

РОЛЬ ОЖИРЕНИЯ В РЕАЛИЗАЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К РАЗВИТИЮ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ У МУЖЧИН



© М.И. Москаленко^{1*}, И.В. Пономаренко¹, А.В. Полоников², И.Н. Сорокина¹, И.В. Батлущкая¹, М.И. Чурносос¹

¹Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия;

²Курский государственный медицинский университет, Курск, Россия

Обоснование. Ожирение считается неинфекционной пандемией, а рост его распространения представляет собой серьезную медико-социальную проблему. Высокие значения индекса массы тела тесно коррелируют с артериальной гипертензией и ее осложнениями, однако влияние ожирения на реализацию наследственной предрасположенности к гипертонической болезни (ГБ) остается слабо изученным.

Цель. Изучить ассоциации полиморфных локусов *MMP* с развитием ГБ у мужчин в зависимости от наличия ожирения.

Методы. Исследование проведено в дизайне «случай-контроль». В зависимости от наличия ожирения было сформировано две группы мужчин для исследования: с ожирением (больные ГБ – 323, контроль – 46) и без ожирения (больные ГБ – 241, контроль – 211). Всем мужчинам, включенным в исследование, проводилось генотипирование восьми полиморфных локусов *MMP*. Несинонимичные SNP выявляли при помощи онлайн-программы SIFT (<https://sift.bii.a-star.edu.sg/>). Функциональное значение полиморфных маркеров оценивали при помощи сервиса HaploReg (<https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>), влияние локусов на уровень экспрессии – с использованием GTEx-portal (<http://www.gtexportal.org>).

Результаты. Установлено, что у мужчин с ожирением в формировании ГБ вовлечены аллель А (OR=2,01; p=0,01) и генотип GG (OR=0,42; p=0,01) полиморфного локуса rs11568818 гена *MMP7*. У мужчин без ожирения с развитием заболевания ассоциированы аллель 6А (OR=1,32, p=0,04) rs3025058 гена *MMP3* и генотипы GG (OR=1,52; p=0,04) и GA (OR=0,63; p=0,03) rs17577 гена *MMP9*. Показано, что полиморфные локусы, ассоциированные с развитием ГБ, характеризуются значимым регуляторным потенциалом – они располагаются в регионе гистонов, маркирующих промоторы и энхансеры, в области гиперчувствительности к DNКазе-1, в сайтах связывания регуляторных белков и транскрипционных факторов, а также влияют на уровень экспрессии генов.

Заключение. Таким образом, в настоящем исследовании установлены ассоциации с развитием ГБ полиморфного локуса rs11568818 гена *MMP7* у мужчин с ожирением и локусов rs3025058 *MMP3* и rs17577 *MMP9* у мужчин без ожирения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гипертоническая болезнь; ожирение; матриксные металлопротеиназы, однонуклеотидный полиморфизм.

THE ROLE OF OBESITY IN THE IMPLEMENTATION OF GENETIC PREDISPOSITION TO THE DEVELOPMENT OF ESSENTIAL HYPERTENSION IN MEN

© Maria I. Moskalenko^{1*}, Irina V. Ponomarenko¹, Alexey V. Polonikov², Inna N. Sorokina¹, Irina V. Batlutskaya¹, Mikhail I. Churnosov¹

¹Belgorod National Research University, Belgorod, Russia;

²Kursk State Medical University, Kursk, Russia

BACKGROUND: Obesity is considered a non-infectious pandemic, and the increase in its spread is a serious medical and social problem. High values of body mass index closely correlate with arterial hypertension and its complications, but the effect of obesity on the realization of hereditary susceptibility to essential hypertension (EH) remains poorly understood.

AIMS: To study the associations of polymorphic loci of *MMPs* with the development of EH in men depending on the presence of obesity.

MATERIALS AND METHODS: The study was conducted in a case-control design. Surveyed 821 men – 564 patients with hypertension and 257 patients of the control group. Groups of patients and controls were divided into subgroups depending on the presence of obesity. All men were genotyped for eight polymorphic loci of *MMPs*. Nonsynonymous SNPs were detected using the software SIFT (<https://sift.bii.a-star.edu.sg/>). The regulatory potential was studied using the HaploReg service (<https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>). The association of SNPs with the expression level was detected using GTEx-portal (<http://www.gtexportal.org>).

RESULTS: It was found that in obese men allele A (OR=2.01; p=0.01) and genotype GG (OR=0.42, p=0.01) of rs11568818 *MMP7* are associated with the essential hypertension. In men without obesity allele 6A (OR=1.32; p=0.04) of rs3025058 *MMP3* and genotypes GG (OR=1.52; p=0.04) and GA (OR=0.63; p=0.03) of rs17577 *MMP9* are associated with the development of the disease. These SNPs located in region of promoter and enhancer histone marks, in the region of hypersensitivity to DNase-1, in binding sites of regulatory proteins and transcription factors. These SNPs associated with the level of gene expression.



CONCLUSIONS: In this study we established associations with the development of EH of SNP rs11568818 *MMP7* in obese men and of SNPs rs3025058 *MMP3* and rs17577 *MMP9* in non-obese men.

KEYWORDS: hypertension; obesity; matrix metalloproteinases; single nucleotide polymorphism.

ОБОСНОВАНИЕ

В настоящее время ожирение считается неинфекционной пандемией, а рост его распространения представляет собой серьезную медико-социальную проблему [1]. Известно, что среди больных ожирением повышен риск развития гипертонической болезни (ГБ), сахарного диабета, почечной недостаточности и др., при этом у мужчин риск развития осложнений в 3 раза выше по сравнению с женщинами [2–4]. Клинические и эпидемиологические исследования подтверждают тесную связь высоких значений индекса массы тела с повышением уровня артериального давления (АД) и развитием ГБ [5, 6]. Однако точные механизмы, определяющие повышение АД, ассоциированные с ожирением, остаются недостаточно изученными [7, 8].

Отложение избыточной жировой ткани в организме является сложным многокомпонентным процессом, при этом важную роль в опосредованном ожирением адипогенезе играют матриксные металлопротеиназы (ММР) [9]. Это группа структурно родственных цинк-зависимых протеиназ, обеспечивающих деградацию компонентов внеклеточного матрикса и участвующих в процессах ремоделирования, ангиогенеза, пролиферации, дифференцировки и метастазирования [10]. Ранее проведенные исследования показали вовлеченность генов ММР в развитие метаболических и сердечно-сосудистых заболеваний [11–13], однако роль ожирения в реализации генетической предрасположенности к ГБ не была изучена. В связи с вышесказанным представляется актуальным изучение роли ожирения в характере ассоциаций полиморфных локусов генов-кандидатов ММР с развитием ГБ.

ЦЕЛЬ

Изучить ассоциации полиморфных локусов ММР с развитием ГБ у мужчин в зависимости от наличия ожирения.

МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Для осуществления поставленной цели нами было проведено наблюдательное, одноцентровое, одномоментное, выборочное исследование в формате «случай–контроль».

Критерии соответствия

Пациенты с ГБ включались в соответствующую группу только после подтверждения диагноза лабораторно-инструментальными и клиническими методами обследования в соответствии с диагностическими рекомендациями Всероссийского научного общества кардиологов (ВНОК) [14].

В исследование включались неродственные лица русской национальности, являющиеся уроженцами Центрально-Черноземного региона России. Жителями

Центрального Черноземья считали потомков лиц, имевших два и более поколения предков, проживавших на данной территории [15]. Критериями соответствия группе больных ГБ были систолическое АД ≥ 140 мм рт. ст. и/или диастолическое АД ≥ 90 мм рт. ст. (ВНОК, 2010). Критериями исключения из анализируемой группы были наличие в анамнезе симптоматических и/или вторичных гипертоний, печеночной и/или почечной недостаточности. Критерием соответствия контрольной группе были уровень систолического АД < 140 мм рт. ст. и уровень диастолического АД < 90 мм рт. ст., критерием исключения из группы контроля – наличие у мужчины метаболического синдрома, аутоиммунных и онкологических заболеваний.

Условия проведения и продолжительность исследования

Формирование групп пациентов осуществлялось на базе кардиологического отделения ОГБУЗ БОКБ Святителя Иоасафа в период с 2013 по 2016 гг.

Описание медицинского вмешательства

Для всех мужчин, включенных в исследование, рассчитывали индекс массы тела (ИМТ, $\text{кг}/\text{м}^2$), определяли уровни общего холестерина (ОХС), холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС-ЛПВП), триглицеридов (ТГ). Содержание холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС-ЛПНП) вычисляли по формуле Фридвальда. Образцы крови для биохимического анализа отбирались после 8-часового голодания, анализ проводился в Белгородской областной клинической больнице Святителя Иоасафа.

Забор крови для генетического анализа производили из локтевой вены пробанда в объеме 5 мл. Выделение геномной ДНК из периферической крови проведено стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Исследование анализируемых полиморфных локусов осуществлялось с помощью полимеразной цепной реакции (real-time PCR) синтеза ДНК с использованием олигонуклеотидных праймеров и зондов. Всем больным с ГБ и мужчинам группы контроля проводилось генотипирование восьми полиморфных локусов ММР, которые были выбраны для исследования согласно представленным ранее критериям [16].

Анализ в подгруппах

В рамках исследования сформированные группы контроля и больных с ГБ были поделены на подгруппы в зависимости от наличия ожирения. Критерием включения в подгруппу пациентов с ожирением был ИМТ ≥ 30 . Лица, у которых регистрировался ИМТ < 30 , включались в подгруппу без ожирения.

Этическая экспертиза

Исследование было одобрено локальным этическим комитетом медицинского факультета Белгородского

государственного национального исследовательского университета, протокол № 8 от 10.04.2013 г. Все участники исследования подписали информированное согласие.

Статистический анализ

Оценку соответствия наблюдаемого распределения генотипов ожидаемому в соответствии с равновесием Харди-Вайнберга проводили при помощи критерия χ^2 . Анализ частот аллелей и генотипов в группах мужчин с гипертензией и группе контроля проводили в таблицах сопряженности 2x2 с использованием χ^2 -критерия с поправкой Йетса на непрерывность. Проведен статистический анализ клинических и клинико-лабораторных показателей у больных с АГ и в контрольной группе. Распределение показателей систолического и диастолического АД, ОХС, ХС-ЛПВП, ХС-ЛПНП и ТГ отличалось от нормального по критерию Шапиро-Уилка ($p < 0,05$), поэтому для сравнительного анализа больных и контроля по этим показателям использовали критерий Манна-Уитни. Расчеты проводились в программе STATISTICA for Windows 10.0.

Характер ассоциации полиморфных локусов с формированием заболевания оценивался при помощи показателя отношения шансов (OR – от англ. *odds ratio*) и его 95% доверительного интервала (95% CI – от англ. *confidence interval*). При $OR > 1$ полиморфный вариант считали фактором риска развития заболевания, $OR < 1$ – протективным фактором формирования заболевания, $OR = 1$ – взаимосвязь отсутствовала. Определение несинонимичных полиморфных локусов (nsSNP – от англ. *nonsynonymous single nucleotide polymorphism*) и оценку их предикторного значения осуществляли с помощью программного обеспечения (SIFT – от англ. *Sorting Tolerant From Intolerant*) (<https://sift.bii.a-star.edu.sg/>). Регуляторный потенциал однонуклеотидных полиморфизмов изучался с помощью онлайн-программы HaploReg (v4.1) (<https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>) [17]. Оценку влияния полиморфного маркера на экспрессию генов (*cis*-eQTL) проводили по данным проекта Genotype-Tissue Expression (GTEx) [18]. В исследование включались данные с $p < 8 \times 10^{-5}$, $pFDR$ (от англ. – *false discovery rate*) $\leq 0,05$. Направленность связи аллельных вариантов по-

лиморфного локуса с уровнем транскрипции гена определяли по коэффициенту линейной регрессии (β), характеризующему изменение нормализованного показателя генной экспрессии на один полиморфный генетический вариант (<http://www.gtexportal.org/>).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Объекты (участники) исследования

В исследование включен 821 пациент: 564 мужчины с ГБ и 257 индивидуумов контрольной группы. Характеристика обследованных групп представлена в таблице 1. Группы мужчин с ГБ и индивидуумы с нормотонией были сопоставимы по возрасту ($p > 0,05$), но значительно отличались по ИМТ, уровню артериального давления, значениям ОС, ХС-ЛПВП и ХС-ЛПНП, ТГ ($p < 0,001$). Среди мужчин, включенных в исследование, I степень АГ зарегистрирована у 54 пациентов (9,57%), II степень – у 196 (34,76%), III степень – у 314 (55,67%). Антигипертензивную терапию (ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, при необходимости – антагонисты рецепторов ангиотензина II, диуретики, комбинированные препараты) получали 462 пациента с АГ (81,91%), 102 мужчины (18,09%) не принимали антигипертензивных препаратов. Регулярно антигипертензивные препараты принимали 299 мужчин (53,01%), а 163 пациента (28,90%) лечились нерегулярно.

Основные результаты исследования

Результаты сравнительного анализа частот аллелей и генотипов полиморфных локусов металлопротеиназ у больных с ГБ и в контрольной группе в зависимости от наличия ожирения представлены в табл. 2. Примечательно, что в группах пациентов с ожирением и без ожирения с развитием ГБ ассоциированы различные полиморфные локусы MMP. Выявлено, что аллель A rs11568818 гена *MMP7* повышает риск возникновения ГБ у лиц с ожирением ($OR = 2,01$; 95% CI = 1,21–3,36; $p = 0,01$), а генотип GG этого гена, напротив, оказывает протективное влияние при развитии заболевания ($OR = 0,42$; 95% CI = 0,21–0,83; $p = 0,01$). Установлено, что с высоким риском развития ГБ у мужчин без ожирения ассоциированы

Таблица 1. Клинические характеристики больных с гипертонической болезнью и лиц контрольной группы

Показатели	Мужчины с ГБ (n=564)	Мужчины без ГБ (n=257)	p
Возраст (лет)	57,6±8,4	57,5±9,7	0,865
Индекс массы тела (кг/м ²)	30,8±4,5	25,0±2,9	<0,001
Систолическое АД (мм рт. ст.)	175,5±23,2	121,6±10,4	<0,001
Диастолическое АД (мм рт. ст.)	104,7±12,3	79,2±7,0	<0,001
Общий ХС (ммоль/л)	5,7±1,1	5,1±1,0	<0,001
ХС-ЛПВП (ммоль/л)	1,3±0,4	1,5±0,4	<0,001
ХС-ЛПНП (ммоль/л)	3,7±1,1	3,2±0,7	<0,001
Триглицериды (ммоль/л)	1,8±1,0	1,1±0,7	<0,001

Примечание: данные представлены в виде абсолютного числа больных или среднего значения ± стандартное отклонение

Таблица 2. Сравнительный анализ частот аллелей и генотипов полиморфизмов генов матриксных металлопротеиназ у мужчин в зависимости от наличия ожирения

Локусы	Аллели, генотипы	С ожирением				Без ожирения			
		Больные (n=323) абс. (%)	Контроль (n=46) абс. (%)	OR (95% CI)	p	Больные (n=241) абс. (%)	Контроль (n=211) абс. (%)	OR (95% CI)	p
MMP1 rs1799750	1G	344 (53,25)	47 (51,09)	1,09 (0,69–1,73)	0,78	258 (53,53)	219 (52,14)	1,05 (0,81–1,39)	0,72
	2G	302 (46,75)	45 (48,91)	0,92 (0,58–1,45)		224 (46,47)	201 (47,86)	0,95 (0,72–1,24)	
	1G/1G	87 (26,93)	14 (30,44)	0,84 (0,41–1,75)	0,75	73 (30,29)	60 (28,57)	1,08 (0,71–1,67)	0,77
	1G/2G	170 (52,63)	19 (41,30)	1,58 (0,81–3,09)	0,20	112 (46,47)	99 (47,14)	0,97 (0,66–1,43)	0,96
	2G/2G	66 (20,44)	13 (28,26)	0,65 (0,31–1,39)	0,31	56 (23,24)	51 (24,29)	0,94 (0,60–1,49)	0,88
MMP2 rs243865	C	485 (75,08)	62 (67,39)	1,45 (0,88–2,39)	0,15	360 (74,69)	325 (77,01)	0,88 (0,64–1,21)	0,46
	T	161 (24,92)	30 (32,61)	0,69 (0,42–1,13)		122 (25,31)	97 (22,99)	1,14 (0,83–1,56)	
	CC	186 (57,59)	19 (41,30)	1,93 (0,99–3,78)	0,05	133 (55,19)	125 (59,24)	0,85 (0,57–1,25)	0,44
	CT	113 (34,98)	24 (52,17)	0,49 (0,25–0,96)	0,05	94 (39,00)	75 (35,55)	1,16 (0,78–1,73)	0,51
	TT	24 (7,43)	3 (6,52)	1,15 (0,31–5,02)	0,99	14 (5,91)	11 (5,21)	1,12 (0,47–2,71)	0,94
MMP3 rs3025058	5A	292 (45,20)	41 (44,56)	1,03 (0,65–1,63)	0,99	209 (43,54)	213 (50,47)	0,76 (0,58–0,99)	0,04
	6A	354 (54,80)	51 (55,44)	0,97 (0,61–1,55)		271 (56,46)	209 (49,53)	1,32 (1,01–1,73)	
	5A/5A	73 (22,60)	7 (15,22)	1,63 (0,66–4,17)	0,34	45 (18,75)	53 (25,12)	0,69 (0,43–1,10)	0,13
	5A/6A	146 (45,20)	27 (58,69)	0,58 (0,30–1,13)	0,12	119 (49,58)	107 (50,71)	0,95 (0,65–1,41)	0,89
	6A/6A	104 (32,20)	12 (26,09)	1,35 (0,64–2,87)	0,50	76 (31,67)	51 (24,17)	1,45 (0,94–2,25)	0,10
MMP7 rs11568818	A	276 (42,86)	25 (27,17)	2,01 (1,21–3,36)	0,01	189 (39,87)	189 (45,43)	0,80 (0,60–1,05)	0,11
	G	368 (57,14)	67 (72,83)	0,50 (0,30–0,83)		285 (60,13)	227 (54,57)	1,26 (0,95–1,65)	
	AA	62 (19,25)	4 (8,69)	2,50 (0,81–8,55)	0,12	32 (13,50)	42 (20,19)	0,62 (0,36–1,05)	0,08
	AG	152 (47,21)	17 (36,96)	1,52 (0,77–3,03)	0,25	125 (52,74)	105 (50,48)	1,09 (0,74–1,62)	0,70
	GG	108 (33,54)	25 (54,35)	0,42 (0,21–0,83)	0,01	80 (33,76)	61 (29,33)	1,23 (0,81–1,87)	0,37
MMP8 rs1320632	A	589 (92,03)	80 (86,96)	1,73 (0,84–3,53)	0,15	441 (92,65)	383 (92,07)	1,09 (0,64–1,83)	0,84
	G	51 (7,97)	12 (13,04)	0,57 (0,28–1,20)		35 (7,35)	33 (7,93)	0,92 (0,55–1,55)	
	AA	271 (84,69)	35 (76,09)	1,74 (0,77–3,85)	0,21	205 (85,42)	177 (85,10)	1,02 (0,59–1,79)	0,99
	AG	47 (14,69)	10 (21,74)	0,62 (0,27–1,44)	0,31	31 (12,92)	29 (13,94)	0,92 (0,51–1,63)	0,86
	GG	2 (0,62)	1 (2,17)	0,28 (0,02–7,95)	0,83	4 (1,66)	2 (0,96)	1,75 (0,27–9,87)	0,81
MMP8 rs11225395	C	360 (55,90)	43 (54,43)	1,06 (0,65–1,74)	0,90	258 (53,75)	217 (51,91)	1,08 (0,82–1,41)	0,63
	T	284 (44,10)	36 (45,57)	0,94 (0,57–1,55)		222 (46,25)	201 (48,09)	0,93 (0,71–1,22)	
	CC	103 (31,98)	9 (20,00)	1,88 (0,83–4,37)	0,14	70 (29,17)	61 (29,19)	1,01 (0,66–1,54)	0,99
	CT	154 (47,83)	25 (55,56)	0,73 (0,37–1,43)	0,42	118 (49,17)	95 (45,45)	1,16 (0,79–1,71)	0,49
	TT	65 (20,19)	11 (24,44)	0,78 (0,36–1,74)	0,64	52 (21,66)	53 (25,36)	0,81 (0,51–1,29)	0,42
MMP9 rs17577	G	530 (82,81)	74 (80,43)	1,17 (0,65–2,10)	0,68	394 (82,43)	322 (77,78)	1,34 (0,95–1,89)	0,10
	A	110 (17,19)	18 (19,57)	0,85 (0,47–1,54)		84 (17,57)	92 (22,22)	0,75 (0,53–1,05)	
	GG	220 (68,75)	31 (67,39)	1,06 (0,52–2,15)	0,99	165 (69,04)	123 (59,42)	1,52 (1,01–2,29)	0,04
	GA	90 (28,13)	12 (26,09)	1,07 (0,51–2,31)	0,98	64 (26,78)	76 (36,72)	0,63 (0,41–0,96)	0,03
	AA	10 (3,12)	3 (6,52)	0,46 (0,11–2,21)	0,46	10 (4,18)	8 (3,86)	1,08 (0,39–3,08)	0,99
MMP12 rs652438	A	595 (92,39)	86 (93,48)	0,85 (0,32–2,14)	0,87	453 (94,37)	387 (93,48)	1,17 (0,65–2,10)	0,67
	G	49 (7,61)	6 (6,52)	1,18 (0,47–3,16)		27 (5,63)	27 (6,52)	0,85 (0,48–1,53)	
	AA	275 (85,40)	40 (86,96)	0,88 (0,32–2,32)	0,96	215 (89,58)	182 (87,92)	1,18 (0,63–2,21)	0,68
	AG	45 (13,98)	6 (13,04)	1,08 (0,41–3,02)	0,99	23 (9,59)	23 (11,11)	0,85 (0,44–1,63)	0,71
	GG	2 (0,62)	0 (0)	Inf	-	2 (0,83)	2 (0,97)	0,86 (0,09–8,62)	0,99

Примечание: OR – показатель отношения шансов; 95% CI – его 95% доверительный интервал; жирным выделены значимые различия.

генетический вариант 6A rs3025058 гена *MMP3* (OR=1,32; 95% CI=1,01–1,73; p=0,04) и генотип GG rs17577 *MMP9* (OR=1,52; 95% CI=1,01–2,29; p=0,04). Генотип GA локуса rs17577, напротив, оказывает протективный эффект при развитии заболевания у мужчин без ожирения (OR=0,63; 95% CI=0,41–0,96; p=0,03).

Дополнительные результаты исследования

С использованием программного обеспечения HaploReg (v4.1) установлено, что полиморфный локус rs11568818 гена *MMP7* располагается в регионе гиперчувствительности к ДНКазе-1 в клетках эндотелия, лимфобластоидных и гемопоэтических стволовых клетках, в головном мозге, поджелудочной и молочной железах. Данный локус располагается в области модифицированных гистонов (H3K4me1 и H3K4me3), маркирующих энхансеры и промоторы в 11 различных органах и тканях, в числе которых клетки периферической крови, эндотелиоциты, мезенхимальные стволовые клетки и др. Показано, что этот SNP локализован в сайтах связывания регуляторных белков TBP, c-FOS, c-Jun и в области регуляторных мотивов ДНК, отвечающих за связывание с 4 транскрипционными факторами. Выявлено, что аллель G повышает сродство к транскрипционным факторам Foxa_known1 (различие между Δ LOD scores (от англ. – *logarithm of the odds*) альтернативного (G) и референсного (A) аллелей составило -3,1), PLZF (Δ LOD scor=-1,5), Pou5f1_known2 (Δ LOD scor=-3,2) и снижает сродство к фактору транскрипции GR_known4 (LOD scor=0,8) (<https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>).

По данным базы HaploReg (v4.1), полиморфный маркер rs3025058 гена *MMP3* локализован в регионе гистонов, маркирующих энхансеры (модифицированный гистон H3K4me1) в клетках эпителия и мезенхимы, в области гиперчувствительности к ДНКазе-1 в тимусе и в регионе регуляторных ДНК-мотивов, служащих сайтами связывания с транскрипционными факторами CIZ и Gfi1b. Установлено, что аллель 6A, являющийся «рисковым» для развития ГБ у мужчин без ожирения, снижает аффинность к транскрипционным факторам CIZ (различие между LOD scores аллелей 6A (alt) и 5A (ref) составило 1,3) и Gfi1b (Δ LOD scor=1,7). Полиморфный вариант rs17577 определяет несинонимическую замену аргинина на глутамин (Arg668Gln) в экзоне 12 гена *MMP9* (22q13.12). Выявлено, что SIFT Score данной аминокислотной замены составляет 0,02, что характеризует ее предикторное значение как DELETTERIOUS (SIFT Score \leq 0,05). Полиморфный маркер rs17577 располагается в регионе модифицированных гистонов (H3K4me1 и H3K4me3), которые маркируют энхансеры и промоторы в мезенхимальных и гемопоэтических стволовых клетках, головном мозге, периферической крови, кардиомиоцитах и др. Локус находится в регионе гиперчувствительности к ДНКазе-1 в 22 тканях, а также локализован в сайтах связывания с регуляторными белками GABP, CTCF, HAE2F1 и ZNF263.

С помощью онлайн-программы GTExportal, которая содержит сведения об экспрессии генов в 48 различных органах и тканях *in silico*, проведен анализ ассоциаций rs11568818 *MMP7* с уровнем экспрессии генов (<http://www.gtexportal.org/>). Выявлено, что полиморфный аллель G rs11568818 ассоциирован с низким уровнем экспрессии гена *MMP7* в поджелу-

дочной железе (β =-0,31; p=5,1 \times 10⁻¹¹; FDR \leq 0,05), легких (β =-0,35; p=8,1 \times 10⁻¹⁴; FDR \leq 0,05), коже (β =-0,23; p=3,9 \times 10⁻⁸; FDR \leq 0,05), желудке (β =-0,32; p=1,9 \times 10⁻⁶; FDR \leq 0,05), печени (β =-0,46; p=1,2 \times 10⁻⁵; FDR \leq 0,05).

Установлена связь полиморфного локуса rs17577 *MMP9* с уровнями экспрессии гена *SNX21* в скелетной мускулатуре (коэффициент линейной регрессии β аллеля G равен 0,19 при p=6,5 \times 10⁻⁶; FDR \leq 0,05) и гена *SLC12A5* в подкожно-жировой клетчатке (β =0,71; p=1,9 \times 10⁻¹⁵; FDR \leq 0,05), аорте (β =0,66; p=3,3 \times 10⁻⁸; FDR \leq 0,05), коронарной артерии (β =0,66; p=1,4 \times 10⁻⁵; FDR \leq 0,05) и 9 других тканях (β =0,44–1,08; p=8,9 \times 10⁻²²–3,1 \times 10⁻⁵).

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании нами были установлены ассоциации полиморфных локусов *MMP* с развитием гипертензии у мужчин с ожирением и без ожирения. Установлена вовлеченность локуса rs11568818 гена *MMP7* в развитие ГБ у лиц с ожирением. Получено, что данный полиморфный локус имеет значимый регуляторный потенциал – он расположен в регионе гистонов, маркирующих промоторы и энхансеры, в сайтах связывания регуляторных белков и транскрипционных факторов, в области гиперчувствительной к действию ДНКазы-1, а также влияет на уровень экспрессии гена *MMP7* в различных тканях. Результаты нашего исследования согласуются с данными, полученными при изучении шведского населения, где также были установлены ассоциации rs11568818 *MMP7* с развитием сердечно-сосудистой патологии у пациентов с гиперхолестеринемией (p<0,01) [19]. Согласно базе GeneCards, ген *MMP7* входит в кластер генов на 11 хромосоме и кодирует протеиназу матрилизин, которая характеризуется отсутствием консервативного гемопексинового домена на C-конце. *MMP7* участвует в протеолитическом расщеплении эластина, желатинов типа I, III, IV, V, фибронектинов, протеогликанов, отвечает за миграцию, пролиферацию и апоптоз клеток, участвует в процессах ремоделирования внеклеточного матрикса и регенерации при повреждениях (<http://www.genecards.org/>).

У мужчин без ожирения установлена вовлеченность локусов rs3025058 *MMP3* и rs17577 *MMP9* в формирование гипертонической болезни. Оба полиморфных локуса, согласно проведенному исследованию, характеризуются значимым регуляторным потенциалом, а локус rs17577 является несинонимической заменой и влияет на уровень экспрессии генов *SNX21* и *SLC12A5*. Полученные нами данные согласуются с результатами других ассоциативных исследований: локус rs3025058 ассоциирован с высокими показателями артериального давления в австралийской популяции [20], а генотип 6A/6A rs3025058 связан с высоким риском развития гипертензии и инфаркта миокарда у польского населения [21]. В то же время, согласно литературным данным, генотип AA rs17577 *MMP9* ассоциирован с высоким риском развития сердечно-сосудистой патологии у индивидуумов с ожирением в бразильской популяции, что не согласуется с полученными в настоящем исследовании данными [22]. Наблюдаемые отличия могут обуславливаться этническими различиями анализируемых групп и дизайном исследования.

Согласно данным GeneCards, ген *MMP3* кодирует протеолитический фермент MMP3 (стромелизин 1), который отвечает за деградацию основных компонентов артериальной стенки – фибронектина, ламинина, протеогликанов, желатинов I–V типа, коллагенов III, IV, IX, X. Стромелизин 1 секретируется многими клетками, в том числе эндотелиоцитами, и участвует в цитокиновой сигнализации, что ведет к активации неспецифического воспаления и развитию гипертензии. Ген *MMP9* кодирует MMP9 (желатиназа В), которая синтезируется моноцитами, макрофагами, клетками опухолей и гидролизует коллагены IV и V типов. Желатиназа В участвует в IL8-индуцированной мобилизации гемопоэтических клеток-предшественников и выступает индуктором высвобождения цитокинов и факторов роста (<http://www.genecards.org/>).

Резюме основного результата исследования

Установлено, что у мужчин с ожирением в формировании ГБ вовлечены аллель А (OR=2,01; p=0,01) и генотип GG (OR=0,42; p=0,01) полиморфного локуса rs11568818 гена *MMP7*. У мужчин без ожирения с развитием заболевания ассоциированы аллель 6А (OR=1,32; p=0,04) rs3025058 гена *MMP3* и генотипы GG (OR=1,52; p=0,04) и GA (OR=0,63; p=0,03) rs17577 гена *MMP9*.

Обсуждение основного результата исследования

В работе установлены ассоциации полиморфных локусов *MMP* с формированием ГБ у мужчин с ожирением и без ожирения. Полученные нами результаты согласуются с результатами других ассоциативных исследований, проведенных ранее в Швеции, Австралии и Польше. Полиморфные локусы rs11568818 *MMP7*, rs3025058 *MMP3* и rs17577 *MMP9*, ассоциированные с развитием ГБ, характеризуются значимым регуляторным потенциалом – они располагаются в регионе гистонов, маркирующих промоторы и энхансеры, в области гиперчувствительности к ДНКазе-1, в сайтах связывания регуляторных белков и транскрипционных факторов. Кроме того, локусы rs11568818 и rs17577 влияют на уровень экспрессии генов *MMP7*, *SNX21* и *SLC12A5*. Наблюдаемые эпигенетические эффекты этих локусов могут быть медико-биологической основой их вовлеченности в развитие гипертонической болезни.

Ограничения исследования

Настоящее исследование имеет некоторые ограничения. Так, в работе рассматривались мужчины, но не рассматривались женщины; было проанализировано только восемь полиморфных локусов семи генов *MMP*; при формировании ГБ у больных с ожирением и без ожирения не анализировались ген-генные взаимодействия. Вышесказанное свидетельствует о необходимости проведения дальнейших исследований роли ожирения в реализации генетической предрасположенности к развитию ГБ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в настоящем исследовании выявлено модифицирующее влияние ожирения в реализации генетической предрасположенности к развитию ГБ у мужчин: установлены ассоциации с развитием ГБ полиморфного локуса rs11568818 гена *MMP7* у мужчин с ожирением и локусов rs3025058 *MMP3* и rs17577 *MMP9* у мужчин без ожирения. Показаны значимые эпигенетические эффекты анализируемых полиморфных маркеров – они располагаются в регионе гистонов, маркирующих промоторы и энхансеры, в области гиперчувствительности к ДНКазе-1, в сайтах связывания регуляторных белков и транскрипционных факторов, а также влияют на уровень экспрессии генов *MMP7*, *SNX21* и *SLC12A5*. Полученные данные расширяют представления о влиянии ожирения на реализацию наследственной предрасположенности к ГБ у мужчин.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Подготовка и публикация рукописи проведены на личные средства авторского коллектива.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов. Все авторы внесли значимый вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Nguyen DM, El-Serag HB. The Epidemiology of Obesity. *Gastroenterol Clin North Am.* 2010;39(1):1-7. doi: <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2009.12.014>
2. Wilson PWF, D'Agostino RB, Sullivan L, et al. Overweight and Obesity as Determinants of Cardiovascular Risk. *Arch Intern Med.* 2002;162(16):1867. doi: <https://doi.org/10.1001/archinte.162.16.1867>
3. Polonikov AV., Ushachev DV., Ivanov VP, et al. Altered erythrocyte membrane protein composition mirrors pleiotropic effects of hypertension susceptibility genes and disease pathogenesis. *J Hypertens.* 2015;33(11):2265-2277. doi: <https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000000699>
4. Мурсалов А.У. Особенности оксидативного статуса у пациентов пожилого возраста с сахарным диабетом второго типа // Научные результаты биомедицинских исследований. – 2018. – Т.4. – №3. – С. 90–95. [Mursalov AU. Peculiarities of the oxidative status in elderly patients with type 2 diabetes mellitus. *Research Results in Biomedicine.* 2018;4(3):90-95. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-9>
5. Kidambi S, Kotchen TA. Treatment of Hypertension in Obese Patients. *Am J Cardiovasc Drugs.* 2013;13(3):163-175. doi: <https://doi.org/10.1007/s40256-013-0008-5>
6. Пивоваров А.В. Взаимосвязь инсулиноподобного фактора роста-1 и показателей углеводного обмена у больных с артериальной гипертензией и сахарным диабетом 2 типа // Научный результат. Медицина и фармация. – 2017. – Т.3. – №1. – С.8–14. [Pyvovarov AV. Relationship between insulin-like growth factor-1 and indicators of the carbohydrate metabolism in patients with comorbidity of arterial hypertension and type 2 diabetes mellitus. *Res Result Med Pharm.* 2017;3(1):8-14. doi: <https://doi.org/10.18413/2313-8955-2017-3-1-8-14>
7. Andreassen OA, McEvoy LK, Thompson WK, et al. Identifying Common Genetic Variants in Blood Pressure Due to Polygenic Pleiotropy With Associated Phenotypes. *Hypertension.* 2014;63(4):819-826. doi: <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02077>
8. Andreassen OA, McEvoy LK, Thompson WK, et al. Hypertension Editors' Picks. *Hypertension.* 2015;65(4):819-826. doi: <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.03969>
9. Koh Y, Jaoude J. Matrix metalloproteinases in exercise and obesity. *Vasc Health Risk Manag.* 2016;12(4):287-295. doi: <https://doi.org/10.2147/VHRM.S103877>

10. Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc Res.* 2006;69(3):562-573. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2005.12.002>
11. Boumiza S, Bchir S, ben Nasr H, et al. Role of MMP-1 (-519A/G, -1607 1G/2G), MMP-3 (Lys45Glu), MMP-7 (-181A/G), and MMP-12 (-82A/G) Variants and Plasma MMP Levels on Obesity-Related Phenotypes and Microvascular Reactivity in a Tunisian Population. *Dis Markers.* 2017;2017(3):1-16. doi: <https://doi.org/10.1155/2017/6198526>
12. Albert C, Kube J, Albert A, et al. Cubilin Single Nucleotide Polymorphism Variants are Associated with Macroangiopathy While a Matrix Metalloproteinase-9 Single Nucleotide Polymorphism Flip-Flop may Indicate Susceptibility of Diabetic Nephropathy in Type-2 Diabetic Patients. *Nephron.* 2019;141(3):156-165. doi: <https://doi.org/10.1159/000494391>
13. Москаленко М.И., Пономаренко И.В., Полоников А.В., Чурносос М.И. Полиморфный локус rs652438 гена MMP12 ассоциирован с развитием артериальной гипертензии у женщин. // Артериальная гипертензия. – 2019. – Т.25. – №1. – С. 60–65. [Moskalenko MI, Ponomarenko IV, Polonikov AV, Churnosov MI. Polymorphic locus rs652438 of the MMP12 gene is associated with the development of hypertension in women. *Arterial'naâ gipertenziâ.* 2019;25(1):60-65. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.18705/1607-419X-2019-25-1-60-65>
14. Чазова И.Е., Ратова Л.Г., Бойцов С.А., Небиеридзе Д.В. Диагностика и лечение артериальной гипертензии (Рекомендации Российского медицинского общества по артериальной гипертонии и Всероссийского научного общества кардиологов) // Системные гипертензии. – 2010. – Т.7. – №3. – С. 5–26. [Chazova IE, Ratova LG, Boitsov SA, Nebieridze DV. Recommendations for the management of arterial hypertension Russian Medical Society of Arterial Hypertension and Society of Cardiology of the Russian Federation. *Sistemnyye gipertenzii.* 2010;7(3):5-26. (In Russ.)]
15. Сорокина И.Н., Рудых Н.А., Безменова И.Н., Полякова И.С. Популяционно-генетические характеристики и генетико-эпидемиологическое исследование ассоциаций генов-кандидатов с мультифакториальными заболеваниями // Научные результаты биомедицинских исследований. – 2018. – Т.4. – №4. – С. 20–30. [Sorokina IN, Rudykh NA, Bezmenova IN, Polyakova IS. Population genetic characteristics and genetic epidemiological research of candidate genes associations with multifactorial diseases. *Research Results in Biomedicine.* 2018;4(4):20-30. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.18413/2313-8955-2018-4-4-0-3>
16. Polonikov AV, Bushueva OY, Bulgakova IV, et al. A comprehensive contribution of genes for aryl hydrocarbon receptor signaling pathway to hypertension susceptibility. *Pharmacogenet Genomics.* 2017;27(2):57-69. doi: <https://doi.org/10.1097/FPC.0000000000000261>
17. Ward LD, Kellis M. HaploReg v4: systematic mining of putative causal variants, cell types, regulators and target genes for human complex traits and disease. *Nucleic Acids Res.* 2016;44(D1):D877-D881. doi: <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1340>
18. Ward LD, Kellis M. Genetic effects on gene expression across human tissues. *Nature.* 2017;550(7675):204-213. doi: <https://doi.org/10.1038/nature24277>
19. Jormsjö S, Whatling C, Walter DH, et al. Allele-Specific Regulation of Matrix Metalloproteinase-7 Promoter Activity Is Associated With Coronary Artery Luminal Dimensions Among Hypercholesterolemic Patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21(11):1834-1839. doi: <https://doi.org/10.1161/hq1101.098229>
20. Beilby J, Hung J, Chapman C, et al. 1161-173 Stromelysin-1 (MMP-3) gene 5A/6A promoter polymorphism is associated with blood pressure in a community population. *J Am Coll Cardiol.* 2004;43(5):A522. doi: [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(04\)92212-7](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(04)92212-7)
21. Sakowicz A, Fendler W, Lelonek M, et al. Genetic Polymorphisms and the Risk of Myocardial Infarction in Patients Under 45 Years of Age. *Biochem Genet.* 2013;51(3-4):230-242. doi: <https://doi.org/10.1007/s10528-012-9558-5>
22. Luizon MR, Belo VA, Fernandes KS, et al. Plasma matrix metalloproteinase-9 levels, MMP-9 gene haplotypes, and cardiovascular risk in obese subjects. *Mol Biol Rep.* 2016;43(6):463-471. doi: <https://doi.org/10.1007/s11033-016-3993-z>

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]:

***Москаленко Мария Ивановна**, к.б.н. [Maria I. Moskalenko, PhD in biology]; адрес: Россия, 308015, Белгород, ул. Победы, д. 85 [address: 85 Pobedy street, 308015 Belgorod, Russia]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0769-4095>; eLibrary SPIN: 1429-0676; e-mail: mariam31011989@yandex.ru

Пономаренко Ирина Васильевна, к.м.н. [Irina V. Ponomarenko, MD, PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5652-0166>; eLibrary SPIN: 5926-3601; e-mail: ponomarenko_i@bsu.edu.ru

Полоников Алексей Валерьевич, д.м.н. [Alexey V. Polonikov, MD, PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6280-247X>; eLibrary SPIN: 6373-6556; e-mail: polonikov@rambler.ru

Батлущая Ирина Витальевна, д.б.н. [Irina V. Batlutskaya, PhD in biology]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0068-6586>; eLibrary SPIN: 2555-6176; e-mail: bat@bsu.edu.ru

Сорокина Инна Николаевна, д.б.н. [Inna N. Sorokina, PhD in biology]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4517-7032>; eLibrary SPIN: 8862-0440; e-mail: sorokina@bsu.edu.ru

Чурносос Михаил Иванович, д.м.н. [Mikhail I. Churnosov, MD, PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1254-6134>; eLibrary SPIN: 7407-9649; e-mail: churnosov@bsu.edu.ru

*Автор, ответственный за переписку.

ЦИТИРОВАТЬ:

Москаленко М.И., Пономаренко И.В., Полоников А.В., Сорокина И.Н., Батлущая И.В., Чурносос М.И. Роль ожирения в реализации генетической предрасположенности к развитию гипертонической болезни у мужчин // Ожирение и метаболизм. – 2019. – Т. 16. – №4. – С. 66-72. doi: <https://doi.org/10.14341/omet10053>

TO CITE THIS ARTICLE:

Moskalenko MI, Ponomarenko IV, Polonikov AV, Sorokina IN, Batlutskaya IV, Churnosov MI. The role of obesity in the implementation of genetic predisposition to the development of essential hypertension in men. *Obesity and metabolism.* 2019;16(4):66-72. doi: <https://doi.org/10.14341/omet10053>