Applied Biosystems (Thermo Fisher Scientific).

Статистическая обработка генетических и фенотипических данных осуществлялась с использованием программы SNPstats [19]. Ассоциации аллелей и генотипов *VEGFA* с развитием ИБС оценивались отдельно в группах, стратифицированных по наличию/отсутствию фактора риска курения, методом логистического регрессионного анализа посредством расчета показателя отношения шансов (OR) и границ 95%-го доверительного интервала (CI) с поправкой на пол и возраст индивидов. Программа SNPstats также рассчитывала уровень значимости, отражающий взаимодействие SNP-фактор риска - т.е. генно-средовые взаимодействия (P_{GxE}). С целью интерпретации выявленных ассоциаций полиморфных вариантов гена *VEGFA* нами проводилось функциональное аннотирование SNPs с использованием доступных биоинформатических инструментов и интернет-ресурсов. С целью выявления QTLs (локусов количественных признаков), ассоциированных с исследуемыми полиморфизмами, нами использовались базы данных: eQTLGen (<https://www.eqtlgen.org/cis-eqtl.html>), GTEx portal (<https://www.gtexportal.org>) и QTLbase (<http://mulinlab.tmu.edu.cn/qtlbase/index.html>). Для изучения потенциальных механизмов эпигенетической регуляции экспрессии гена *VEGFA*, осуществляемой при участии его полиморфных вариантов нами использовались биоинформатические ре-

сурсы SNPnexus (<https://www.snp-nexus.org/index.html>), интегрирующие экспериментальные данные проектов ENCODE (<https://www.encodeproject.org>) и Roadmap Epigenomics (<http://www.roadmapepigenomics.org>) и позволяющие выявлять функциональные элементы в геноме человека, которые контролируют экспрессию генов в различных видах клеток и тканей. Биоинформатический инструмент atSNP search [20] использовался нами для предсказания связывающей способности транскрипционных факторов (ТФ) с ДНК-мотивами в области SNPs, потенциально влияющих на экспрессию гена *VEGFA*. Программа позволяет рассчитывать статистики (P -уровни значимости) аффинности связывания ТФ с ДНК-мотивами, включающими каждый аллель, на основе оценки параметров PWM (position weight matrices – позиционные весовые матрицы) [21] – биоинформатического метода поиска мотивов в биологических последовательностях. Пороговое значение уровня значимости $P < 0,01$ было принято для отбора кандидатных ТФ, в отношении которых *in silico* тестируемый аллель создает (gain) или теряет (loss) участок связывания для специфического регулятора транскрипции.

Результаты и их обсуждение. Распределение частот генотипов в группах больных ИБС и контроля находилось в соответствии с равновесием Харди-Вайнберга PХВ за исключением rs3025039, в отношении которого установлено статистически значимое отклонение от PХВ ($P < 0,01$). Частоты минорных аллелей (MAF) полиморфных вариантов гена *VEGFA* в исследуемой нами выборки жителей Курской области были сопоставимы с таковыми в других европеоидных популяциях ($P > 0,05$). В частности, MAF SNPs rs3025039 (Т), rs2010963 (С), rs833061 (С), rs3025000 (Т) и rs833068 (А) в исследованной нами популяции и усредненные MAF в европейских популяциях (данные проекта HapMap, www.ensembl.org) были следующими: 0,13, 0,27, 0,49, 0,26, 0,27 и 0,12, 0,31, 0,50, 0,29, 0,31, соответственно.

В таблице 1 представлены результаты анализа ассоциаций полиморфных вариантов гена *VEGFA* с риском развития ИБС в зависимости от наличия у пациентов фактора риска курения. Четыре из пяти полиморфизмов *VEGFA* показали статистически значимые генно-средовые взаимодействия, отражающие синергичное влияние курения и SNPs на риск развития болезни. Так, генотипы G/G и C/G (генотипы с вариантным аллелем G) SNP rs2010963 оказались нейтральными в отношении влияния на риск развития ИБС у некурящих индивидов ($P=0,19$), в то время как у курящих (P=0,003) указанные

генотипы увеличивали риск развития болезни, ($P_{G \times E}=0,0009$). Ассоциации с аналогичной направленности наблюдались и для полиморфизмов rs833061, rs3025000 и rs833068 ($P_{G \times E} \leq 0,01$). В частности, генотипы C/C-T/C rs833061 ($P=0,001$), C/C-T/C rs3025000 ($P=0,008$) и G/G-G/A rs833068 ($P=0,007$) были ассоциированы с повышенным риском развития ИБС у курящих, а у некурящих индивидов не оказывали никакого влияния на развитие болезни ($P > 0,05$). При этом выявленные генно-средовые взаимодействия не зависели от пола и возраста пациентов.

Таблица 1

Влияние курения на риск развития ИБС у носителей генотипов сосудистого эндотелиального фактора роста

Table 1

Influence of smoking on the risk of CHD in carriers of vascular endothelial growth factor genotypes

SNP <i>VEGFA</i>	Генотип	Некурящие ¹		OR (95%CI) ²	Курящие ¹		OR (95%CI) ²	$P_{G \times E}$ ³
		Контроль	ИБС		Контроль	ИБС		
rs3025039	T/T	0 (0,0)	2 (0,7)	1,00	0 (0,0)	2 (1,1)	1,00	1,00
	C/C-C/T	383 (100,0)	305 (99,3)	0,00	228 (100,0)	186 (98,9)	0,00	
rs2010963	C/C	29 (7,3)	31(10,1)	1,00	33 (13,9)	10(5,3)	1,00	0,0009
	G/G-C/G	367 (92,7)	276(89,9)	0,68 (0,40-1,15)	204 (86,1)	178 (94,7)	2,98 (1,43-6,23)	
rs833061	T/T	80 (20,2)	72 (23,5)	1,00	80 (33,8)	36 (19,1)	1,00	0,0008
	C/C-T/C	316 (79,8)	235 (76,5)	0,82 (0,57-1,17)	157 (66,2)	152 (80,9)	2,19 (1,39-3,45)	
rs3025000	T/T	27 (6,9)	24 (7,8)	1,00	29 (12,2)	9 (4,8)	1,00	0,01
	C/C-T/C	365 (93,1)	283 (92,2)	0,85 (0,48-1,51)	208 (87,8)	179 (95,2)	2,87 (1,32-6,22)	
rs833068	A/A	145 (36,6)	109 (35,5)	1,00	33 (13,9)	11 (5,9)	1,00	0,0007
	G/G-G/A	251 (63,4)	198 (64,5)	0,60 (0,35-1,03)	204 (86,1)	177 (94,1)	2,69 (1,32-5,50)	

Примечание: ¹ – абсолютное число и процент лиц с указанным генотипом; ² – отношение шансов с 95% доверительными интервалами с поправками на пол и возраст; ³ – уровень значимости, отражающий генно-средовые взаимодействия.

Note: ¹ – the absolute number and percentage of individuals with the indicated genotype; ² – odds ratio with 95% confidence intervals adjusted for gender and age; ³ – significance level, reflecting the gene-environmental interactions.

В таблице 2 представлены результаты анализа неравновесия по сцеплению между исследуемыми полиморфными

вариантами гена *VEGFA*. Как можно увидеть из таблицы 2, полиморфизмы rs2010963, rs833061, rs3025000 и rs833068

находились в тесном неравновесии по сцеплению друг с другом ($D' > 0,9$), тогда как SNP rs3025039 не был сцеплен ни с

одним из исследованных полиморфизмов *VEGFA*.

Таблица 2

Неравновесие по сцеплению (D') между полиморфными вариантами гена сосудистого эндотелиального фактора роста

Table 2

Linkage disequilibrium (D') between polymorphic variants of the vascular endothelial growth factor gene

SNP ID	rs3025039	rs2010963	rs833061	rs3025000	rs833068
rs3025039	-	0,0378	0,0959	0,0281	0,0298
rs2010963	-	-	0,9391	0,9558	0,9747
rs833061	-	-	-	0,9346	0,9503
rs3025000	-	-	-	-	0,967
rs833068	-	--	-	-	-

Примечание: жирным шрифтом выделены статистически значимые показатели D' ($P = 2.0 \times 10^{-16}$).

Note: statistically significant indicators D' ($P = 2.0 \times 10^{-16}$) are in bold.

Для интерпретации выявленных ассоциаций нами было проведено функциональное аннотирование SNPs с использованием различных биоинформатических инструментов и онлайн-ресурсов. В таблице 3 представлены сводные данные по результатам функционального аннотирования полиморфных вариантов гена *VEGFA*. Базы данных eQTLGen, GTEx portal and QTLbase позволили установить, что исследуемые SNPs имеют статистически значимые eQTLs (expression Quantitative Trait Loci) – локусы, ассоциированные с экспрессией гена *VEGFA* в различных видах тканей и типов клеток. В большей степени нас интересовали клетки и ткани, которые могли бы иметь прямые или косвенные патофизиологические взаимосвязи с атеросклерозом коронарных артерий – т.е. артерии, ткани миокарда и клетки крови. Мы проанализировали данные функционального аннотирования для SNP, в отношении которых нами были выявлены статистически значимые генно-средовые взаимодействия. Мы обнаружили, что аллель G rs2010963 ассоциирован со снижением экспрессии гена *VEGFA* в крови согласно данным, полученным при использовании биоинформатических ресурсов QTLbase ($P = 1,0 \times 10^{-4}$) и eQTLGen ($P = 1,3 \times 10^{-26}$). Согласно результатам эпигенетического анализа, выполненного с использованием ресурса Roadmap Epigenomics Project, SNP

rs2010963 ассоциирован с химическими модификациями гистона H3K4me3 в аорте, правом предсердии и левом желудочке сердца, а также гистона H3K27ac в правом предсердии и левом желудочке сердца. С помощью биоинформатического инструмента Regulatory Build (Ensembl) установлено, что SNP rs2010963 расположен в участке промотора, ассоциированном с повышением транскрипционной активности гена в аорте, правом предсердии и левом желудочке сердца.

В отношении SNP rs833061 с помощью ресурса eQTLGen обнаружен один статистически значимый *cis*QTL – аллель T ассоциировался с увеличением экспрессии гена *VEGFA* в крови ($P = 4,4 \times 10^{-12}$). Данный полиморфизм был также ассоциирован с sQTL в левом желудочке сердца ($P = 9,2 \times 10^{-10}$). sQTL (splicing quantitative trait locus) представляют собой сплайс-инговые локусы количественных признаков, которые посредством включения или исключения интронов могут регулировать альтернативный сплайсинг, тем самым формировать различные изоформы фермента в тканях. Кроме того, для SNP rs833061 в лимфоцитах крови обнаружен caQTL (chromatin accessibility quantitative trait locus) – аллель T был ассоциирован с доступностью хроматина для регуляции экспрессии рядом расположенных генов ($P = 5,1 \times 10^{-08}$).

Таблица 3

Функциональное аннотирование SNPs гена VEGFA с помощью биоинформатических инструментов

Table 3

Functional annotation of the VEGFA gene SNPs using bioinformatics tools

SNP ID	Аллели	Локализация	sQTL	Уровень экспрессии VEGFA (eQTL анализ)								Эпигенетическая регуляция				TFBS (atSNP)
				Кровь			Артерии, аорта		Сердце		Фибробласты	Regulatory Build		Модификация гистонов		
				GTEX	eQTLGen	QTLbase	GTEX	QTLbase	GTEX	QTLbase		Артерии, аорта	Сердце	Артерии, аорта	Сердце	
rs3025039	C/T	3'UTR	-	-	√	√	-	-	-	-	-	-	-	-	√	√
rs2010963	C/G	5'UTR	-	-	√	√	-	-	-	-	-	√	√	√	√	√
rs833061	C/T	Upstream Variant	√	-	√	-	-	-	-	-	-	√	√	√	√	√
rs3025000	C/T	intron	-	-	√	√	-	-	-	-	√	-	-	-	√	√
rs833068	G/A	intron	-	-	√	√	-	-	-	-	-	-	-	-	√	√

Примечание: TFBS (Transcription Factor Binding Site) – наличия участка связывания для транскрипционного фактора.

Note: TFBS (Transcription Factor Binding Site) - the presence of a binding site for a transcription factor.

С помощью ресурса Roadmap Epigenomics Project установлено, что SNP rs833061 ассоциируется с модификациями гистонов H3K36me3, H3K4me3 и H3K27ac в правом предсердии и аорте, а также гистона H3K27ac в левом желудочке сердца. Кроме того, онлайн-инструмент Regulatory Build показал, что SNP rs833061 расположен в участке промотора, усиливающего транскрипционную активность гена в аорте, правом предсердии и левом желудочке сердца.

Анализ транскриптомных данных портала GTEx показал, что аллель T SNP rs3025000 ассоциирован с повышением экспрессии гена VEGFA в культивированных фибробластах ($P=0,000003$) и крови ($P=3,4 \times 10^{-28}$). Кроме того, с полиморфизмом rs3025000 ассоциировались модификации гистонов H3K4me1 и H3K36me3 в левом желудочке сердца были. Согласно данным ресурса eQTLGen аллель A rs833068 ассоции-

ровался с повышением экспрессии гена VEGFA в крови ($P=1,1 \times 10^{-27}$). В правом предсердии и левом желудочке сердца SNP rs833068 ассоциировался с химическими модификациями гистоновых белков, а именно H3K4me3 и H3K4me1, а также с гистонами H3K4me1 и H3K27ac в левом желудочке сердца.

С помощью *in silico* инструмента atSNP search установлено, что исследованные полиморфные варианты гена попадают в участки связывания для различных транскрипционных факторов, способных оказывать влияние на экспрессию гена VEGFA. Наибольший интерес представляли именно аллели, ассоциированные с риском развития ИБС у курильщиков. В частности, нами было предсказано, что аллель G SNP rs2010963 формирует участки связывания для транскрипционных факторов: SP1 ($P=0,0009$), NRF1 ($P=0,005$), NR3C1 ($P=0,004$), ETS1 ($P=0,009$), BDP1

($P=0,0001$), RARA ($P=0,005$) и REST ($P=0,0005$). Аллель С полиморфизма rs833061 формировал участки связывания для ТФ, таких как: ETS1 ($P<0,0001$), HINFP ($P=0,0009$), E2F1 ($P=0,002$), семейство ТФ EGR ($P=0,007$) и FOXN1 ($P=0,007$). В отношении аллеля С SNP rs3025000 установлены участки связывания для восьми транскрипционных факторов, а именно: RXRA ($P=0,009$), REST ($P<0,0001$), HNF4 ($P<0,0001$), VDR ($P=0,001$), NR2F1 ($P=0,008$), VDR ($P=0,007$), ZBTB18 ($P=0,009$) и HNF4A ($P=0,007$). Аллель А полиморфизма rs833068 ассоциировался с формированием участков связывания для ТФ IRF1 ($P=0,009$), RHOXF1 ($P=0,007$), HNF1 ($P=0,007$), TBX21 ($P=0,007$), ZNF652 ($P=0,0005$) и HNF1A ($P=0,005$). Проведенное исследование подтвердило ранее выявленную взаимосвязь полиморфизма rs2010963 ($-405C>G$) гена сосудистого эндотелиального фактора роста А с риском развития ИБС [10], в то время как в исследуемой нами популяции ассоциация SNP rs3025039 ($+936C>T$) с риском развития болезни не была воспроизведена. Нами подтверждена также ассоциация SNP rs833061 ($-460C>T$) с риском развития ИБС, обнаруженная ранее у англичан [22]. Ассоциации полиморфных вариантов rs3025000 и rs833068 гена *VEGFA* с риском развития ишемической болезни сердца нами были впервые выявлены.

В целом, результаты исследования демонстрируют, с одной стороны, значимость варибельности гена *VEGFA* в детерминации наследственной предрасположенности к ИБС, с другой – существование межпопуляционных различий во вкладе отдельных полиморфных вариантов данного класса генов. Эти различия могут быть объяснены, как гаплотипической структурой генофондов различных этносов, так и популяционно-географическими особенностями воздействия известных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний на население. В этой связи изучение генно-средовых

взаимодействий позволит глубже проникнуть в понимание механизмов, посредством которых происходит реализации наследственной предрасположенности к мультифакториальным заболеваниям в отдельно взятой популяции. Учитывая то, что исследования триггерного влияния курения на взаимосвязь полиморфных вариантов гена *VEGFA* в мире не многочисленны, новизна настоящего исследования заключалась в том, что нами впервые осуществлен анализ ассоциации различных полиморфных вариантов гена *VEGFA* с развитием ишемической болезни сердца в российской популяции, а также установлены генно-средовые взаимодействия – совместные влияния полиморфных вариантов гена и курения на риск развития заболевания.

Полученные результаты могут свидетельствовать о том, что полиморфные варианты rs2010963, rs833061, rs3025000 и rs833068 гена *VEGFA* ассоциированы с риском развития ИБС посредством потенцирования негативных влияний химических компонентов табачного дыма на формирование атеросклеротического процесса в коронарных артериях. В отдельных работах, выполненных ранее в других популяциях мира, были также обнаружены взаимодействия курения и полиморфных вариантов гена *VEGFA*. Так, в работе Chen с соавт. [22] было показано, что промоторный полиморфизм $-2578A>C$ (rs699947), находящийся в выраженном неравновесии по сцеплению с SNP rs833061, увеличивает риск развития ИБС у курильщиков, что согласуется с полученными нами результатами об ассоциации SNP rs833061 с развитием болезни у курящих индивидов. Примечательно, что подобные генно-средовые взаимодействия были ранее обнаружены и в отношении риска развития других заболеваний, что может указывать на неспецифичность механизмов влияния курения на риск развития болезней, развитие которых детерминируется полиморфными вариантами гена *VEGFA*. К примеру, было ранее установлено, что

генотипы -460CT+CC SNP rs833061 ассоциированы с повышенным риском развития аденокарциномы пищевода исключительно у курильщиков, а у некурящих, эти генотипы, наоборот, снижали риск развития данной формы рака [23].

В рамках настоящего исследования нами была предпринята попытка всестороннего биоинформатического анализа регуляторного потенциала полиморфизмов для понимания механизмов, посредством которых они связаны с формированием ИБС при участии фактора риска курения. Интегрированные данные транскриптомного и геномного анализа интернет-ресурсов eQTLGen, GTEx portal и QTLbase позволили установить взаимосвязи полиморфных вариантов с уровнем экспрессии гена *VEGFA* в различных тканях. Так, аллели rs2010963C, rs833061T, rs3025000T и rs833068A были ассоциированы с увеличением экспрессии гена *VEGFA*. Данная находка была ожидаемой, так как согласно полученным нами данным эти SNPs находятся в тесном неравновесии по сцеплению друг с другом ($D > 0,9$). Результаты геномно-транскриптомного анализа подтверждаются и результатами биохимических исследований. К примеру, известно, что генотип rs2010963CC ассоциирован с увеличением уровня *VEGFA* в плазме крови [24] и связан с повышенной экспрессией гена согласно полученным нами данным биоинформатического анализа. Возникает вполне логичный вопрос, каким образом аллели, ассоциированные со снижением экспрессии *VEGFA* (согласно результатам транскриптомных исследований), увеличивают риск развития ишемической болезни сердца у курильщиков и действительно ли указанные аллели увеличивают транскрипционную активность гена? Для поиска ответа на данный вопрос можно обратиться к результатам *in silico*-анализа эпигенетической регуляции экспрессии гена *VEGFA*. Основываясь на результатах *in silico* анализа

эпигенетического регуляторного потенциала SNPs Химические модификации гистонов (ацетилирование и метилирование), находящиеся в окружении мотивов ДНК, включающие участки вариабельности нуклеотидов, ассоциированные с риском ИБС, могут способствовать усилению транскрипционной активности гена *VEGFA* в миокарде, а также аорте (по всей видимости, в том числе и в коронарных артериях). В частности, модификация гистона H3K4me3 (добавление трех метильных групп к остатку лизину в 4-м положении гистона H3) была связана с активацией транскрипции рядом расположенных промоторов генов [25], увеличивая доступ хроматина к транскрипционным факторам. Известно, что “метка” H3K27ac (ацетилирование гистона H3 на 27-м остатке лизина), располагаясь в области старта транскрипции (TSS), способствует активации транскрипции генов [26]. Модификация гистона H3K36me3 (добавление трех метильных групп к 36-му остатку лизина гистона H3) также связана с транскрипционной активацией генов [27]. H3K4me1 (метилирование по 4-му остатку лизина гистона H3) располагается в области активных энхансеров, тонко настраивая усиление экспрессии рядом расположенных генов [28]. Таким образом, SNPs, ассоциированные у курильщиков с развитием ИБС, посредством эпигенетических модификаций гистонов могут способствовать усилению транскрипционной активности гена *VEGFA*. Какое отношение к такому эффекту может иметь курение? Интересен тот факт, что результаты многочисленных эпидемиологических и экспериментальных исследований на животных установили, что химические компоненты табачного дыма действительно способны усиливать экспрессию и секрецию сосудистого эндотелиального фактора роста [29-34].

Вышеизложенные примеры наглядно демонстрируют, что табачный дым представляет собой потенциальный модулятор активности и/или экспрессии

сосудистого эндотелиального фактора роста. Можно предположить, что такая модуляция экспрессии связана со способностью компонентов табачного дыма вызывать химические модификации гистонов, распаковывая хроматин для связывания ДНК с ТФ, как это было наглядно продемонстрировано на клетках легочных тканей у курильщиков [35].

В целом, полученные нами результаты показывают, что риск ИБС у курильщиков зависит от носительства определенных аллелей. В этой связи заслуживают внимание результаты *in silico*-предсказания участков связывания для транскрипционных факторов в области ДНК-мотивов, включающих ассоциированные с ИБС аллели гена *VEGFA*. В частности было предсказано *in silico*, что аллель G SNP rs2010963 формирует участки связывания для различных транскрипционных факторов, из которых представляют интерес два – SP1 и ETS1. Известно, что табачный дым вызывает усиление экспрессии транскрипционного фактора SP1, который *trans*-активирует гены-мишени, нуклеотидные последовательности которых имеют участки связывания для этого ТФ [36]. Таким образом, можно предположить, что связывание SP1 с участком ДНК промотора гена *VEGFA* может способствовать активации его экспрессии у носителей G-аллеля SNP rs2010963. Другой транскрипционный активатор – ETS1, способный связываться с промотором гена *VEGFA* у носителей G-аллеля rs2010963 по результатам *in silico*-анализа, известен в качестве регулятора ангиогенеза посредством влияния на экспрессию генов, контролирующих миграцию и инвазию эндотелиальных клеток сосудов [37]. Подтверждением взаимодействия ETS1-*VEGFA* являются экспериментальные данные проекта ENCODE [38], которые демонстрируют, что ген *VEGFA* действительно является мишенью для действия транскрипционного фактора ETS1.

Следует также рассмотреть механизмы, объясняющие взаимосвязь повышенной экспрессии гена *VEGFA* с развитием коронарного атеросклероза. Очевидно, что патологическое действие курения на развитие атеросклероза посредством влияния на экспрессию гена *VEGFA* реализуется уже на фоне сформировавшихся еще в пренатальном периоде коронарных артерий. По всей видимости, повышенная выработка негативно сказывается на морфологических изменениях интимы (возможно, вследствие ее повреждения токсическими компонентами табачного дыма) коронарных артерий при формировании атеросклеротического процесса, чему есть подтверждение в литературе. Известно, что *VEGFA* специфически действует на эндотелиальные клетки, оказывая разнообразные биологические эффекты, включая повышение проницаемости сосудов, индуцирование ангиогенеза, васкулогенеза и митогенез эндотелиальных клеток, стимулирование миграции клеток и ингибирование апоптоза [39]. Примечательно, что митогенный эффект *VEGFA* не ограничивается стимулирующими влияниями на пролиферацию только эндотелиальных клеток и может способствовать усилению роста гладкомышечных клеток сосудов [40], что, несомненно, имеет патогенетическое значение для формирования атеросклероза. Подобно провоспалительным цитокинам *VEGFA* может способствовать развитию и прогрессированию атеросклероза посредством усиления пролиферации интимы сосудов, стенозирования артерий, увеличения размера и дестабилизации атеросклеротической бляшки, как это было ранее продемонстрировано экспериментальными исследованиями [41, 42, 43].

Заключение. Таким образом, в рамках настоящего исследования, с одной стороны, установлены новые генетические маркеры предрасположенности к ишемической болезни сердца (полиморфные варианты rs3025000 и rs833068), с другой стороны, наглядно продемонстрировано,

что патологические эффекты полиморфных вариантов гена *VEGFA* на фенотипическом уровне реализуются при непосредственном участии ведущего средового фактора риска болезни – курения. Несомненно, наши предположения о молекулярных механизмах, посредством которых курение оказывает влияние на развитие атеросклероза коронарных артерий посредством модуляции экспрессии гена *VEGFA*, основанные на результатах *in silico*-анализа требуют проведения дополнительных экспериментальных исследований, направленных на токсикогенетическую оценку компонентов табачного дыма у носителей различных генотипов сосудистого эндотелиального фактора роста. Полученные результаты в очередной раз подчеркивают значимость эколого-генетических механизмов формирования атеросклероза [6] не только на индивидуальном уровне под влиянием вредных привычек или образа жизни, но и на уровне популяций, подвергающихся химическому загрязнению окружающей среды – атрибуту современной техногенной цивилизации.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Бойцов СА, Зайратьянц ОВ, Андреев ЕМ, и др. Сравнение показателей смертности от ишемической болезни сердца среди мужчин и женщин старше 50 лет в России и США. Российский кардиологический журнал. 2017;(6):100-107. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2017-6-100-107>
2. Бокерия ЛА. Сердечно-сосудистая хирургия. Болезни и врожденные аномалии системы кровообращения. Москва: НЦССХ им. А.Н. Бакулева. РАМН; 2012.
3. Матвеева СА. Своевременная оценка факторов риска ишемической болезни сердца – основа профилактики ее осложнений. Клиническая медицина. 2012;90(11):19-23.
4. Poulter N. Coronary heart disease is a multifactorial disease. American Journal of Hypertension. 1999;12(S6):92S-95S. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0895-7061\(99\)00163-6](https://doi.org/10.1016/S0895-7061(99)00163-6)
5. Khera AV, Kathiresan S. Genetics of coronary artery disease: discovery, biology and clinical translation. Nature Reviews Genetics. 2017;18(6):331-344. DOI: <https://doi:10.1038/nrg.2016.160>
6. Полоников АВ, Иванов ВП, Солодилова МА. Эколого-токсикогенетическая концепция мультифакториальных заболеваний: от понимания этиологии до клинического применения. Медицинская генетика. 2008;7(11):3-20.
7. Law MR, Morris JK, Wald NJ. Environmental tobacco smoke exposure and ischemic heart disease: an evaluation of evidence. BMJ. 1997;315(7114):973-980. DOI: <https://doi:10.1136/bmj.315.7114.973>
8. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. Endocrine Reviews. 2004;25(4):581-611. DOI: <https://doi:10.1210/er.2003-0027>
9. Wang Y, Huang Q, Liu J, et al. Vascular endothelial growth factor A polymorphisms are associated with increased risk of coronary heart disease: a meta-analysis. Oncotarget. 2017;8(18):30539-30551. DOI: <https://10.18632/oncotarget.15546>
10. Ma WQ, Wang Y, Han XQ, et al. Association of genetic polymorphisms in vascular endothelial growth factor with susceptibility to coronary artery disease: a meta-analysis. BMC Medical Genetics. 2018;19(1):108. DOI: <https://doi:10.1186/s12881-018-0628-3>
11. Полоников АВ, Ушачев ДВ, Шестаков АМ, и др. Полиморфизм Gly460Trp гена аддуктина и предрасположенность к гипертонической болезни. Значение генно-средовых взаимодействий для возникновения заболевания в русской популяции. Кардиология. 2011;51(10):33.
12. Полоников АВ, Солодилова МА, Иванов ВП, и др. Защитный эффект полиморфизма GLY272SER гена GNB3 в развитии гипертонической болезни и его взаимосвязь со средовыми факторами риска развития заболевания. Терапевтический архив. 2011;83(4):55-60.

13. Polonikov A, Vialykh E, Vasil'eva O, et al. Genetic variation in glutathione S-transferase genes and risk of nonfatal cerebral stroke in patients suffering from essential hypertension. *Journal of Molecular Neuroscience*. 2012;47(3):511-513. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12031-012-9764-y>
14. Полоников АВ, Иванов ВП, Солодилова МА. Промоторный полиморфизм -1293G>С гена CYP2E1 увеличивает риск развития гипертонической болезни у мужчин, злоупотребляющих алкоголем. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2013;155(6):695-698.
15. Бушуева ОЮ, Булгакова ИВ, Иванов ВП, и др. Ассоциация полиморфизма E158K гена флавиновой монооксигеназы 3 с риском развития ишемической болезни сердца. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2015;159(6):754-757. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10517-015-3073-8>
16. Долженкова ЕМ, Барышев АС, Иванова НВ, и др. Исследование взаимосвязи полиморфизмов -1612 5A/6A гена MMP3 и 2003G>А гена MMP9 с риском развития ишемической болезни сердца у русских жителей Центральной России. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2016;3:63-66. DOI: <https://doi.org/10.21626/vestnik/2016-3/10>
17. Sirotnina S, Ponomarenko I, Kharchenko A, et al. A novel polymorphism in the promoter of the CYP4A11 gene is associated with susceptibility to coronary artery disease. *Disease Markers*. 2018;2018:5812802. DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/5812802>
18. Пономаренко ИВ. Отбор полиморфных локусов для анализа ассоциаций при генетико-эпидемиологических исследованиях. *Научный результат. Медицина и фармация*. 2018;4(2):40-54. DOI: [10.18413/2313-8955-2018-4-2-0-5](https://doi.org/10.18413/2313-8955-2018-4-2-0-5)
19. Solé X, Guinó E, Valls J, et al. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics*. 2006;22(15):1928-1929. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btl268>
20. Shin S, Hudson R, Harrison C, et al. atSNP Search: a web resource for statistically evaluating influence of human genetic variation on transcription factor binding. *Bioinformatics*. 2019;35(15):2657-2659. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty1010>
21. Zuo C, Shin S, Keleş S. atSNP: transcription factor binding affinity testing for regulatory SNP detection. *Bioinformatics*. 2015;31(20):3353-3355. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv328>
22. Chen Y, Dawes PT, Packham JC, et al. Interaction between smoking and polymorphism in the promoter region of the VEGFA gene is associated with ischemic heart disease and myocardial infarction in rheumatoid arthritis. *The Journal of Rheumatology*. 2011;38(5):802-809. DOI: <https://doi.org/10.3899/jrheum.101095>
23. Zhai R, Liu G, Asomaning K, et al. Genetic polymorphisms of VEGF, interactions with cigarette smoking exposure and esophageal adenocarcinoma risk. *Carcinogenesis*. 2008;29(12):2330-2334. DOI: <https://doi.org/10.1093/carcin/bgn210>
24. Awata T, Inoue K, Kurihara S, et al. A common polymorphism in the 5'-untranslated region of the VEGF gene is associated with diabetic retinopathy in type 2 diabetes. *Diabetes*. 2002;51(5):1635-1639. DOI: <https://doi.org/10.2337/diabetes.51.5.1635>
25. Wysocka J, Swigut T, Xiao H, et al. A PHD finger of NURF couples histone H3 lysine 4 trimethylation with chromatin remodelling. *Nature*. 2006;442(7098):86-90. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature04815>
26. Suming H, Litt MD, Blakey CA. *Epi-genetic gene expression and regulation*. Oxford (UK): Academic Press; 2015.
27. Morris SA, Rao B, Garcia BA, et al. Identification of histone H3 lysine 36 acetylation as a highly conserved histone modification. *Journal of Biological Chemistry*. 2007;282(10):7632-7640. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M607909200>
28. Rada-Iglesias A. Is H3K4me1 at enhancers correlative or causative? *Nature Genetics*. 2018;50(1):4-5. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41588-017-0018-3>
29. Farid M, Kanaji N, Nakanishi M, et al. Smad3 mediates cigarette smoke extract (CSE) induction of VEGF release by human fetal lung fibroblasts. *Toxicology Letters*. 2013;220(2):126-134. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2013.04.011>
30. Oviedo A, Lebrun S, Kogel U, et al. Evaluation of the Tobacco Heating System 2.2. Part 6: 90-day OECD 413 rat inhalation study with systems toxicology endpoints demonstrates reduced exposure effects of a mentholated version compared with mentholated and non-mentholated cigarette smoke. *Regulatory Toxicology and*

Pharmacology. 2016;81(2):S93-S122. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2016.11.004>

31. Phillips B, Veljkovic E, Boué S, et al. An 8-month systems toxicology inhalation/cessation study in Apoe^{-/-} mice to investigate cardiovascular and respiratory exposure effects of a candidate modified risk tobacco product, THS 2.2, compared with conventional cigarettes. *Toxicological Sciences*. 2016;149(2):411-432. DOI: <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfv243>

32. Iskandar AR, Martin F, Leroy P, et al. Comparative biological impacts of an aerosol from carbon-heated tobacco and smoke from cigarettes on human respiratory epithelial cultures: A systems toxicology assessment. *Food and Chemical Toxicology*. 2018;115:109-126. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.02.063>

33. Iskandar AR, Mathis C, Schlage WK, et al. A systems toxicology approach for comparative assessment: Biological impact of an aerosol from a candidate modified-risk tobacco product and cigarette smoke on human organotypic bronchial epithelial cultures. *Toxicology in Vitro*. 2017;39:29-51. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2016.11.009>

34. Zanetti F, Sewer A, Mathis C, et al. Systems Toxicology Assessment of the Biological Impact of a Candidate Modified Risk Tobacco Product on Human Organotypic Oral Epithelial Cultures. *Chemical Research in Toxicology*. 2016;29(8):1252-1269. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.6b00174>

35. Sundar IK, Nevid MZ, Friedman AE, et al. Cigarette smoke induces distinct histone modifications in lung cells: implications for the pathogenesis of COPD and lung cancer. *Journal of Proteome Research*. 2014;13(2):982-996. DOI: <https://doi.org/10.1021/pr400998n>

36. Di YP, Zhao J, Harper R. Cigarette smoke induces MUC5AC protein expression through the activation of Sp1. *Journal of Biological Chemistry*. 2012;287(33):27948-27958. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.334375>

37. Yordy JS, Moussa O, Pei H, et al. SP100 inhibits ETS1 activity in primary endothelial cells. *Oncogene*. 2005;24(5):916-931. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1208245>

38. ENCODE Project Consortium. The ENCODE (ENCyclopedia Of DNA Elements) Project. *Science*. 2004;306(5696):636-640. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1105136>

39. Ng YS, Krilleke D, Shima DT. VEGF function in vascular pathogenesis. *Experimental*

Cell Research. 2006;312(5):527-537. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2005.11.008>

40. Liao XH, Xiang Y, Li H, et al. VEGF-A stimulates STAT3 activity via nitrosylation of myocardin to regulate the expression of vascular smooth muscle cell differentiation markers. *Scientific Reports*. 2017;7(1):2660. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02907-6>

41. Zhao Q, Egashira K, Hiasa K, et al. Essential role of vascular endothelial growth factor and Flt-1 signals in neointimal formation after periadventitial injury. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2004;24(12):2284-2289. DOI: <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000147161.42956.80>

42. Ohtani K, Egashira K, Hiasa K, et al. Blockade of vascular endothelial growth factor suppresses experimental restenosis after intraluminal injury by inhibiting recruitment of monocyte lineage cells. *Circulation*. 2004;110(16):2444-2452. DOI: <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000145123.85083.66>

43. Lucerna M, Zernecke A, de Nooijer R, et al. Vascular endothelial growth factor-A induces plaque expansion in ApoE knock-out mice by promoting de novo leukocyte recruitment. *Blood*. 2007;109(1):122-129. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2006-07-031773>

References

1. Boytsov SA, Zayratiants OV, Andreev EM, et al. Comparison of coronary heart disease mortality in men and women age 50 years and older in Russia and USA. *Russian cardiological journal*. 2017;6:100-107. Russian. DOI: <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2017-6-100-107>
2. Bokeriya LA. Cardiovascular surgery. Diseases and congenital malformations of the circulatory system. Moscow: NTSSSKH im. A.N. Bakuleva. RAMN; 2012. Russian.
3. Matveeva SA. Timely estimation of risk factors of coronary heart disease as a basis of prevention of its complications. *Klinicheskaya Meditsina*. 2012;90(11):19-23. Russian.
4. Poulter N. Coronary heart disease is a multifactorial disease. *American Journal of Hypertension*. 1999;12(S6):92S-95S. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0895-7061\(99\)00163-6](https://doi.org/10.1016/S0895-7061(99)00163-6)
5. Khera AV, Kathiresan S. Genetics of coronary artery disease: discovery, biology and clinical translation. *Nature Reviews Genetics*. 2017;18(6):331-344. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.160>

6. Polonikov AV, Ivanov VP, Solodilova MA. The ecological toxicogenetic concept of multifactorial diseases: from understanding the etiology to clinical application. *Medical Genetics*. 2008;7(11):3-20. Russian.
7. Law MR, Morris JK, Wald NJ. Environmental tobacco smoke exposure and ischemic heart disease: an evaluation of evidence. *BMJ*. 1997;315(7114):973-980. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmj.315.7114.973>
8. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocrine Reviews*. 2004;25(4):581-611. DOI: <https://doi.org/10.1210/er.2003-0027>
9. Wang Y, Huang Q, Liu J, et al. Vascular endothelial growth factor A polymorphisms are associated with increased risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *Oncotarget*. 2017;8(18):30539-30551. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.15546>
10. Ma WQ, Wang Y, Han XQ, et al. Association of genetic polymorphisms in vascular endothelial growth factor with susceptibility to coronary artery disease: a meta-analysis. *BMC Medical Genetics*. 2018;19(1):108. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12881-018-0628-3>
11. Polonikov AV, Ushachev DV, Shestakov AM, et al. Polymorphism Gly460Trp of alpha-adducin gene and predisposition to essential hypertension. The role of gene-environment interactions in the development of the disease in Russian population. *Kardiologiya*. 2011;51(10):33-39. Russian.
12. Polonikov AV, Solodilova MA, Ivanov VP, et al. A protective effect of GLY272SER polymorphism of GNB3 gene in development of essential hypertension and its relations with environmental hypertension risk factors. *Therapeutic Archive*. 2011;83(4):55-60. Russian.
13. Polonikov A, Vialykh E, Vasil'eva O, et al. Genetic variation in glutathione S-transferase genes and risk of nonfatal cerebral stroke in patients suffering from essential hypertension. *Journal of Molecular Neuroscience*. 2012;47(3):511-513. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12031-012-9764-y>
14. Polonikov AV, Ivanov VP, Solodilova MA. CYP2E1 gene promoter polymorphism -1293G>C increases the risk of essential hypertension in men with alcohol abuse. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2013;155(6):695-698. Russian.
15. Bushueva OY, Bulgakova IV, Ivanov VP, et al. Association of flavin monooxygenase gene E158K polymorphism with chronic heart disease risk. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2015;159(6):776-778. Russian. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10517-015-3073-8>
16. Dolzhenkova EM, Baryshev AS, Ivanova NV, et al. The relationship between polymorphism -1612 5A/6A of the MMP3 gene and 2003G>A of the MMP9 gene and ischemic heart disease risk in the population of Central Russia. *Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health"*. 2016;3:63-66. Russian. DOI: <https://doi.org/10.21626/vestnik/2016-3/10>
17. Sirotina S, Ponomarenko I, Kharchenko A, et al. A novel polymorphism in the promoter of the CYP4A11 gene is associated with susceptibility to coronary artery disease. *Disease Markers*. 2018;2018:5812802. DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/5812802>
18. Ponomarenko IV. Selection of polymorphic loci for association analysis in genetic-epidemiological studies. *Research Result. Medicine and Pharmacy*. 2018;4(2):40-54. Russian. DOI: [DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-2-0-5](https://doi.org/10.18413/2313-8955-2018-4-2-0-5)
19. Solé X, Guinó E, Valls J, et al. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics*. 2006;22(15):1928-1929. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btl268>
20. Shin S, Hudson R, Harrison C, et al. atSNP Search: a web resource for statistically evaluating influence of human genetic variation on transcription factor binding. *Bioinformatics*. 2019;35(15):2657-2659. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty1010>
21. Zuo C, Shin S, Keleş S. atSNP: transcription factor binding affinity testing for regulatory SNP detection. *Bioinformatics*. 2015;31(20):3353-3355. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv328>
22. Chen Y, Dawes PT, Packham JC, et al. Interaction between smoking and polymorphism in the promoter region of the VEGFA gene is associated with ischemic heart disease and myocardial infarction in rheumatoid arthritis. *The Journal of Rheumatology*. 2011;38(5):802-809. DOI: <https://doi.org/10.3899/jrheum.101095>
23. Zhai R, Liu G, Asomaning K, et al. Genetic polymorphisms of VEGF, interactions with cigarette smoking exposure and esophageal adenocarcinoma risk. *Carcinogenesis*. 2008;29(12):2330-2334. DOI: <https://doi.org/10.1093/carcin/bgn210>
24. Awata T, Inoue K, Kurihara S, et al. A common polymorphism in the 5'-untranslated re-

gion of the VEGF gene is associated with diabetic retinopathy in type 2 diabetes. *Diabetes*. 2002;51(5):1635-1639. DOI: [https://doi: 10.2337/diabetes.51.5.1635](https://doi.org/10.2337/diabetes.51.5.1635)

25. Wysocka J, Swigut T, Xiao H, et al. A PHD finger of NURF couples histone H3 lysine 4 trimethylation with chromatin remodelling. *Nature*. 2006;442(7098):86-90. DOI: [https://doi:10.1038/nature04815](https://doi.org/10.1038/nature04815)

26. Suming H, Litt MD, Blakey CA. Epigenetic gene expression and regulation. Oxford (UK): Academic Press; 2015.

27. Morris SA, Rao B, Garcia BA, et al. Identification of histone H3 lysine 36 acetylation as a highly conserved histone modification. *Journal of Biological Chemistry*. 2007;282(10):7632-7640. DOI: [https://doi:10.1074/jbc.M607909200](https://doi.org/10.1074/jbc.M607909200)

28. Rada-Iglesias A. Is H3K4me1 at enhancers correlative or causative? *Nature Genetics*. 2018;50(1):4-5. DOI: [https://doi: 10.1038/s41588-017-0018-3](https://doi.org/10.1038/s41588-017-0018-3)

29. Farid M, Kanaji N, Nakanishi M, et al. Smad3 mediates cigarette smoke extract (CSE) induction of VEGF release by human fetal lung fibroblasts. *Toxicology Letters*. 2013;220(2):126-134. DOI: [https://doi: 10.1016/j.toxlet.2013.04.011](https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2013.04.011)

30. Oviedo A, Lebrun S, Kogel U, et al. Evaluation of the Tobacco Heating System 2.2. Part 6: 90-day OECD 413 rat inhalation study with systems toxicology endpoints demonstrates reduced exposure effects of a mentholated version compared with mentholated and non-mentholated cigarette smoke. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2016;81(2):S93-S122. DOI: [https://doi: 10.1016/j.yrtph.2016.11.004](https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2016.11.004)

31. Phillips B, Veljkovic E, Boué S, et al. An 8-month systems toxicology inhalation/cessation study in Apoe^{-/-} mice to investigate cardiovascular and respiratory exposure effects of a candidate modified risk tobacco product, THS 2.2, compared with conventional cigarettes. *Toxicological Sciences*. 2016;149(2):411-432. DOI: [https://doi: 10.1093/toxsci/kfv243](https://doi.org/10.1093/toxsci/kfv243)

32. Iskandar AR, Martin F, Leroy P, et al. Comparative biological impacts of an aerosol from carbon-heated tobacco and smoke from cigarettes on human respiratory epithelial cultures: A systems toxicology assessment. *Food and Chemical Toxicology*. 2018;115:109-126. DOI: [https://doi: 10.1016/j.fct.2018.02.063](https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.02.063)

33. Iskandar AR, Mathis C, Schlage WK, et al. A systems toxicology approach for comparative assessment: Biological impact of an aerosol

from a candidate modified-risk tobacco product and cigarette smoke on human organotypic bronchial epithelial cultures. *Toxicology in Vitro*. 2017;39:29-51. DOI: [https://doi: 10.1016/j.tiv.2016.11.009](https://doi.org/10.1016/j.tiv.2016.11.009)

34. Zanetti F, Sewer A, Mathis C, et al. Systems Toxicology Assessment of the Biological Impact of a Candidate Modified Risk Tobacco Product on Human Organotypic Oral Epithelial Cultures. *Chemical Research in Toxicology*. 2016;29(8):1252-1269. DOI: [https://doi: 10.1021/acs.chemrestox.6b00174](https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.6b00174)

35. Sundar IK, Nevid MZ, Friedman AE, et al. Cigarette smoke induces distinct histone modifications in lung cells: implications for the pathogenesis of COPD and lung cancer. *Journal of Proteome Research*. 2014;13(2):982-996. DOI: [https://doi: 10.1021/pr400998n](https://doi.org/10.1021/pr400998n)

36. Di YP, Zhao J, Harper R. Cigarette smoke induces MUC5AC protein expression through the activation of Sp1. *Journal of Biological Chemistry*. 2012;287(33):27948-27958. DOI: [https://doi: 10.1074/jbc.M111.334375](https://doi.org/10.1074/jbc.M111.334375)

37. Yordy JS, Moussa O, Pei H, et al. SP100 inhibits ETS1 activity in primary endothelial cells. *Oncogene*. 2005;24(5):916-931. DOI: [https://doi: 10.1038/sj.onc.1208245](https://doi.org/10.1038/sj.onc.1208245)

38. ENCODE Project Consortium. The ENCODE (ENCyclopedia Of DNA Elements) Project. *Science*. 2004;306(5696):636-640. DOI: [https://doi: 10.1126/science.1105136](https://doi.org/10.1126/science.1105136)

39. Ng YS, Krilleke D, Shima DT. VEGF function in vascular pathogenesis. *Experimental Cell Research*. 2006;312(5):527-537. DOI: [https://doi: 10.1016/j.yexcr.2005.11.008](https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2005.11.008)

40. Liao XH, Xiang Y, Li H, et al. VEGF-A stimulates STAT3 activity via nitrosylation of myocardin to regulate the expression of vascular smooth muscle cell differentiation markers. *Scientific Reports*. 2017;7(1):2660. DOI: [https://doi: 10.1038/s41598-017-02907-6](https://doi.org/10.1038/s41598-017-02907-6)

41. Zhao Q, Egashira K, Hiasa K, et al. Essential role of vascular endothelial growth factor and Flt-1 signals in neointimal formation after periadventitial injury. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2004;24(12):2284-2289. DOI: [https://doi: 10.1161/01.ATV.0000147161.42956.80](https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000147161.42956.80)

42. Ohtani K, Egashira K, Hiasa K, et al. Blockade of vascular endothelial growth factor suppresses experimental restenosis after intraluminal injury by inhibiting recruitment of monocyte lineage cells. *Circulation*.

2004;110(16):2444-2452. DOI:
<https://10.1161/01.CIR.0000145123.85083.66>

43. Lucerna M, Zernecke A, de Nooijer R, et al. Vascular endothelial growth factor-A induces plaque expansion in ApoE knock-out mice by promoting de novo leukocyte recruitment. *Blood*. 2007;109(1):122-129. DOI: <https://10.1182/blood-2006-07-031773>

Статья поступила в редакцию 03.03.2020 г.
Поступила после доработки 05.05.2020 г
Принята к печати 29.05.2020 г.

Received 3 March 2020
Revised 5 May 2020
Accepted 29 May 2020

Информация об авторах

Мария Андреевна Солодилова, доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры биологии, медицинской генетики и экологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», E-mail: solodilovama@gmail.com, ORCID: 0000-0003-4607-4913.

Мария Владиславовна Медведева, аспирант по научной специальности 03.02.07 – Генетика ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», E-mail: medvedevamariakgavm@yandex.ru, ORCID: 0000-0001-7370-0022.

Марина Алексеевна Быканова, кандидат биологических наук, ассистент кафедры биологии, медицинской генетики и экологии, младший научный сотрудник НИИ «Генетической и молекулярной эпидемиологии» ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», E-mail: BikanovaMA@kursksmu.net, ORCID: 0000-0001-5420-3557.

Оксана Владимировна Васильева, кандидат биологических наук, доцент кафедры биологии, медицинской генетики и экологии

ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», E-mail: VasilevaOV2@kursksmu.net, ORCID: 0000-0002-7100-3300.

Владимир Петрович Иванов, доктор медицинских наук, профессор кафедры биологии, медицинской генетики и экологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», E-mail: IvanovVP@kursksmu.net, ORCID: 0000-0002-4268-7264.

Information about the authors

Maria A. Solodilova, Doct. Sci. (Biology), Associate Professor, Professor at the Department of Biology, Medical Genetics and Ecology, Kursk State Medical University, E-mail: solodilovama@gmail.com, ORCID: 0000-0003-4607-4913.

Maria V. Medvedeva, Post-graduate Student in Scientific Specialty 03.02.07 – Genetics, Kursk State Medical University, E-mail: medvedevamariakgavm@yandex.ru, ORCID: 0000-0001-7370-0022.

Marina A. Bykanova, Cand. Sci. (Biology), Assistance Lecturer at the Department of Biology, Medical Genetics and Ecology, Junior Researcher at the Research Institute of Genetic and Molecular Epidemiology, Kursk State Medical University, E-mail: BikanovaMA@kursksmu.net, ORCID: 0000-0001-5420-3557.

Oksana V. Vasilyeva, Cand. Sci. (Biology), Associate Professor at the Department of Biology, Medical Genetics and Ecology, Kursk State Medical University, E-mail: VasilevaOV2@kursksmu.net, ORCID: 0000-0002-7100-3300.

Vladimir P. Ivanov, Doct. Sci. (Medicine), Professor at the Department of Biology, Medical Genetics and Ecology, Kursk State Medical University, E-mail: IvanovVP@kursksmu.net, ORCID: 0000-0002-4268-7264.