

ГЕНОМИКА И ПРОТЕОМИКА

УДК 575.174.015.3

О.А. Ершова, Т.А. Баирова

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ПОЛИМОРФИЗМА –262С/Т ГЕНА КАТАЛАЗЫ (RS1001179) У РУССКИХ И БУРЯТ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ С ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», Иркутск, Россия

В работе показано распространение аллелей и генотипов полиморфизма –262С/Т гена каталазы (rs1001179) у подростков русской и бурятской национальности с артериальной гипертензией и в контрольной группе. В группе русских с артериальной гипертензией частоты генотипов составили: СС – 58,82 %, СТ – 32,35 %, ТТ – 8,83 %. В выборке бурят с артериальной гипертензией генотипы СС, СТ и ТТ встречались с частотой 90 %, 7,5 % и 2,5 %. Статистически значимые различия частот встречаемости обнаружены только в группе бурят между пациентами с артериальной гипертензией и контрольной группой ($\chi^2 = 14,250$; $p = 0,000$).

Ключевые слова: окислительный стресс, артериальная гипертензия, полиморфизм, каталаза, этнос

POLYMORPHISM –262C/T OF CATALASE GENE (RS1001179) IN RUSSIAN AND BURYAT POPULATIONS WITH ESSENTIAL HYPERTENSION LIVING IN THE EASTERN SIBERIA

О.А. Ershova, Т.А. Bairova

Scientific Center for family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russia

Genetic variations that predispose individuals to complex disorders, such as essential hypertension, may be found in gene coding regions, intronic regions or in gene promoter region. Catalase is an endogenous antioxidant enzyme that neutralizes hydrogen peroxide and is induced by oxidative challenge. In this report we assessed the association between polymorphism –262C/T in the promoter region of the CAT genes (rs1001179) and essential hypertension in Russian and Buryat populations of Eastern Siberia. In Russian population the frequencies of genotypes were: CC – 58,82 %; CT – 32,35 %; TT – 8,83 %, alleles C – 75 % and T – 25 %. In Buryat population the frequencies of genotypes were: CC – 90 %; CT – 7,5 %; TT – 2,5 %, alleles C – 93,75 % and T – 6,25 %. Statistically significant differences between the frequencies in control and examined groups ($\chi^2 = 14,250$; $p = 0,000$) were found in the group of Buryat population.

Key words: oxidative stress, arterial hypertension, polymorphism, catalase, ethnos

ВВЕДЕНИЕ

Окислительный стресс играет важную роль в патогенезе значительного числа таких мультифакториальных заболеваний, как артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца, сахарный диабет, онкологические заболевания, атеросклероз и других. Формирование окислительного стресса происходит при нарушении в организме баланса между перекисным окислением липидов и компонентами системы антиоксидантной защиты [1, 4, 9, 15]. Перекисное окисление липидов носит общебиологический характер и является причиной повреждения мембранного бислоя, что грозит нарушению клеточной мембраны. Этот процесс не только вызывает вышеуказанные патологические состояния, но и сопровождается возрастными изменениями в тканях, приводящие к гибели клеток [1]. Активация процессов перекисного окисления липидов возможна и в более ранних этапах онтогенеза, в том числе в детско-подростковом возрасте при формировании патологических состояний, включая эссенциальную артериальную гипертензию (ЭАГ) [4, 6, 7].

Контроль над активностью перекисного окисления липидов осуществляет антиоксидантная система орга-

низма. В систему антиокислительной защиты организма включены антиоксиданты природного (токоферол, фосфолипиды, витамин А, аскорбиновая кислота) и синтетического (ферменты супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза) происхождения [4, 9, 15]. На структуру и функцию ферментов (белков), задействованных в регуляции окислительного стресса, значимое влияние может оказывать генетический полиморфизм [3, 5, 11].

Одним из ферментов антиоксидантной защиты является каталаза. Каталаза (от греч. «разрушаю») – фермент, который разлагает образующуюся в процессе биологического окисления перекись водорода на воду и молекулярный кислород ($2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$), а также окисляет в присутствии перекиси водорода низкомолекулярные спирты и нитриты. Активность фермента генетически детерминирована. Ген каталазы расположен на 11-й хромосоме и состоит из 13 экзонов (11p13). Описано 755 полиморфизмов гена каталазы. Наибольший интерес вызывает полиморфизм –262С/Т (rs1001179) в промоторной области гена, детерминирующий вариативность экспрессии гена каталазы с последующим изменением активности фермента [10, 12].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сравнить частоту встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма -262С/Т гена каталазы (rs1001179) у подростков с ЭАГ и без ЭАГ – представителей разных этнических групп (русской и бурятской), проживающих на территории Иркутской области.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено клинико-лабораторное обследование 262 подростков из неродственных семей в возрасте 14–17 лет (средний возраст – 15,4 ± 1,15 лет). При формировании выборки учитывалась этничность не менее трех поколений. В работе с группами подростков соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki (1964, 2000 ред.)).

Для проведения исследования сформированы 2 группы подростков с верифицированным диагнозом эссенциальной артериальной гипертензии: 102 подростка русской национальности и 40 подростков бурятской национальности, – а также сопоставимые по полу и возрасту группы контроля, включающие 65 подростков русской национальности и 55 подростков бурятской национальности.

Критерием включения в основную группу служило наличие первичного генеза артериальной гипертензии. Эссенциальная артериальная гипертензия диагностировалась в соответствии с современной классификацией, разработанной экспертной группой Всероссийского научного общества кардиологов (ВНОК) и Ассоциацией детских кардиологов России, утвержденной ВНОК. В качестве нормальных принимались показатели САД и ДАД 10–90-й перцентилей, уровень САД и ДАД в пределах 90–94-й перцентили оценивался как высокое нормальное АД. Высокими считались значения выше 95-й перцентили.

Образцы крови забирали из локтевой вены в пробирки с антикоагулянтом (6%-й раствор этилендиаминтетрауксусная кислота, ГОСТ 10652-73). Препараты ДНК получали с использованием наборов «ДНК-сорб-В» (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия). Полимеразная цепная реакция проводилась в автоматическом термоциклере «Терцик». Для амплификаций использовали наборы реагентов для идентификации полиморфных маркеров SNP-экспресс-кардиогенетика (НПФ «Литех», Россия). Детекцию продуктов амплификации осуществляли в 3%-м агарозном геле, результаты электрофореза в геле визуализировались на фильтрате трансиллюминатора и документировались фотографированием.

Для обработки полученных результатов применялись методы математической статистики, реализованные в лицензионном интегрированном статистическом пакете комплексной обработки данных Statistica 6.1 (StatSoft Inc., США; правообладатель лицензии – ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»). Для оценки соответствия распределений генотипов ожидаемым значениям равновесие Харди – Вайнберга использовали критерий χ^2 Пирсона. Для сравнения частот аллелей и генотипов между анализируемыми группами исполь-

зовали критерий χ^2 Пирсона с поправкой Йейтса. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Во всех исследуемых группах частоты генотипов находятся в равновесном распределении закона Харди – Вайнберга. Генотип ТТ в контрольной группе русских подростков встречается чаще, чем в группе бурят (13,85 % и 3,64 % соответственно). Гетерозиготный генотип СТ встречается с одинаковой частотой: в группе русских – в 41,54 % случаев, в группе бурят – в 41,82 %. Генотип СС встречается чаще в группе бурят, чем в выборке русских (54,54 % и 44,61 % соответственно). Статистически значимых отличий частот встречаемости генотипов между исследуемыми группами не обнаружено ($\chi^2 = 3,986$; $p = 0,136$).

Частота встречаемости аллелей полиморфизма -262С/Т гена каталазы (rs1001179) в контрольных группах русских, бурят и популяций мира представлена в таблице 1. В группе контроля изучаемых этнических выборок выше встречаемость аллеля С: в группе русских подростков – 65,38 %, в группе бурят – 75,45 %. Статистически значимых отличий частот встречаемости аллелей между исследуемыми контрольными группами не обнаружено ($\chi^2 = 2,418$; $p = 0,120$).

Таблица 1
Распределение генотипов и аллелей полиморфизма -262С/Т гена каталазы (rs1001179) в популяциях мира и контрольных выборках русских и бурят

Популяция	n	Частота встречаемости аллелей		Источник
		С (%)	Т (%)	
Корейцы	400	96,6	3,4*:#	[11]
Китайцы	308	95,1	4,9*:#	[13]
Афроамериканцы	109	95,0	5,0*:#	[10]
Немцы	117	76,9	23,1*	[17]
Поляки	199	76,1	23,9*	[16]
Русские	65	65,38	34,62	Собственные данные
Буряты	55	75,45	24,55	

Примечание. Статистически значимые различия при $p < 0,05$: * – с русскими, # – с бурятами; n – количество человек.

Частотное распределение аллельных вариантов изучаемого полиморфизма гена каталазы изучено в разных расовых и этнических выборках: европеоидная раса (поляки, немцы), монголоидная раса (корейцы, китайцы), негроидная раса (афроамериканцы). Частота встречаемости аллеля Т колеблется от 3,4 % у корейцев до 23,9 % в популяции поляков. В популяциях монголоидной и негроидной расы аллель Т встречается реже.

Результаты собственного исследования показали, что частоты аллелей полиморфизма -262С/Т гена каталазы в выборке русских статистически отличаются от аналогичных показателей у представителями европеоидных рас: немцев ($\chi^2 = 5,052$; $p = 0,025$) и поляков ($\chi^2 = 5,269$; $p = 0,022$). Имеются статистически значимые различия частот встречаемости между представителями монголоидной расы: буряты – корейцы ($p = 0,000$), буряты – китайцы ($p = 0,000$).

Распределение частот встречаемости аллелей и генотипов в группах с артериальной гипертензией и контролем среди русских и бурят

Группы	Частота генотипов, % (n)			Частота аллелей, % (n)	
	СС	СТ	ТТ	С	Т
Русские, контроль	44,61 (29)	41,54 (27)	13,85 (9)	65,38 (85)	34,62 (45)
Русские, пациенты с ЭАГ	58,82 (60)	32,35 (33)	8,83 (9)	75,00 (153)	25,00 (51)
Критерий различий χ^2 (p)	3,365 (0,186)			3,130 (0,077)	
Буряты, контроль	54,54 (30)	41,82 (23)	3,64 (2)	75,45 (83)	24,55 (27)
Буряты, пациенты с ЭАГ	90,00 (36)	7,50 (3)	2,50 (1)	93,75 (75)	6,25 (5)
Критерий различий χ^2 (p)	14,250 (0,000)			9,801 (0,002)	

Примечание. Различия статистически значимы при $p < 0,05$; n – количество человек.

Анализ распределения частот встречаемости аллелей и генотипов между выборками подростков с артериальной гипертензией и контрольными представлен в таблице 2.

Согласно полученным результатам генотипирования полиморфизма -262С/Т гена каталазы (rs1001179), в группе русских с артериальной гипертензией генотипы СС, СТ и ТТ встречаются с частотой 58,82 %, 32,35 % и 8,83 % соответственно. Аллель С в выборке русских с артериальной гипертензией зарегистрирована в 75 % случаев, а аллель Т – в 25 %. Сравнение частот встречаемости аллелей и генотипов в группе русских между подростками с артериальной гипертензией и контролем статистически значимых отличий не выявило ($\chi^2 = 3,365$; $p = 0,186$).

У подростков бурятской национальности с артериальной гипертензией генотипы СС, СТ и ТТ встречаются с частотой 85,0 %, 7,5 % и 7,5 % случаев соответственно; аллели С и Т зарегистрированы в 93,75 % и 6,25 % случаев соответственно. При сравнении частот генотипов и аллелей в группе контроля и у пациентов с ЭАГ обнаружены статистически значимые различия за счет увеличения количества пациентов-носителей СС-генотипа ($\chi^2 = 14,250$; $p = 0,000$).

Известно, что носительство генотипа СС полиморфизма -262С/Т гена каталазы детерминирует повышение активности каталазы – одного из основных компонентов антиоксидантной системы [10, 12]. Данные литературы о взаимосвязи изучаемого полиморфизма с заболеваниями крайне противоречивы. Так, Е.В. Майкопова (2012) и X. Zhou (2005) указывают на значимый вклад Т-аллеля в формирование сердечно-сосудистой патологии у европеоидов Казани и Греции [8, 18]. Вместе с тем по результатам исследования европеоидов (В.А. Кабаниной – в Курской области (2010), M.L. Mansego – в Италии (2011)) показано, что у пациентов с Т-аллелем низкие показатели уровня артериального давления и низкий риск формирования артериальной гипертензии [2, 14]. В исследовании X. Zhou (2005) не найдена ассоциация полиморфизма с артериальной гипертензией в популяции афроамериканцев.

По результатам собственных исследований, проведенных в популяциях подростков разных рас (европеоидов и монголоидов), существует дифференциация вклада полиморфизма -262С/Т гена каталазы (rs1001179) в формирование артериальной гипертензии. Так, если для подростков бурятской

национальности данный полиморфизм значим, при этом аллель С следует рассматривать как рисковый, что соотносится с данными В.А. Кабаниной и M.L. Mansego, то для подростков русской выборки данный полиморфизм не значим, равно как для афроамериканцев, по данным X. Zhou (2005).

Полагаем, что противоречивость наших данных с данными литературы может указывать на особенности онтогенетической детерминации ЭАГ, т. к. все представленные данные распространенности частот аллелей и генотипов полиморфизма в других популяциях мира основываются на исследованиях взрослых групп. К сожалению, для подростков сопоставимые результаты отсутствуют, что определяет необходимость дальнейшего продолжения исследования патогенетики сердечно-сосудистых заболеваний в разных этнических выборках в разные периоды онтогенеза.

Работа выполнена при поддержке гранта президента РФ «Ведущей научной школы» НШ – 5646. 2014.7.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Болдырев А.А. Окислительный стресс и мозг // Соровский образовательный журнал. – 2001 г. – Вып. 7, № 4. – С. 21–28.
Boldyrev AA (2001). Oxidative stress and brain [Okislitelnyiy stress i mozg]. *Sorovskiy obrazovatelnyiy zhurnal*, 7 (4), 21-28.
2. Кабанина В.А., Кононенко Е.К., Булгакова О.А., Петрова О.А., Тевс Д.С. Промоторный полиморфизм -262С/Т гена каталазы и риск возникновения гипертонической болезни у русских жителей курской области // Вестник РГМУ. – 2010. – Спец. выпуск № 2. – С. 495–496.
Kabanina VA, Kononenko EK, Bulgakova OA, Petrova OA, Tevs DS (2010). Promotor polymorphism -262С/Т of catalase gene and risk of essential hypertension in Russian inhabitants of Kursk region [Promotornyiy polimorfizm -262S/T gena katalazy i risk vozniknoveniya gipertonicheskoy bolezni u russkih zhitel'ey kurskoy oblasti]. *Vestnik RGMU*, 2, 495-496.
3. Колесникова Л.И., Баирова Т.А., Первушина О.А. Полиморфизмы генов ферментов антиоксидантной системы // Вестник РАМН. – 2013. – № 12. – С. 83–89.
Kolesnikova LI, Bairova TA, Pervushina OA (2013). Polymorphism of genes of antioxidant enzymes [Polimorfizmyi genov fermentov antioksidantnoy sistemyi]. *Vestnik RAMN*, 12, 83-89.

4. Колесникова Л.И., Долгих В.В., Прохорова Ж.В., Гребенкина Л.А., Власов Б.Я., Ильин В.П. Особенности состояния системы «перекисного окисления липидов антиоксидантной защиты» и обмена кальция у детей и подросткового возраста при эссенциальной артериальной гипертензии // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2010. – Т. 89, № 3. – С. 10–14.

Kolesnikova LI, Dolgikh VV, Prokhorova ZV, Grebyonkina LA, Vlasov BY, Ijin VP (2010). Features of status of lipid peroxidation – antioxidant protection system and calcium metabolism in children and adolescents with essential hypertension [Osobennosti sostoyaniya sistemyi «perekisnogo okisleniya lipidov antioksidantnoy zaschityi» i obmena kaltsiya u detey i podrostkovogo vozrasta pri essentsialnoy arterialnoy gipertenzii]. *Pediatriya. Zhurnal im. G.N. Speranskogo*, 89 (3), 10-14.

5. Колесникова Л.И., Долгих В.В., Баирова Т.А., Бимбаев А.Б.Ж. Эссенциальная артериальная гипертензия и гены ренин-ангиотензиновой системы. – Новосибирск: Наука, 2008. – 108 с.

Kolesnikova LI, Dolgikh VV, Bairova TA, Bimbaev ABG (2008). Essential hypertension and genes of renin-angiotensin system [Essentsialnaya arterialnaya gipertenziya i genyi reninangiotenzinoy sistemyi], 108.

6. Колесникова Л.И., Семёнова Н.В., Гребенкина Л.А., Даренская М.А., Сутурина Л.В., Гнусина С.В. Интегральный показатель оценки окислительного стресса в крови человека // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2014. – Т. 158, № 11. – С. 680–683.

Kolesnikova LI, Semyonova NV, Grebenkina LA, Darenская MA, Suturina LV, Gnusina SV (2014). Integrated indicator of estimation of oxidative stress in human blood [Integralnyiy pokazatel otsenki okislitel'nogo stressa v krvi cheloveka]. *Vyulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny*, 158 (11), 680-683

7. Колесникова Л.И., Долгих В.В., Рычкова Л.В., Ефимова Н.В., Погодина А.В., Мандзяк Т.В., Поляков В.М. Особенности формирования здоровья детей, проживающих в промышленных центрах // Сибирский научный медицинский журнал. – 2008. – Т. 28, № 4. – С. 72–76.

Kolesnikova LI, Dolgikh VV, Rychkova LV, Efimova NV, Pogodina AV, Mandzyak TV, Polyakov VM (2008). Features of formation of health in children living in industrial centers [Osobennosti formirovaniya zdorovya detey, prozhivayuschih v promyshlennyyh tsentrah]. *Sibirskiy nauchnyiy meditsinskiy zhurnal*, 28 (4), 72-76.

8. Майкопова Е.В., Нгуен Ф.Н., Алимова Ф.К., Подольская А.А., Кравцова О.А. Роль полиморфных вариантов генов антиоксидантной системы в формировании предрасположенности к ишемической

болезни сердца // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 1. – Режим доступа: www.science-education.ru/101-5301.

Maykopova EV, Nguyen FN, Alimova FK, Podolsky AA, Kravtsov OA (2012). Role of polymorphic options of genes of antioxidant system in formation of predisposition to coronary heart disease [Rol polimorfnyih variantov genov antioksidantnoy sistemyi v formirovanii predraspolzhenosti k ishemicheskoy bolezni serdtsa]. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya*, 1, www.science-education.ru/101-5301.

9. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. Окислительный стресс. – М.: Слово, 2006. – 566 с.

Menshchikova EB, Lankin VZ, Zenkov NK (2006). Oxidative stress [Okislitelnyiy stress], 566.

10. Ahn J, Nowell S, McCann SE, Carter L, Lang NP, Kadlubar FF, Ratnasinghe LD, Ambrosone CB (2006). Associations between catalase phenotype and genotype: modification by epidemiologic factors. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 15 (6), 1217-1222.

11. El-Sohemy A, Cornelis MC, Park YW, Bae SC (2005). Catalase and PPARgamma2 genotype and risk of rheumatoid arthritis in Koreans. *Rheumatol. Int.*, 26 (5), 388-392.

12. Nadif R, Mintz M, Jedlicka A, Bertrand JP, Kleiberger SR, Kauffmann F (2005). Association of CAT polymorphisms with catalase activity and exposure to environmental oxidative stimuli. *Free Radic. Res.*, 39, 1345-1350.

13. Mak JC, Leung HC, Ho SP, Ko FW, Cheung AH, Ip MS, Chan-Yeung MM (2006). Polymorphisms in manganese superoxide dismutase and catalase genes: functional study in Hong Kong Chinese asthma patients. *Clin. Exp. Allergy.*, 36 (4), 440-447.

14. Mansego ML, Solar GM, Alonso MP, Martínez F, Sáez GT, Escudero JC, Redón J, Chaves FJ (2011). Polymorphisms of antioxidant enzymes, blood pressure and risk of hypertension. *Hypertens.*, 29 (3), 492-500.

15. Rodrigo R, González J, Paoletto F (2011). The role of oxidative stress in the pathophysiology of hypertension. *Hypertens. Res.*, 10, 264.

16. Warchol T, Lianeri M, Wudarski M, Łacki JK, Jagodziński PP (2008). Catalase -262C>T polymorphism in systemic lupus erythematosus in Poland. *Rheumatol. Int.*, 28 (10), 1035-1039.

17. Zarbock R, Hendig D, Szliska C, Kleesiek K, Götting C (2007). Pseudoxanthoma elasticum: genetic variations in antioxidant genes are risk factors for early disease onset. *Clin. Chem.*, 53 (10), 1734-1740.

18. Zhou X, Cui J, De Stefano AL, Chazaro I, Farrer LA, Manolis AJ, Gavras H, Baldwin CT (2005). Polymorphisms in the promoter region of catalase gene and essential hypertension. *Dis. Markers.*, 21, 3-7.

Сведения об авторах Information about the authors

Ершова Оксана Александровна – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории персонализированной медицины Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел./факс: 8 (3952) 20-76-36, 8 (3952) 20-73-67; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)

Ershova Oksana Alexandrovna – Candidate of Biological Sciences, Junior Research Officer of the Laboratory of Personalized Medicine of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems (664003, Irkutsk, ul. Timiryazeva, 16; tel./fax: +7 (3952) 20-76-36, +7 (3952) 20-73-67; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)

Баирова Татьяна Ананьевна – доктор медицинских наук, руководитель лаборатории персонализированной медицины, заместитель директора по науке Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Bairova Tatyana Ananjevna – Doctor of Medical Sciences, Head of the Laboratory of of the Laboratory of Personalized Medicine of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems