

Ассоциация полиморфизма -844G>A гена каталазы с повышенным риском развития артериальной гипертонии у курильщиков

О.Ю. БУШУЕВА¹, В.П. ИВАНОВ¹, В.Н. РЫЖАЕВА¹, И.В. ПОНОМАРЕНКО¹, М.И. ЧУРНОСОВ², А.В. ПОЛОНИКОВ¹

¹ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, Россия; ²ФГАОУ ВО «Белгородский национальный исследовательский университет», Белгород, Россия

Резюме

Цель исследования. Изучение ассоциации функционально значимого промоторного полиморфизма -844G>A гена каталазы (CAT) с развитием артериальной гипертонии (АГ).

Материалы и методы. В исследование включили 2339 неродственных индивидов русской национальности, включая 1269 больных АГ и 770 относительно здоровых индивидуумов. Генотипирование полиморфизма -844G>A (rs769214) гена CAT осуществляли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с использованием зондов TaqMan.

Результаты. Обнаружено, что аллель -844A (отношение шансов — 1,31 при 95% доверительном интервале — ДИ от 1,04 до 1,64; $p=0,02$) и генотип -844AA (ОШ 1,41 при 95% ДИ от 1,02 до 1,94; $p=0,03$) ассоциированы с повышенным риском развития АГ у курильщиков. У некурящих индивидуумов ассоциация данного полиморфизма с риском развития АГ не обнаружена.

Заключение. Курение является провоцирующим фактором риска развития АГ у носителей генотипа -844AA гена каталазы.

Ключевые слова: артериальная гипертония, окислительный стресс, каталаза, генетический полиморфизм, генно-средовые взаимодействия.

Association of the -844G>A polymorphism in the catalase gene with the increased risk of essential hypertension in smokers

O.Yu. BUSHUEVA¹, V.P. IVANOV¹, V.N. RYZHAEVA¹, I.V. PONOMARENKO¹, M.I. CHURNOSOV², A.V. POLONIKOV¹

¹Kursk State Medical University, Ministry of Health of Russia, Kursk, Russia; ²Belgorod National Research University, Belgorod, Russia

Aim. To investigate whether the functionally relevant -844G>A promotor polymorphism in the catalase (CAT) gene is associated with the development of essential hypertension (EH).

Subjects and methods. The investigation enrolled 2,339 unrelated ethnic Russian people, including 1,269 EH patients and 770 apparently healthy individuals. Genotyping of CAT -844G>A (rs769214) polymorphism was performed using a TaqMan real-time polymerase chain reaction assay.

Results. The -844A allele (odds ratio (OR)=1.31; 95% confidence interval (CI), 1.04 to 1.64; $p=0.02$) and the -844AA genotype (OR=1.41; 95% CI, 1.02 to 1.94; $p=0.03$) were found to be related to a higher risk of EH in the smokers. No association was found between this polymorphism and EH risk in the non-smokers.

Conclusion. Smoking is a predisposing factor for development of EH in CAT -844AA genotype carriers.

Keywords: essential hypertension, oxidative stress, catalase, genetic polymorphism, gene-environment interactions.

АГ — артериальная гипертония
АД — артериальное давление
АФК — активные формы кислорода

ДИ 95% — доверительный интервал
ОШ — отношение шансов
CAT — каталаза

Артериальной гипертонией (АГ) страдают около 20% населения. АГ — один из основных факторов риска развития инсульта, инфаркта миокарда и почечной недостаточности [1]. С точки зрения медицинской генетики АГ — мультифакторное заболевание, в развитие которого вовлечены генетические и средовые факторы риска. Известно, что вклад генетических факторов в вариабельность артериального давления (АД) достигает 30%, а индивидуальный генетический риск развития АГ колеблется от 15 до 35% [2]. Несмотря на то что генетику АГ изучали в течение десятилетий, гены предрасположенности до сих пор исследованы не в полной мере. Это связано с рядом сложностей и ограничений: большим числом генов, вовлеченных в регуляцию АД, их аддитивным эффектом, степенью

индивидуального вклада в предрасположенность к заболеванию, потенциалом генетического полиморфизма каждого гена, фенотипической неоднородностью пациентов, а также различными средовыми, в том числе экологическими факторами, влияющими на уровень АД [3, 4].

Известно, что избыток активных форм кислорода (АФК) и создаваемый в результате нарушения их утилизации окислительный стресс приводят к развитию АГ [5–8]. Каталаза (CAT) — важный антиоксидантный фермент, физиологическая роль которого состоит в разложении гидроперекиси (H_2O_2) до кислорода и воды. Таким образом, CAT нивелирует неблагоприятные эффекты АФК [9]. В связи с физиологической ролью CAT ее ген является очень привлекательным для исследования его в аспекте взаи-

мосвязи с развитием АГ. Так как *CAT* экспрессируется в большинстве органов и тканей, а уровень ее экспрессии варьирует в разных тканях [10], исследование полиморфизмов, локализованных в промоторном регионе, особенно актуально. Полиморфизм -844G>A, локализованный в промоторе гена *CAT*, — один из привлекательных в плане генетических исследований, поскольку влияет на функциональную активность фермента [11].

В литературе описаны два исследования по поиску взаимосвязи полиморфизма -844G>A и уровня АД [12, 13]. Однако исследования ассоциации полиморфизма -844G>A с риском развития АГ не проводились.

Целью данной работы служила оценка генетического вклада полиморфизма -844G>A гена *CAT* в предрасположенность к развитию АГ, а также исследованию сочетанного влияния полиморфизма -844G>A гена *CAT* и курения на риск развития АГ.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужила выборка неродственных индивидуумов (2339 человек), проживающих в Курской области. Сбор материала для исследования осуществляли в 2 этапа: в исследование вошли пациенты, которые находились на стационарном лечении в кардиологическом отделении Курской областной клинической больницы и городской больницы скорой медицинской помощи Курска в период с 2007 по 2010 г. [14, 15], а также пациенты, проходившие лечение в Региональном сосудистом центре Курской областной клинической больницы в 2012—2013 гг. [16, 17]. Диагноз АГ устанавливался квалифицированными кардиологами в соответствии с критериями Всемирной организации здравоохранения. Все пациенты с АГ не имели клинических, лабораторных признаков и симптомов, указывающих на наличие у них вторичной АГ. Контрольную группу составили 770 относительно здоровых добровольцев с нормальным АД. Все группы пациентов русской национальности и проживали на территории Курской области. Средний возраст больных АГ (687 мужчин, 582 женщины) составил $56,5 \pm 10,3$ года, контрольной группы (385 мужчин, 385 женщин) — $56,2 \pm 8,9$ года. Обследуемые группы (больных АГ и контроля) сопоставимы по полу и возрасту. Каждый пациент заполнял специально разработанный опросник, который включал подробную информацию о средовых факторах риска, в том числе курении.

У всех обследуемых брали образцы венозной крови. Геномную ДНК выделяли стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование полиморфизма -844G>A (rs769214) гена *CAT* осуществляли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени путем дискриминации аллелей с помощью зондов TaqMan на амплификаторе CFX96 (BioRad) с использованием олигонуклеотидных праймеров и зондов, описанных в литературе [18] и синтезированных компанией «Синтол» (Москва). Результаты генотипирования оценены двумя независимыми исследователями. Повторное генотипирование 5% случайно выбранных образцов показало 100% воспроизводимость изначальных результатов.

Сведения об авторах:

Иванов Владимир Петрович — д.м.н., зав. каф. биологии, медицинской генетики и экологии

Рыжасева Валентина Николаевна — к.б.н., доц. каф. биологии, медицинской генетики и экологии

Пономаренко Ирина Васильевна — к.м.н., н.с. каф. биологии, медицинской генетики и экологии

Чурносков Михаил Иванович — д.м.н., зав. каф. медико-биологических дисциплин

Полоников Алексей Валерьевич — проф. каф. биологии, медицинской генетики и экологии

Для оценки ассоциаций аллелей и генотипов с риском развития АГ использовали критерий χ^2 и отношение шансов (ОШ) с 95% доверительным интервалом (ДИ). Статистическую обработку данных проводили с использованием программных пакетов Statistica for Windows 8.0 («StatSoft», США).

Результаты

В группе больных АГ и контрольной группе отклонения частот аллелей и генотипов полиморфизма -844G>A гена *CAT* от уравнения Харди—Вайнберга не наблюдалось. Сравнительный анализ частот аллелей и генотипов исследуемого полиморфизма гена *CAT* в группах больных АГ и здоровых индивидуумов представлен в **табл. 1**. Видно, что статистически значимые различия по частотам аллелей и генотипов между группами отсутствовали.

Анализ ассоциаций полиморфизма -844G>A с риском развития АГ у курящих и некурящих индивидуумов показал, что у курильщиков аллель -844A ассоциировался с повышенным риском АГ (ОШ 1,31 при 95% ДИ от 1,04 до 1,64; $p=0,02$) (**табл. 2**). Мы также наблюдали увеличение частоты гомозигот -844AA у больных АГ (ОШ 1,41 при 95% ДИ от 1,02 до 1,94; $p=0,03$). У некурящих индивидуумов ассоциация исследуемого полиморфизма с развитием АГ не наблюдалась (**табл. 3**).

Обсуждение

В рамках настоящего исследования впервые обнаружено, что курильщики с генотипом -844AA в гене *CAT* имеют повышенный риск развития АГ, в то время как у некурящих индивидуумов взаимосвязь с риском развития заболевания не выявлена. Эта находка может свидетельствовать, что носительство генотипа -844AA не сопряжено с формированием АГ, однако при влиянии компонентов сигаретного дыма — источника АФК данный генотип может рассматриваться как фактор риска развития заболевания. Имеется большое число публикаций, в которых установлены подобные генно-средовые взаимодействия, ассоциированные с развитием сердечно-сосудистой и другой патологии. Проведенные нами ранее исследования показали, что курение является провоцирующим фактором развития диабетической ангиопатии у носителей генотипа 677TT гена *MTHFR* [19]; ген флавиновой монооксигеназы-3 ассоциирован с развитием АГ также только у курящих индивидуумов [16]. При анализе ассоциации полиморфизма E298D гена *NOS3* с развитием мозгового инсульта мы также обнаружили, что данный полиморфизм ассоциирован с заболеванием только у курильщиков [20]. Установлено влияние курения на риск развития бронхиальной астмы у носителей генотипа -21AA гена *CAT* [21].

Доказано, что сигаретный дым содержит огромное количество оксидантов (примерно $1 \cdot 10^{14}$ свободных радикалов) [22]. Известно, что повреждение клеток, вызванное избытком АФК, участвует в патогенезе многих заболеваний, в том числе АГ. Избыток АФК приводит к дис-

Контактная информация:

Бушуева Ольга Юрьевна — к.м.н., доц. каф. биологии, медицинской генетики и экологии; 305041 Курск, ул. К. Маркса, 3; тел.: +7(471)258-8147; e-mail: olga.bushueva@inbox.ru

Таблица 1. Распределение аллелей и генотипов полиморфизма -844 G>A гена CAT у пациентов с АГ и здоровых лиц

Аллели, генотипы	Больные АГ (n=1269)	Контрольная группа (n=770)	$\chi^2 (p) (df=1)$	ОШ (95% ДИ)
Аллели:				
-844A	64,4%	62,3%	1,91 (0,17)	0,91 (от 0,80 до 1,04)
-844G	35,6%	37,7%		
Генотипы:				
-844AA	523 (41,2%)	295 (38,3%)	1,68 (0,19)	0,89 (от 0,74 до 1,06)
-844AG	589 (46,4%)	369 (47,9%)	0,44 (0,51)	0,94 (от 0,79 до 1,13)
-844GG	157 (12,4%)	106 (13,8%)	0,83 (0,36)	0,88 (0,68—1,15)

Таблица 2. Распределение аллелей и генотипов полиморфизма -844 G>A гена CAT у пациентов с АГ и здоровых лиц (курильщики)

Аллели, генотипы	Больные АГ (n=388)	Контрольная группа (n=275)	$\chi^2 (p) (df=1)$	ОШ (95% ДИ)
Аллели:				
-844A	65,9%	59,6%	5,35 (0,02)*	1,31 (от 1,04 до 1,64)
-844G	35,6%	40,4%		
Генотипы:				
-844AA	167 (43%)	96 (34,9%)	4,45 (0,03)*	1,41 (от 1,02 до 1,94)
-844AG	177 (45,6%)	136 (49,5%)	0,95 (0,33)	0,86 (от 0,63 до 1,17)
-844GG	44 (11,3%)	43 (15,6%)	2,61 (0,11)	0,69 (0,44—1,08)

Примечание. * — статистически значимые различия между группами.

Таблица 3. Распределение аллелей и генотипов полиморфизма -844 G>A гена CAT у пациентов с АГ и здоровых лиц (некурящие)

Аллели, генотипы	Больные АГ (n=774)	Контрольная группа (n=439)	$\chi^2 (p) (df=1)$	ОШ (95% ДИ)
Аллели:				
-844A	64,2	63,3	0,19 (0,66)	0,96 (от 0,81 до 1,14)
-844G	35,8	36,7		
Генотипы:				
-844AA	318 (41,1%)	176 (40,1%)	0,11 (0,73)	0,96 (от 0,76 до 1,22)
-844AG	358 (46,3%)	204 (46,5%)	0,01 (0,94)	0,99 (от 0,78 до 1,25)
-844GG	98 (12,7)	59 (13,4)	0,15 (0,7)	0,93 (0,66-1,32)

функции эндотелия, повышению сократительной способности гладких мышечных клеток, их гипертрофии, инвазии моноцитов, перекисному окислению липидов, воспалению и избыточному накоплению белков внеклеточного матрикса — основным механизмам повреждения сосудистой стенки при АГ [23]. В проведенном нами ранее исследовании также обнаружено, что гены ферментов антиоксидантной системы связаны с показателями жесткости стенки артериол [24]. Многочисленные исследования доказали, что окислительный стресс связан с предрасположенностью к АГ [5—8].

Защиту от свободных радикалов осуществляют главным образом антиоксидантные ферменты [25]. Каталаза является ключевым ферментом, осуществляющим разложение гидроперекиси до кислорода и воды [9]. Примечательно, что исследования доказали возможную роль CAT в развитии АГ. Больные АГ по сравнению со здоровыми людьми имеют повышенный уровень перекиси водорода в

плазме крови [5], а это может быть объяснено недостатком активности или уровня CAT. Данное предположение подтверждается тем, что у пациентов с АГ обнаружен низкий уровень активности антиоксидантных ферментов, в том числе CAT [26].

Ген CAT курирован на хромосоме 11p13 и состоит из 13 экзонов [27]. В соответствии с базой данных NCBI в различных регионах гена обнаружены и описаны 245 однонуклеотидных полиморфизмов [28]. Полиморфизм -844G>A локализован в промоторной области гена, включает многочисленные транскрипционные факторы и существенно влияет на транскрипционную активность гена CAT [11, 29]. В частности, аллель -844G связан с эффектами транскрипционных факторов MZF1 и AP2, в то время как -844A-аллель сопряжен с влиянием факторов транскрипции Ikaros-2 и LYK-1. Кроме того, показано, что ген CAT связан с фактором транскрипции PAX6 [29], в присутствии которого аллель -844A подавляет транскрипци-

онную активность гена *CAT* [11]. R. Nadif и соавт. [30] при исследовании ассоциации этого полиморфизма с активностью фермента *CAT* обнаружили, что у носителей генотипа AA отмечалась более низкая активность фермента по сравнению с таковой у генотипа CC. Мы полагаем, что у носителей генотипа AA курение является провоцирующим фактором риска развития АГ вследствие снижения экспрессии гена *CAT* и нарушения его активности — это может приводить к избыточному накоплению гидроперекисей и связанному с ним окислительному повреждению сосудов, дисфункции эндотелия и нарушению регуляции сосудистого тонуса.

Есть два исследования, в которых оценивали взаимосвязь полиморфизма -844G>A и уровня АД. В исследовании, проведенном в Китае, обнаружено, что у гомозигот -844AA наблюдается высокий уровень систолического АД [12]. В работе японских исследователей также

обнаружена ассоциация исследуемого полиморфизма с уровнем АД [13].

Заключение

Проведенное нами исследование показало, что ген *CAT*, а именно полиморфизм -844G>A, по всей видимости, играет значительную роль в формировании предрасположенности к развитию АГ. Однако для проявления данного эффекта необходимо провоцирующее влияние средового фактора риска АГ — табачного дыма.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №15-15-10010).

Конфликт интересов отсутствует.

ЛИТЕРАТУРА

- DeStefano A, Gavras H, Heard-Costa N, Bursztyn M, Manolis A, Farrer L, Baldwin C, Gavras I, Schwartz F. Maternal component in the familial aggregation of hypertension. *Clin Genet*. 2001;60(1):13-21.
- Binder A. A review of the genetics of essential hypertension. *Cur Opin Cardiol*. 2007;22(3):176-184.
- Rafiq S, Anand S, Roberts R. Genome-wide association studies of hypertension: have they been fruitful? *J Cardiovasc Translational Res*. 2010;3(3):189-196.
doi:10.1007/s12265-010-9183-9
- Harrap SB. Hypertension: genes versus environment. *Lancet*. 1994;344(8916):169-171.
- Lacy F, O'Connor DT, Schmid-Schönbein GW. Plasma hydrogen peroxide production in hypertensives and normotensive subjects at genetic risk of hypertension. *J Hypertens*. 1998;16(3):291-303.
- Schulz E, Jansen T, Wenzel P, Daiber A, Münzel T. Nitric oxide, tetrahydrobiopterin, oxidative stress, and endothelial dysfunction in hypertension. *Antioxidants Redox Signaling*. 2008;10(6):1115-1126.
doi:10.1089/ars.2007.1989
- Baradaran A, Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Oxidative stress and hypertension: Possibility of hypertension therapy with antioxidants. *J Res Med Sci*. 2014;19(4).
- Dikalov S, Nazarewicz R, Bikineyeva A, Hilenski L, Lassègue B, Griendling K, Harrison D, Dikalova A. Nox2-induced production of mitochondrial superoxide in angiotensin II-mediated endothelial oxidative stress and hypertension. *Antioxidants Redox Signaling*. 2014;20(2):281-294.
doi:10.1089/ars.2012.4918
- Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 4th ed. New York: Oxford University Press Inc.; 2007.
- van Remmen H, Williams M, Yang H, Walter C, Richardson A. Analysis of the transcriptional activity of the 5'flanking region of the rat catalase gene in transiently transfected cells and in transgenic mice. *J Cell Physiol*. 1998;174(1):18-26.
- Hebert-Schuster M, Fabre EE, Nivet-Antoine V. Catalase polymorphisms and metabolic diseases. *Cur Opin Clin Nutrition Metab Care*. 2012;15(4):397-402.
doi:10.1097/MCO.0b013e328354a326
- Jiang Z, Akey J, Shi J, Xiong M, Wang Y, Shen Y, Xu X, Chen H, Wu H, Xiao J, Lu D, Huang W, Jin L. A polymorphism in the promoter region of catalase is associated with blood pressure levels. *Human Genet*. 2001;109(1):95-98.
- Watanabe Y, Metoki, H Ohkubo T, Katsuya T, Tabara Y, Kikuya M, Hirose T, Sugimoto K, Asayama K, Inoue R, Hara A, Obara T, Nakura J, Kohara K, Totsumi K, Ogihara T, Rakugi H, Miki T, Imai Y. Accumulation of common polymorphisms is associated with development of hypertension: a 12-year follow-up from the Ohasama study. *Hypertens Res*. 2010;33(2):129-134.
doi:10.1038/hr.2009.193
- Polonikov A, Ivanov V, Solodilova M, Khoroshaya I, Kozhuhov M, Ivakin V, Katargina L, Kolesnikova O. A common polymorphism G-50T in cytochrome P450 2J2 gene is associated with increased risk of essential hypertension in a Russian population. *Disease Markers*. 2008;24(2):119-126.
- Polonikov A, Ushachev D, Ivanov V, Churnosov M, Freidin M, Ataman A, Harbuzova V, Bykanova M, Bushueva O, Solodilova M. Altered erythrocyte membrane protein composition mirrors pleiotropic effects of hypertension susceptibility genes and disease pathogenesis. *J Hypertens*. 2015;33(11):2265-2277.
doi:10.1097/HJH.0000000000000699
- Bushueva O, Solodilova M, Churnosov M, Ivanov V, Polonikov A. The Flavin-Containing Monooxygenase 3 Gene and Essential Hypertension: The Joint Effect of Polymorphism E158K and Cigarette Smoking on Disease Susceptibility. *Int J Hypertens*. 2014.
doi:10.1155/2014/712169
- Bushueva O, Solodilova M, Ivanov V, Polonikov A. Gender-specific protective effect of the -463G>A polymorphism of myeloperoxidase gene against the risk of essential hypertension in Russians. *J Am Soc Hypertens*. 2015;9(11):902-906.
doi:10.1016/j.jash.2015.08.006
- Packer BR, Yeager M, Burdett L et al. SNP500Cancer: a public resource for sequence validation, assay development, and frequency analysis for genetic variation in candidate genes. *Nucleic Acids Res*. 2006;34(suppl 1):D617-D621.
- Васильева Ю.И., Бушуева О.Ю., Жабин С.Н., Иванов С.В., Полоников А.В. Курение как провоцирующий фактор развития диабетической ангиопатии нижних конечностей у мужчин с генотипом 677ТТ гена метилентетрагидрофолатредуктазы. *Клиническая медицина*. 2015;93(7):45-49.
- Бушуева О.Ю., Стецкая Т.А., Корогодина Т.В., Иванов В.П., Полоников А.В. Влияние полиморфизма E298D гена эндо-

- телиальной синтазы оксида азота на риск развития мозгового инсульта в зависимости от статуса курения. *Генетика*. 2015;51(2):256-262.
21. Polonikov AV, Ivanov VP, Solodilova MA, Kozhuhov MA, Panfilov VI. Tobacco smoking, fruit and vegetable intake modify association between -21A>T polymorphism of catalase gene and risk of bronchial asthma. *J Asthma*. 2009;46(3):217-224. doi:10.1080/02770900802492103
22. Pryor WA, Stone K, Zang LY, Bermúdez E. Fractionation of aqueous cigarette tar extracts: fractions that contain the tar radical cause DNA damage. *Chem Res Toxicol*. 1998;11(5):441-448.
23. Taniyama Y, Griendling KK. Reactive oxygen species in the vasculature molecular and cellular mechanisms. *Hypertension*. 2003;42(6):1075-1081.
24. Sorokin AV, Kotani K, Bushueva OY, Polonikov AV. Antioxidant-related gene polymorphisms associated with the cardio-ankle vascular index in young Russian. *Cardiol Young*. 2015:1-6.
25. Reiter RJ. Oxidative processes and antioxidative defense mechanisms in the aging brain. *FASEB J*. 1995;9(7):526-533.
26. Redón J, Oliva MR, Tormos C, Giner V, Chaves J, Iradi A, Sáez GT. Antioxidant activities and oxidative stress byproducts in human hypertension. *Hypertension*. 2003;41(5):1096-1101.
27. Quan F, Korneluk RG, Tropak MB, Gravel RA. Isolation and characterization of the human catalase gene. *Nucleic Acids Res*. 1986;14(13):5321-5335.
28. Crawford A, Fassett RG, Geraghty DP, Kunde DA, Ball MJ, Robertson IK, Coombes JS. Relationships between single nucleotide polymorphisms of antioxidant enzymes and disease. *Gene*. 2012;501(2):89-103. doi:10.1016/j.gene.2012.04.011
29. Hebert-Schuster M, Cottart CH, Laguillier-Morizot C, Raynaud-Simon A, Golmard JL, Cynober L, Beaudeau JL, Fabre EE, Nivet-Antoine V. Catalase rs769214 SNP in elderly malnutrition and during renutrition: is glucagon to blame? *Free Radical Biol Med*. 2011;51(8):1583-1588. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2011.07.016
30. Nadif R, Mintz M, Jedlicka A, Bertrand JP, Kleeberger SR, Kauffmann F. Association of CAT polymorphisms with catalase activity and exposure to environmental oxidative stimuli. *Free Radical Res*. 2005;39(12):1345-1350.

Поступила 12.02.2016