



УДК 575.17

**ВКЛАД ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ -1612 5A/6A MMP-3 И +250A/G LTA  
В ФОРМИРОВАНИЕ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У НАСЕЛЕНИЯ  
ЦЕНТРАЛЬНОГО ЧЕРНОЗЕМЬЯ РОССИИ**

**THE CONTRIBUTION OF GENETIC POLYMORPHISMS -1612 5A/6A MMP-3 AND + 250A/G LTA  
THE FORMATION OF ARTERIAL HYPERTENSION IN THE POPULATION OF THE  
CENTRAL CHERNOZEM REGION OF RUSSIA**

**М.И. Москаленко, С.Н. Миланова, М.И. Чурносков  
M.I. Moskalenko, S.N. Milanova, M.I. Churnosov**

Белгородский государственный национальный исследовательский университет  
308015, г. Белгород, ул. Победы, 85  
Belgorod National Research University  
308015, Belgorod, st. Pobedy, 85

e-mail: mariam31011989@yandex.ru

Резюме. Эссенциальная артериальная гипертензия (АГ) – мультифакториальное полигенное заболевание, встречающееся у 42% населения старше 35 лет. Осложнения АГ занимают ведущее место среди причин высокой заболеваемости и смертности во всех индустриально развитых странах. Статья посвящена новым данным, касающимся ассоциаций генов факторов некроза опухолей (ФНО) и матриксных металлопротеиназ (ММП) с развитием АГ. В результате проведенного исследования установлено, что аллель -1612 6A MMP-3 (OR=1.43) и генотип -1612 6A/6A MMP-3 (OR=1.49) являются факторами риска развития артериальной гипертензии. Выявлен более высокий уровень максимального диастолического артериального давления у больных АГ с генотипом +250 GG Lta.

Summary. Essential arterial hypertension (HE) – multifactorial polygenic disease, which is 42% of the population older than 35 years. Complications of hypertension occupy a leading place among the causes of high morbidity and mortality in all industrialized countries. The article is devoted to new data concerning the association of genes tumor necrosis factor (TNF) and matrix metalloproteinases (MMPs) with the development of hypertension. The study found that the allele -1612 6A MMP-3 (OR = 1,43) and genotype -1612 6A / 6A MMP-3 (OR = 1,49) are risk factors for hypertension. Revealed a higher level of maximum diastolic blood pressure in hypertensive patients with genotype +250 GG Lta.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, SNP-полиморфизм, матриксные металлопротеиназы, факторы некроза опухолей, мультифакториальные заболевания.

Key words: hypertension, SNP-polymorphism, matrix metalloproteinases, tumor necrosis factors, multifactorial disease.

#### Введение

Артериальная гипертензия (АГ) – одна из самых актуальных медико-социальных проблем большинства развитых стран мира. Высокая смертность, широкая распространенность заболевания, а также значительный риск развития таких грозных осложнений, как инфаркт миокарда и острое нарушение мозгового кровообращения [Гогин, 2010, Чазова и др., 2013], обуславливают активное исследование патогенеза АГ как в России, так и за рубежом [Mehra et al., 2005; Кривошей, 2013; Krivoshei et al., 2014]. Общепризнанными факторами риска развития эссенциальной артериальной гипертензии являются генетические факторы, причем их вклад по разным данным достигает от 30 до 80% [Гогин, 2010; Загидулин и др., 2010]. На сегодняшний день известно более 150 генов-кандидатов, вовлеченных в формирование АГ, в их числе – матриксные металлопротеиназы [Berk et al., 2007; Zhang, 2008; Candelario-Jalil et al., 2009] и факторы некроза опухолей [Кривошей и др., 2013]. В работах J. Veilby показано, что матриксная металлопротеиназа-3 (ММП-3) является важным фактором артериального ремоделирования, нарушение которого ведет к развитию гипертензии [Veilby et al., 2005]. Исследовательской группой F. Asselbergs установлено, что активация гена лимфотоксинальфа (Lta), который является посредником воспалительного ответа и активатором молекул адгезии и цитокинов, приводит к ригидности сосудов и повышению уровня АД [Knight et al., 2004]. Вместе с тем, исследования вовлеченности генетических полиморфизмов матриксных металлопротеиназ и факторов некроза опухолей в формирование АГ немногочисленны, а их результаты противоречивы в разных популяциях.



Целью настоящего исследования является изучение связи полиморфизма локусов -1612 5A/6A MMP-3 (rs3025058) и +250A/G Lta (rs909253) с развитием артериальной гипертензии.

#### Материалы и методы

Объем выборки больных АГ составил 534 человека, в контрольную группу были включены индивидуумы с нормотонией (531 человек). В выборку включались лица русской национальности, являющиеся уроженцами Центрального Черноземья России и не имеющие родства между собой. Клиническое и клинико-лабораторное обследование больных проводилось на базе Неврологического отделения Белгородской областной клинической больницы Святителя Иоасафа.

Материалом для исследования послужили образцы ДНК, выделенной методом фенол-хлороформной экстракции из цельной венозной крови, взятой из локтевой вены пробанда. Выделенную ДНК использовали для проведения полимеразной цепной реакции синтеза ДНК с использованием стандартных олигонуклеотидных праймеров. Последующий анализ полиморфизмов проводился методом детекции Taq-Map зондов с помощью real-time ПЦР. Расчет фенотипических и генных частот проводили стандартными методами. Для сравнения частот аллелей и генотипов между различными группами использовали критерий  $\chi^2$  с поправкой Йетса на непрерывность. Вычисления производили в таблицах сопряженности 2x2, статистические расчеты осуществлялись с использованием программы «STATISTICA 6.0». Сравнение исследуемых групп по показателям артериального давления проводили с помощью непараметрического метода – критерия Манна-Уитни, для их описания применяли медиану (Me) и интерквартильный размах (Q25-Q75).

#### Результаты и их обсуждение

Исследуемый SNP-полиморфизм локуса -1612 5A/6A MMP-3 находится в промоторной части длинного плеча 11 хромосомы, и представляет собой изменение количества аденозина (5A или 6A), расположенного в положении -1612 по отношению к сайту инициации транскрипции [Beilby et al., 2005]. SNP-полиморфизм локуса +250A/G Lta локализован на коротком плече 6 хромосомы (бр21.3), замена аллеля A на G в положении +250 ведет к повышению экспрессии гена [Knight et al., 2004]. Анализ полученных данных показывает, что для изученных локусов у больных с артериальной гипертензией и у лиц с нормотонией эмпирическое распределение генотипов соответствует теоретически ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга ( $p > 0,05$ ).

В результате изучения вовлеченности генетических полиморфизмов исследуемых генов-кандидатов в формирование подверженности к развитию АГ выявлены различия между больными АГ и контролем по локусу -1612 5A/6A MMP-3 (табл. 1).

Установлено, что частота аллеля -1612 6A MMP-3 в группе больных АГ имеет более высокое значение (54,96%) по сравнению с аналогичным показателем контрольной группы (46,05%,  $\chi^2=8,57$ ,  $p=0,004$ , OR=1,43, 95%CI 1,12-1,82). Выявлено также, что концентрация генотипа -1612 5A/5A среди больных АГ равна 22,28% и является минимальной в сравнении с контрольной группой (32,11%,  $\chi^2=6,72$ ,  $p=0,01$ , OR=0,61, 95%CI 0,41-0,89).

При изучении вовлеченности в формирование АГ генетического полиморфизма по локусу +250A/G Lta достоверных различий выявлено не было.

Таблица 1

Распределение генотипов, наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности, индекса фиксации генов-кандидатов среди больных с АГ и у индивидуумов с нормотонией  
The distribution of genotypes, observed and expected heterozygosity index fixation of candidate genes in patients with hypertension and in individuals with normotony

Локусы	Генетические варианты	Больные с АГ (N=534)		Контрольная группа (N=531)		$\chi^2$ (p)	OR (95% CI)
		n	%	n	%		
1	2	3	4	5	6	7	8
+250A/G Lta	+250 A	624	73,76	777	73,16	0,06 (0,81)	1,03 (0,84-1,27)
	+250 G	222	26,24	285	26,84		0,97 (0,79-1,20)
	+250 AA	226	53,43	277	52,17	0,11 (0,75)	1,05 (0,81-1,37)
	+250 AG	172	40,66	223	41,99	1,12 (0,73)	0,95 (0,72-1,24)
	+250 GG	25	5,91	31	5,84	0,01 (1,01)	1,01 (0,57-1,80)
	$\chi^2$ (HWE) (p)	1,075 (>0,05)		2,56 (>0,05)			
	$H_e$ ( $H_e$ )	0,41 (0,39)		0,42 (0,39)			
	D	+0,05		+0,07			
$t_d$	0,70		1,09				
5A/6A MMP	-1612 5A	481	45,04	205	53,95	8,57 (0,004)	0,70 (0,55-0,89)
	-1612 6A	587	54,96	175	46,05		1,43 (1,12-1,82)



Окончание табл. 1

1	2	3	4	5	6	7	8
	-1612 5A/5A	119	22.28	61	32.11	6.72 (0.01)	0.61 (0.41-0.89)
	-1612 5A/6A	243	45.51	83	43.68	0.12 (0.73)	1.08 (0.76-1.52)
	-1612 6A/6A	172	32.21	46	24.21	3.89 (0.04)	1.49 (1.01-2.21)
	$\chi^2_{(HWE)}$ (p)	3.49 (>0.05)		2.77 (>0.05)			
	$H_o$ ( $H_e$ )	0.45 (0.49)		0.44 (0.49)			
	D	-0.08		-0.12			
	$t_d$	1.84		1.66			

Примечание: N – объем выборки;  $\chi^2_{(HWE)}$  – показатель соответствия наблюдаемого распределения ожидаемому, исходя из равновесия Харди-Вайнберга; p – достигнутый уровень значимости для  $\chi^2_{(HWE)}$ ;  $H_o$  – наблюдаемая гетерозиготность;  $H_e$  – ожидаемая гетерозиготность; D – индекс фиксации Райта;  $t_d$  – критерий Стьюдента, характеризующий индекс фиксации, OR – отношение шансов.

Note: N – sample size;  $\chi^2$  (HWE) – index matching the observed distribution expected from the Hardy-Weinberg equilibrium; p – the achieved level of significance for  $\chi^2$  (HWE);  $H_o$  – observed heterozygosity;  $H_e$  – expected heterozygosity; D – Wright's fixation index;  $t_d$  – Student criterion characterizing the fixation index, OR – odds ratio.

Анализ связи полиморфизма Lta (+250A/G) с показателями артериального давления у больных АГ выявил, что у индивидуумов с генотипом +250 GG уровень максимального диастолического АД (Me=145 мм.рт.ст.) достоверно превышает аналогичные показатели пациентов с генотипами +250 AA (Me=110 мм.рт.ст.) и +250 AG (Me=110 мм.рт.ст., p<0.05). Анализ связи полиморфизма MMP-3 (-1612 5A/6A) с показателями АД не выявил достоверных различий (табл. 2).

Таблица 2

Ассоциации генетических полиморфизмов +250A/G Lta и -1612 5A/6A MMP-3 с уровнем артериального давления у больных с артериальной гипертензией (Me, Q25-Q75)  
Association of genetic polymorphisms + 250A / G Lta and -1612 5A / 6A MMP-3 with the level of blood pressure in patients with hypertension (Me, Q25-Q75)

Показатели	Генотипы больных с АГ			p		
	Локус +250A/G Lta					
	AA (n=72) 1	AG (n=55) 2	GG (n=4) 3	1-2	1-3	2-3
САД <sub>max</sub> , мм.рт.ст.	200.0 (175.0-220.0)	190.0 (170.0-240.0)	260.0 (195.0-290.0)	0.63	0.13	0.14
ДАД <sub>max</sub> , мм.рт.ст.	110.0 (100.0-120.0)	110.0 (100.0-120.0)	145.0 (120.0-160.0)	0.56	0.04	0.05
САД <sub>min</sub> , мм.рт.ст.	130.0 (120.0-140.0)	130.0 (120.0-130.0)	135.0 (115.0-155.0)	0.67	0.53	0.54
ДАД <sub>min</sub> , мм.рт.ст.	80.0 (70.0-80.0)	80.0 (70.0-80.0)	85.0 (65.0-100.0)	0.87	0.68	0.71
Показатели	Генотипы больных с АГ			p		
	Локус - 1612 5A/6A MMP-3					
	5A/5A (n=22) 1	5A/6A (n=51) 2	6A/6A (n=56) 3	1-2	1-3	2-3
САД <sub>max</sub> , мм.рт.ст.	190.0 (170.0-210.0)	200.0 (180.0-220.0)	200.0 (160.0-235.0)	0.27	0.83	0.22
ДАД <sub>max</sub> , мм.рт.ст.	100.0 (100.0-120.0)	110.0 (100.0-120.0)	110.0 (100.0-120.0)	0.24	0.79	0.27
САД <sub>min</sub> , мм.рт.ст.	135.0 (110.0-150.0)	130.0 (120.0-130.0)	130.0 (120.0-135.0)	0.93	0.33	0.36
ДАД <sub>min</sub> , мм.рт.ст.	80.0 (70.0-90.0)	80.0 (70.0-80.0)	80.0 (70.0-80.0)	0.36	0.17	0.38

Заключение

Таким образом, в результате проведенного исследования установлена вовлеченность генетических полиморфизмов матриксной металлопротеиназы-3 и лимфотоксина-альфа в формирование артериальной гипертензии. Факторами риска развития АГ являются аллель – 1612 6A MMP – 3 (OR=1.43) и генотип – 1612 6A/6A MMP-3 (OR=1.49). Молекулярно-генетический маркер +250 GG Lta



ассоциирован с повышенными значениями максимального диастолического АД у индивидуумов с артериальной гипертензией.

#### Благодарности

Работа выполнена при поддержке государственного задания Министерства образования и науки РФ «Изучение генетических факторов риска развития мультифакториальных заболеваний человека» (№ 511/2014).

#### Литература

- Гогин Е. Е. 2010. Артериальная гипертензия и гипертоническая болезнь. *Терапевтический архив*, 82 (4): 5–10.
- Загидулин Н. Ш., Валеева К. Ф., Гасанов Н. О. 2010. Значение дисфункции эндотелия при сердечно-сосудистых заболеваниях и методы её медикаментозной коррекции. *Кардиология*, 50 (5): 54–60.
- Кривошей И. В. 2013. Изучение полиморфизма генов цитокинов у больных гипертонической болезнью. *Медицина и образование в Сибири: сетевое науч. изд. Новосибирск*, 6.
- Кривошей И. В., Алферов П. К., Чурносков М. И. 2013. Полиморфизм генов цитокинов и формирование сахарного диабета у больного гипертонической болезнью. *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия «Медицина. Фармация»*, 4 (147): 165–169.
- Чазова И. Е., Недогода С. В., Жернакова Ю. В. 2013. Рекомендации по ведению больных с метаболическим синдромом: клинич. рекомендации [Текст]: разработаны по поручению Минздрава России, утверждены Рос. мед. о-вом по артериальной гипертонии и профильной комиссией по кардиологии. Москва, 43.
- Beilby J. P., Chapman C. M., Palmer L. J., McQuillan B. M., Thompson P. L., Hung J. 2005. Stromelysin-1 (MMP-3) gene 5A/6A promoter polymorphism is associated with blood pressure in a community population. *J. Hypertens.*, 23(3): 537–542.
- Berk V. C., Fujiwara K., Lehoux S. 2007. ECM remodeling in hypertensive heart disease. *J. Clin. Invest.*, 117 (3): 568–575.
- Candelario-Jalil E., Yang Y., Rosenberg G. A. 2009. Diverse roles of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in neuroinflammation and cerebral ischemia. *Neuroscience*, 158(3): 983–994.
- Knight J. C., Keating B. J., Kwiatkowski D. P. 2004. Allele-specific repression of lymphotoxin-alpha by activated B cell factor-1. *J. C. Knight. Nat. Genet.*, 36 (4): 394–399.
- Krivoshei I. V., Milanova S. N., Alferov P. K., Efremova O. A., Ruzhenkov V. A., Polonikov A. V. 2014. Associations of Cytokines Genetic Polymorphisms with Hypertension Progress. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical*, 5(6): 1348–1351.
- Mehra V. C., Ramgolam S., Bender J. R. 2005. Cytokines and cardiovascular disease. *J. Leukoc. Biol.*, 78: 805–818.
- Zhang C. 2008. The role of inflammatory cytokines in endothelial dysfunction. *Basic Res. Cardiol.*, 103 (5): 398–406.

#### Literature

- Gogin E. E. 2010. Arterial hypertension and hypertension. *Terapevticheskiy arkhiv [Therapeutic Archives]*. 82 (4): 5–10 (in Russian).
- Zagidulin N. Sh., Valeeva K. F., Gasanov N. O. 2010. The value of endothelial dysfunction in cardiovascular disease and methods of its medical correction. *Kardiologiya [Cardiology]*. 50 (5): 54–60 (in Russian).
- Krivoshey I. V. 2013. The study of gene polymorphism of cytokines in patients with hypertension. *Meditina i obrazovanie v Sibiri: setevoe nauch. izd. [Medicine and education in Siberia: network scientific publication, electronic resource]*. 6 (in Russian).
- Krivoshey I. V., Alferov P. K., Churnosov M. I. 2013. Polymorphisms of cytokine genes and the formation of diabetes in hypertensive patients. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya «Meditsina. Farmatsiya» [Belgorod State University Scientific bulletin. Medicine. Pharmacy]*. 4 (147): 165–169 (in Russian).
- Chazova I. E., Nedogoda S. V., Zhernakova Yu. V. 2013. Recommendations for the management of patients with the metabolic syndrome: clinical. Recommendations [Текст]: developed on behalf of the Russian Ministry of Health, approved by the Russian Medical Society of hypertension and cardiology profile Commission [Recommendations developed at the request of the Ministry of Health of Russia, approved by the Russian Medical Society of hypertension and cardiology profile Commission]. Москва, 43 (in Russian).
- Beilby J. P., Chapman C. M., Palmer L. J., McQuillan B. M., Thompson P. L., Hung J. 2005. Stromelysin-1 (MMP-3) gene 5A/6A promoter polymorphism is associated with blood pressure in a community population. *J. Hypertens.*, 23(3): 537–542.



Berk B. S., Fujiwara K., Lehoukh S. 2007. ESM remodeling in hypertensive heart disease. *J. Slin. Invest.*, 117 (3): 568-575.

Candelario-Jalil E., Yang Y., Rosenberg G. A. 2009. Diverse roles of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in neuroinflammation and cerebral ischemia. *Neuroscience*, 158(3): 983-994.

Knight J. S., Keating B. J., Kwiatkowski D. R. 2004. Allele-specific repression of lymphotoxin- $\alpha$  by activated B cell factor-1. *J. S. Knight. Nat. Genet.*, 36 (4): 394-399.

Krivoshei I. V., Milanova S. N., Alpferov P. K., Efremova O. A., Ruzhenkov V. A., Polonikov A. V. 2014. Associations of Cytokines Genetic Polymorphisms with Hypertension Progress. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical*, 5(6): 1348-1351.

Mehra V. C., Ramgolam S., Bender J. R. 2005. Cytokines and cardiovascular disease. *J. Leukoc. Biol.*, 78: 805-818.

Zhang S. 2008. The role of inflammatory cytokines in endothelial dysfunction. *Basis Res. Sardiol.*, 103 (5): 398-406.