



ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ –308A TNF α , АССОЦИИРОВАННЫЙ С РАЗВИТИЕМ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ III СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

И.В. КРИВОШЕЙ¹
С.Н. МИЛАНОВА¹
Н.И. ЖЕРНАКОВА¹
Т.И. ЯКУНЧЕНКО¹
П.К. АЛФЕРОВ^{1,2}

¹ *Белгородский государственный национальный исследовательский университет*

² *Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа*

e-mail: Krivoshei.i.v@yandex.ru

В статье изложены результаты исследования полиморфизмов генов цитокинов у больных гипертонической болезнью. Установлено, что генетический вариант –308A TNF α (OR=1,44) вовлечен в подверженность к формированию гипертонической болезни III степени тяжести.

Ключевые слова: гипертоническая болезнь, степень тяжести заболевания, полиморфизм генов цитокинов.

В настоящее время гипертоническая болезнь (ГБ) занимают лидирующие позиции среди причин ранней инвалидизации и смертности населения в большинстве развитых стран мира [1, 2, 3]. Среди взрослого населения России более 40% имеют повышенные цифры артериального давления [4]. ГБ оказывает выраженное неблагоприятное влияние на риск развития сердечно-сосудистых событий. Это важнейший фактор риска развития ишемической болезни сердца, сердечной недостаточности, а также таких грозных сердечно-сосудистых осложнений как инфаркт миокарда, острые нарушения мозгового кровообращения [5, 6, 7, 8]. Согласно литературным данным, снижение высоких цифр артериального давления (АД) ассоциируется с уменьшением риска возникновения на 50% сердечной недостаточности, на 20-25% инфаркта миокарда и инсульта на 35-40% [9].

ГБ представляет собой мультифакториальное заболевание, характеризующееся стойким и длительным повышением АД, обусловленным первоначальным изменением разных механизмов его регуляции [10].

Генетические факторы оказывают детерминирующее влияние на изменчивость систолического и диастолического АД, при этом они составляют 38% и 42% соответственно, а роль средовых факторов относительно незначима и равна 5,7% и 4% [10].

Важную роль в патогенезе ГБ играют цитокины, в частности факторы некроза опухолей и их рецепторы, которые обладают рядом патогенетически значимыми для ГБ медико-биологическими эффектами (оказывают провоспалительное, иммуномодулирующее, цитотоксическое действие, активируют систему гемостаза, индуцируют апоптоз и др.) [11, 12]. Поскольку активность цитокинов находится под контролем соответствующих генов, представляется целесообразным поиск генетических маркеров, ответственных за предрасположенность к развитию ГБ и особенности ее клинического течения.

Цель работы – анализ ассоциаций генетических вариантов факторов некроза опухолей и их рецепторов со степенью тяжести ГБ.

Материалом для исследования послужили образцы ДНК, выделенные из цельной венозной крови методом фенол-хлороформной экстракции: 452 больных ГБ и 531 человек контрольной группы. Среди 452 больных ГБ 67,04% составили мужчины (303 человека), 32,96% – женщины (149 человек). В контрольной выборке (n=531) процентное соотношение было аналогичным: мужчины – 67,04% (356 человек), женщины – 32,96% (175 человек) (p>0,05). У пациентов с ГБ средний возраст был равен 54,74±13,08 лет (от 32 до 76 лет), а в контрольной группе – 52,20±14,68 лет (от 31 до 79 лет) (p>0,05). В выборки больных и контроля включались индивидуумы русской национальности, являющиеся уроженцами Центрального Черноземья и не имеющие родства между собой. Также, критериями включения послужили: отсутствие тяжелой соматической патологии, согласие на участие в исследовании. Пациенты включались в соответствующую группу больных только после установления диагноза заболевания, подтвержденного с помощью клинических и лабораторно-инструментальных методов обследования. Клинико-лабораторное и инструментальное обследование больных осуществлялось в кардиологическом



отделении областной клинической больницы Святителя Иоасафа города Белгорода. В контрольную группу включались индивидуумы без заболеваний сердечно-сосудистой системы.

Измерение АД осуществлялось по методу Короткова Н.С. ртутным сфигмоманометром с соблюдением следующих правил: больной находился в сидячем положении, в удобной позе с рукой, расположенной на плоскости стола. На плечо накладывали манжету на уровне сердца, нижний край которой располагался выше локтевого сгиба на 2 см. Измерение осуществляли в покое после 5-минутного отдыха. Уровень АД оценивали на двух руках, выполняя не менее 3 измерений с интервалом около 1 мин, при разнице 5 мм рт. ст. проводились еще 2 измерения. За окончательное значение брали среднее из двух последних измерений. В дальнейшем измерение проводили на той руке, где АД выше [13]. Также нами учитывался уровень привычного АД у больных ГБ на фоне лекарственной терапии за время пребывания в стационаре.

Изучались следующие генетические полиморфизмы: фактор некроза опухоли α (-308G/A *TNFA*), лимфотоксин α (+250A/G *Lta*), рецептор фактора некроза опухоли 1-го типа (+36A/G *TNFR1*), рецептор фактора некроза опухоли 2-го типа (+1663A/G *TNFR2*). Анализ изучаемых локусов осуществлялся с использованием стандартных олигонуклеотидных праймеров и зондов методом полимеразной цепной реакции синтеза ДНК на амплификаторе IQ5 (Bio-Rad) с последующим анализом полиморфизма методом дискриминации аллелей. Статистическая обработка данных проводилась с использованием программных пакетов «STATISTICA for Windows 6.0» и «Microsoft Excel 2007». Для сравнения частот аллелей и генотипов между различными группами использовали критерий χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность. Вычисления производили в таблицах сопряженности 2x2 [14].

Результаты. В исследуемой нами группе больных ГБ, I степень тяжести заболевания диагностирована у 78 пациентов (17,26%), II степень выявлена у 175 больных (38,72%) и III степень наблюдалась у 199 пациентов (44,02%). Преимущественно, в 50,22% случаев, среди больных ГБ была установлена I степень ожирения – у 227 человек, 2 степень регистрировалась у 76 пациентов (16,82%) и 3 степень у 19 индивидуумов (4,20%). Высокой оказалась и частота выявления избыточной массы тела – 108 человек (23,89%). Нормальная масса тела отмечалась только у 22 пациентов (4,87%).

Получено, что у больных ГБ при поступлении в кардиологическое отделение медиана систолического АД равнялась 175,00 мм рт.ст., диастолического АД – $M_e=100,00$ мм рт.ст, пульсового – $M_e=70,00$ мм рт.ст и среднего АД – $M_e=125,00$ мм рт. ст., а медиана привычного систолического АД была равна 140,00 мм рт.ст., диастолического АД – $M_e=90,00$ мм рт.ст, пульсового АД – $M_e=50,0$ мм рт.ст., среднего АД – $M_e=106,60$ мм рт.ст.

Среди 452 больных ГБ 205 человек (45,35%) имели наследственную отягощенность по ГБ среди родственников I степени родства. Больные ГБ, имеющие отягощенный семейный анамнез, характеризуются высоким удельным весом индивидуумов с III степенью тяжести заболевания ($p=0,03$) и наибольшими показателями диастолического АД и среднего АД при поступлении и привычного диастолического АД и среднего АД ($p=0,02-0,05$) по сравнению с больными, не имеющими наследственную отягощенность по ГБ.

Установлено, что до развития заболевания, 188 больных (41,59%) имели длительный стаж курения, 72 пациента (15,93%) отмечают пассивное курение (наличие курящих в семье и/или на работе), 16 больных (3,54%) регулярно употребляли алкоголь.

Проведён анализ структуры сопутствующей патологии в исследуемой группе больных ГБ. Наиболее часто в анамнезе имела место патология сердечно-сосудистой системы: 305 (67,48%) пациентов страдали ишемической болезнью сердца, нарушения ритма наблюдались у 99 индивидуумов (21,90%). Вторыми по частоте встречаемости были заболевания эндокринной системы – сахарный диабет II типа диагностирован у 246 больных (54,42%). Заболевания желудочно-кишечного тракта, такие как гастрит (22,57%), язвенная болезнь желудка (12,61%), желчнокаменная болезнь (8,63%) и гепатит (4,42%) занимали третье место по частоте встречаемости.

При изучении распределения полиморфных генетических маркеров цитокинов среди больных ГБ с различной степенью тяжести заболевания, а также в контрольной группе установлены статистически достоверные различия в частотах генотипов и аллелей по локусу -308G/A *TNFA* (таблица). Выявлено, что у пациентов с III степенью ГБ концентрация молекулярно-генетического маркера -308A фактора некроза опухоли α составляет 15,58% и является наибольшей по сравнению как с контрольной группой (11,39%, $\chi^2=4,25$, $p=0,04$, OR=1,44, 95% CI 1,02-2,02), так и с больными, имеющими другие степени ГБ (8,97% при I степени и 12,29% при II степени). Закономерностей в ассоциациях генетических полиморфизмов +250A/G *Lta*, +36A/G *TNFR1*, +1663A/G *TNFR2* со степенью тяжести ГБ не установлено.

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено важное патогенетическое значение для ГБ фактора некроза опухоли α (-308G/A *TNFA*). Фактором риска развития III степени тяжести ГБ следует считать аллель -308A *TNFA* (OR=1,44), а протективную направленность имеет молекулярно-генетический маркер -308G *TNFA* (OR=0,70).

Работа выполнена в рамках гос. задания № 2014/511 «Изучение генетических факторов риска развития мультифакториальных заболеваний человека».

**Частоты генетических вариантов изучаемых локусов цитокинов у больных ГБ
в зависимости от степени тяжести заболевания**

Поли-мор-физм	Аллели, геноти-пы	Контроль-ная группа (n=531)		Больные ГБ (n=452)											
				с I степенью ГБ (n=78)				со II степенью ГБ (n=175)				с III степенью ГБ (n=199)			
				п	%	п	%	χ^2 (p)	OR (95% CI)	п	%	χ^2 (p)	OR (95% CI)	п	%
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
-308 G/A TNF α	-308G	941	88,61	142	91,03	0,58 (0,45)	1,30 (0,71-2,44)	307	87,71	0,13 (0,72)	0,92 (0,62-1,35)	336	84,42	4,25 (0,04)	0,70 (0,49-0,98)
	-308A	121	11,39	14	8,97		0,77 (0,41-1,41)	43	12,29		1,09 (0,74-1,60)	62	15,58		1,44 (1,02-2,02)
	-308GG	417	78,53	65	83,33	0,68 (0,41)	1,37 (0,70-2,70)	135	77,14	0,08 (0,78)	0,92 (0,60-1,42)	144	72,36	2,76 (0,10)	0,72 (0,49-1,06)
	-308GA	107	20,15	12	15,38	0,70 (0,40)	0,72 (0,36-1,43)	37	21,14	0,03 (0,86)	1,06 (0,68-1,65)	48	24,12	1,14 (0,29)	1,26 (0,84-1,89)
	-308AA	7	1,32	1	1,28	0,00 (1,00)	0,97 (0,04-8,00)	3	1,72	0,00 (0,99)	1,31 (0,27-5,66)	7	3,52	2,65 (0,10)	2,73 (0,85-8,77)
+250 A/G IL1 α	+250G	286	26,93	37	23,72	0,57 (0,45)	0,84 (0,56-1,27)	89	25,43	0,23 (0,63)	0,93 (0,70-1,23)	120	30,15	1,34 (0,25)	1,17 (0,90-1,52)
	+250A	776	73,07	119	76,28		1,19 (0,79-1,79)	261	74,57		1,08 (0,81-1,44)	278	69,85		0,85 (0,66-1,11)
	+250 GG	33	6,22	4	5,13	0,02 (0,90)	0,82 (0,24-2,51)	13	7,43	0,15 (0,70)	1,21 (0,59-2,46)	18	9,05	1,38 (0,24)	1,50 (0,79-2,83)
	+250AG	220	41,43	29	37,18	0,35 (0,56)	0,84 (0,50-1,40)	63	36,00	1,40 (0,24)	0,80 (0,55-1,15)	84	42,21	0,01 (0,92)	1,03 (0,73-1,46)
	+250 AA	278	52,35	45	57,69	0,58 (0,45)	1,24 (0,75-2,06)	99	56,57	0,78 (0,38)	1,19 (0,83-1,70)	97	48,74	0,62 (0,43)	0,87 (0,62-1,22)





Окончание табл.

Частоты генетических вариантов изучаемых локусов цитокинов у больных ГБ в зависимости от степени тяжести заболевания

Поли-мор-физм	Аллели, геноти-пы	Контроль-ная группа (n=531)		Больные ГБ (n=452)											
				с I степенью ГБ (n=78)				со II степенью ГБ (n=175)				с III степенью ГБ (n=199)			
				n	%	n	%	χ^2 (p)	OR (95% CI)	n	%	χ^2 (p)	OR (95% CI)	n	%
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
+36A/G TNFR1	+36 G	534	50,28	90	57,69	2,70 (0,10)	1,35 (0,95-1,92)	187	53,43	0,92 (0,34)	1,13 (0,88-1,46)	211	53,02	0,76 (0,38)	1,12 (0,88-1,42)
	+36 A	528	49,72	66	42,31		0,74 (0,52-1,06)	163	46,57		0,88 (0,69-1,13)	187	46,98		0,90 (0,71-1,14)
	+36 GG	128	24,11	26	33,33	2,60 (0,11)	1,57 (0,91-2,70)	53	30,29	2,32 (0,13)	1,37 (0,92-2,03)	48	24,12	0,00 (1,00)	1,00 (0,67-1,49)
	+36 AG	278	52,35	38	48,72	0,23 (0,63)	0,87 (0,52-1,43)	81	46,29	1,70 (0,19)	0,78 (0,55-1,12)	115	57,79	1,51 (0,22)	1,25 (0,89-1,76)
	+36 AA	125	23,54	14	17,95	0,91 (0,34)	0,71 (0,37-1,36)	41	23,42	0,00 (1,00)	0,99 (0,65-1,52)	36	18,09	2,19 (0,14)	0,72 (0,47-1,10)
+1663A/G TNFR2	+1663 G	457	54,80	97	62,18	2,62 (0,11)	1,36 (0,94-1,96)	205	58,57	1,28 (0,26)	1,17 (0,90-1,51)	226	56,78	0,35 (0,55)	1,08 (0,85-1,39)
	+1663 A	377	45,20	59	37,82		0,74 (0,51-1,06)	145	41,43		0,86 (0,66-1,11)	172	43,22		0,92 (0,72-1,18)
	+1663 GG	122	29,26	31	39,74	2,91 (0,09)	1,60 (0,94-2,71)	60	34,29	1,24 (0,27)	1,26 (0,85-1,87)	61	30,65	0,07 (0,80)	1,07 (0,73-1,57)
	+1663 AG	213	51,08	35	44,87	0,78 (0,38)	0,78 (0,47-1,30)	85	48,57	0,22 (0,64)	0,91 (0,63-1,31)	104	52,26	0,04 (0,85)	1,05 (0,74-1,49)
	+1663 AA	82	19,66	12	15,38	0,53 (0,47)	0,74 (0,36-1,50)	30	17,14	0,36 (0,55)	0,85 (0,52-1,37)	34	17,09	0,43 (0,51)	0,84 (0,53-1,34)



Литература

1. Al-Ansary, L. A. A Systematic Review of Recent Clinical Practice Guidelines on the Diagnosis, Assessment and Management of Hypertension / L. A. Al – Ansary, A. C. Tricco, S. E. Straus // PLoS One – 2013. – Vol. 8 (1). – P. 537-44.
2. Efficacy and safety of dual blockade of the renin-angiotensin system: meta-analysis of randomised trials / H. Makani [et al.] // BMJ: British Medical Journal. – 2013. – Т. 346.
3. Associations of Cytokines Genetic Polymorphisms with Hypertension Progress / I. V. Krivoshei [et al.] // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical, Nov. – Dec. – 2014. – № 5 (6). – P. 1348-1351.
4. Костюкевич, О.И. Артериальная гипертензия и болезни печени: в поисках компромисса / О.И. Костюкевич // Русский медицинский журнал. – 2011. – № 5. – С. 338-342.
5. Stroke risk factors and subtypes in different age groups: A hospital-based study / C. Y. Wu [et al.] // Neurol India – 2010. – Vol. 58. – № 6. – P. 863-868.
6. Кривошей, И. В. Полиморфизм генов цитокинов и формирование сахарного диабета у больных гипертонической болезнью / И. В. Кривошей, П. К. Алферов, М. И. Чурносков // Научные ведомости БелГУ. Сер. Медицина. Фармация. – 2013. – № 4 (147). – Вып. 21. – С. 165-169.
7. Кривошей, И. В. Изучение ассоциаций полиморфизма генов цитокинов со стадией гипертонической болезни / И. В. Кривошей // Научные ведомости БелГУ. Сер. Медицина. Фармация. – 2013. – № 25 (168). – Вып. 24. – С. 165-169.
8. The C718T polymorphism in the 3'-untranslated region of glutathione peroxidase-4 gene is a predictor of cerebral stroke in patients with essential hypertension / A. V. Polonikov [et al.] // Hypertens Res. – 2012 May. – 35 (5). – P. 507-512. doi: 10.1038/hr.2011.213. Published: 2012 Dec 8.
9. Reappraisal of European guidelines on hypertension management: a European Society of Hypertension Task Force document / G. Mancia [et al.] // Hypertension. – 2009. – Vol. 27. – P. 2121-2158.
10. Martinez-Aguayo, C. Genetics of hypertensive syndrome / C. Martinez-Aguayo, A. Fardella // Horm Res. – 2009. – Vol. 71. – № 5. – P. 253-259.
11. Yan-Yan Li Tumor Necrosis Factor-Alpha G308A Gene Polymorphism and Essential Hypertension: A Meta-Analysis Involving 2244 Participants / Li Yan-Yan // PLoS One. – 2012. – ol. 7 (4). – P. 792-805.
12. Karunakaran, I. High Sensitivity C-Reactive Protein, Tumor Necrosis Factor- α , Interleukin-6, and Vascular Cell Adhesion Molecule-1 Levels in Asian Indians with Metabolic Syndrome and Insulin Resistance (CURES-105) / I. Karunakaran, S. Jayagopi, M. Viswanathan // Diabetes Science and Technology. 2011. – Vol. 5 (4). – P. 982-88.
13. ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension / G. Mancia [et al.] // Eur Heart J 2013; DOI: 10.1093/eurheartj/ehs.151.
14. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA // О. Ю. Реброва. – М.: МедиаСфера, 2006. – 305 с.

GENETIC POLYMORPHISM -308A TNF α ASSOCIATED WITH THE DEVELOPMENT HYPERTENSION III DEGREE

I.V. KRIVOSHEI¹
S.N. MILANOVA¹
N.I. ZHERNAKOVA¹
T.I. YAKUNCHENKO¹
P.K. ALFEROV^{1,2}

The article presents the results of a study of polymorphisms of cytokine genes in patients with hypertension. It was found that the genetic variant -308A TNF α (OR=1.44) is involved in the susceptibility to the formation of hypertension III degree.

¹⁾ *Belgorod National Research University*

²⁾ *Belgorod Regional Clinical Hospital of Prelate Ioasaf*

e-mail: Krivoshei.i.v@yandex.ru

Key words: hypertension, severity of disease, polymorphisms of cytokine genes.