

<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2022.11.67-70>

Эпигеномные изменения в лейкоцитах периферической крови у пациентов с гипертонической болезнью и дисциркуляторной энцефалопатией

Сучкова И.О.¹, Дергачева Н.И.¹, Соколова В.А.¹, Фирова Э.М.², Мамедова З.Э.², Мещерякова Н.Г.², Агibalова Л.Т.², Шурпа С.Л.², Сасина Л.К.¹, Баранова Т.В.¹, Муружева З.М.², Татаринов А.Е.², Паткин Е.Л.¹

1 – ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» Минобрнауки России
197376, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12

2 – Клиника ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»
197198, г. Санкт-Петербург, Малый проспект П.С, д. 13.

В настоящее время эпигеномный ландшафт, лежащий в основе гипертонической болезни и дисциркуляторной энцефалопатии, мало изучен. Идентификация эпигенетического паттерна в комплексе с генетическим паспортом индивида может предоставить дополнительную информацию об этиологии заболеваний и риске развития осложнений, а также о выборе стратегии и тактики лечения. В представленной работе проведена количественная оценка уровня полногеномного метилирования ДНК и степени компактизации хроматина в лейкоцитах периферической крови у пациентов с гипертонической болезнью и дисциркуляторной энцефалопатией и здоровых добровольцев из Санкт-Петербурга. У пациентов с гипертонической болезнью выявлены гендерные различия в риске развития дисциркуляторной энцефалопатии. По сравнению с контролем при гипертонической болезни повышены уровень метилирования ДНК и степень компактизации хроматина. В исследованных группах у мужчин и женщин обнаружена различная эпигеномная реакция лейкоцитов на лекарственную терапию при данных заболеваниях.

Ключевые слова: гипертоническая болезнь, энцефалопатия, полногеномное метилирование ДНК, компактизация хроматина, лейкоциты, эпигеном, биомаркеры, фармакоэпигенетика.

Для цитирования: Сучкова И.О., Дергачева Н.И., Соколова В.А., Фирова Э.М., Мамедова З.Э., Мещерякова Н.Г., Агibalова Л.Т., Шурпа С.Л., Сасина Л.К., Баранова Т.В., Муружева З.М., Татаринов А.Е., Паткин Е.Л. Эпигеномные изменения в лейкоцитах периферической крови у пациентов с гипертонической болезнью и дисциркуляторной энцефалопатией. *Медицинская генетика* 2022; 21(11): 67-70.

Автор для корреспонденции: Сучкова И.О.; e-mail: irsuchkova@mail.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства образования и науки России.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.10.2022

Epigenomic changes in peripheral blood leukocytes in patients with hypertension and dyscirculatory encephalopathy

Suchkova I.O.¹, Dergacheva N.I.¹, Sokolova V.A.¹, Firova E.M.², Mamedova Z.E.², Meshcheryakova N.G.², Agibalova L.T.², Shurpa S.L.², Sasina L.K.¹, Baranova T.V.¹, Muruzheva Z.M.², Tatarinov A.E.², Patkin E.L.¹

1 – Institute of Experimental Medicine
12, Akad Pavlov str., St. Petersburg, 197376, Russian Federation

2 – Clinic of Institute of Experimental Medicine
13, Maly Prospect Petrogradskoi Storony, St. Petersburg, 197198, Russian Federation

Currently, the epigenomic landscape underlying hypertension and dyscirculatory encephalopathy is poorly understood. Identification of the epigenetic pattern in combination with genetic passport can provide additional information about the etiology of diseases and the risk of complications, as well as the choice of strategy and tactics of treatment. We carried out a quantitative assessment of the level of genome-wide DNA methylation and the degree of chromatin compaction in peripheral blood leukocytes in patients with hypertension and dyscirculatory encephalopathy, and also in healthy volunteers from St. Petersburg. Gender differences in the risk of developing dyscirculatory encephalopathy were revealed in patients with hypertension. It was found that the level of DNA methylation and the degree of chromatin compaction are increased in hypertension (compared to control). In the studied groups, men and women showed different epigenomic reactions of leukocytes to drug therapy in these pathologies.

Keywords: hypertension, encephalopathy, genome-wide DNA methylation, chromatin compaction, leukocytes, epigenome, biomarkers, pharmacoepigenetics

For citation: Suchkova I.O., Dergacheva N.I., Sokolova V.A., Firova E.M., Mamedova Z.E., Meshcheryakova N.G., Agibalova L.T., Shurpa S.L., Sasina L.K., Baranova T.V., Muruzheva Z.M., Tatarinov A.E., Patkin E.L. Epigenomic changes in peripheral blood leukocytes in patients with hypertension and dyscirculatory encephalopathy. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]* 2022; 21(11): 67-70. (In Russ.)

Corresponding author: Suchkova I.O.; **e-mail:** irsuchkova@mail.ru

Funding. The work was carried out according to the state order of the Ministry of Science and Higher Education.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Accepted: 20.10.2022

Введение

Хроническое течение гипертонической болезни (ГБ) сопровождается поражением кровеносных сосудов головного мозга, что приводит к нарушению мозгового кровообращения и может быть одной из причин возникновения цереброваскулярных заболеваний, в частности дисциркуляторной энцефалопатии (ДЭ) [1, 2]. Установлено, что большинство сердечно-сосудистых и цереброваскулярных заболеваний возникает не только из-за генетических мутаций, но и из-за эпигенетической дисрегуляции, обусловленной воздействием окружающей среды и образом жизни [3-5]. В последние годы особое внимание уделяется фармакоэпигенетике, которая изучает лекарственный ответ и разрабатывает индивидуальную терапию, основанную на различиях в эпигенетическом ландшафте пациентов [6, 7]. В связи с этим использование эпигенетических/эпигеномных биомаркеров является перспективным в клинической медицине.

Цель исследования состояла в количественной оценке уровня полногеномного метилирования ДНК и степени компактизации хроматина при ГБ, и проверке гипотезы о возможности использования эпигеномных маркеров для оценки эффективности лекарственной терапии при данных заболеваниях.

Методы

Исследование одобрено ЛЭК ФГБНУ «ИЭМ» (протоколы № 3/19 от 25.04.2019 и №2/21 от 27.05.2021). Материалом для анализа являлись ядра и ДНК из лейкоцитов периферической венозной крови пациентов с ГБ без и с ДЭ в анамнезе, проходивших плановое лечение в клинике ФГБНУ «ИЭМ» (табл. 1). От всех пациентов получено информированное согласие. Забор крови проводили при поступлении в клинику и через 2 недели стационарного терапевтического лечения. Лекарственная терапия (вне зависимости от того наблюдалась или нет у пациента ДЭ) включала в себя комплексное использование гипотензивных, антикоагулянтных, гиполипидемических и диуретиче-

ских веществ, а также препаратов, улучшающих метаболизм клеток. Различия в терапевтическом лечении между исследованными группами пациентов состояли в частоте применения и сочетании тех или иных лекарственных препаратов. Контрольную группу составили добровольцы из Санкт-Петербурга, которые прошли клиническое и неврологическое обследование, были здоровы на момент взятия крови и не имели в анамнезе сердечно-сосудистых и неврологических заболеваний (табл. 1).

Для экстракции геномной ДНК использовали неферментативный метод высаливания [8]. Количественную оценку полногеномного метилирования ДНК по CCGG сайтам (gw-methDNA) проводили путём метил-чувствительной рестрикции с использованием эндонуклеаз MspI и HpaII с последующим денситометрическим измерением электрофореграмм в программном обеспечении ImageJ [9]. Определение относительной степени компактизации хроматина (полногеномный уровень) (ChrComp) осуществляли с использованием классического биохимического подхода, основанного на чувствительности ДНК к ДНКазе I [9]. Полученные данные проверены на нормальность распределения с использованием теста Шапиро-Вилка [10]. Статистический анализ проводили с использованием непараметрических критериев Крускала-Уоллиса, Манна-Уитни, Уилкоксона [11]. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ с учетом поправки на множественность сравнений.

Результаты и обсуждение

Обнаружено, что при ГБ риск развития ДЭ у женщин в 2,4 раза выше, чем у мужчин (табл. 2). У здоровых женщин gw-methDNA в лейкоцитах в 1,3 раза выше, чем у мужчин ($p = 0,037$), но при этом ChrComp находится на одинаковом уровне (табл. 3). По сравнению с контролем при ГБ (как с ДЭ, так и без ДЭ) повышено gw-methDNA в 1,2 раза у женщин и в 1,6 раза у мужчин ($p < 0,001$). ChrComp повышена при «ГБ без ДЭ»

в 1,2 раза у женщин ($p = 0,002$) и в 1,3 раза у мужчин ($p = 0,016$), при этом в группе «ГБ+ДЭ» не обнаружено различий с контролем. В то же время не выявлено различий между мужчинами и женщинами в gw-methDNA и ChrComp как при поступлении в клинику, так и после терапевтического лечения ($p > 0,05$). Однако в отличие от мужчин у женщин проведенное лечение привело к изменению эпигеномного статуса лейкоцитов. После терапии gw-methDNA у женщин «ГБ без ДЭ» уменьшилось ($p = 0,025$), тогда как в группе «ГБ+ДЭ» оно, наоборот, увеличилось ($p = 0,002$). ChrComp у женщин «ГБ+ДЭ» снизилась в 1,3 раза ($p = 0,024$), а в группе «ГБ без ДЭ» этот эпигеномный маркер остался на уровне, выявленном при поступлении в клинику (табл. 3).

У женщин эпигеном лейкоцитов оказался более чувствительным к терапевтическому воздействию. Причём в случае ГБ, осложненной ДЭ, изменения затрагивали как метилирование ДНК, так и хроматин, тогда как при ГБ без ДЭ, лекарственная терапия преимущественно оказывала влияние на метилирование ДНК. Опубликованные данные указывают на прямую связь метилирования ДНК с кардиометаболическими признаками, а не наоборот, тем самым подчеркивается роль именно эпигенома (в частности метилирования ДНК) в развитии гипертонии и сосудистых заболеваний [3, 4, 6, 7, 12].

Во всех исследованных нами группах (как в контроле, так и среди пациентов с ГБ) наблюдался ши-

Таблица 1. Характеристика исследованных групп

Table 1. Characteristics of the studied groups

Группа	Мужчины		Женщины	
	N	Возраст, лет ($M \pm SD$)	N	Возраст, лет ($M \pm SD$)
Контроль	57	$42,2 \pm 13,9$	63	$47,6 \pm 12,4$
ГБ	55	$45,0 \pm 14,5$	68	$54,0 \pm 12,3$

Таблица 2. Частота возникновения ДЭ у пациентов с ГБ

Table 2. Frequency of dyscirculatory encephalopathy in patients with hypertension

Пациенты с ГБ	ДЭ		RR (95%CI)	OR (95%CI)	ϕ	p
	$v, \% (n/N)$	95% CI				
Мужчины	25,5 (14/55)	14,9-40,2	2,4 (1,4-4,1)	4,4 (1,9-10,2)	0,34	$< 0,001$
Женщины	60,3 (41/68)	48,4-71,1				

Таблица 3. Уровень gw-methDNA и степень ChrComp в лейкоцитах в норме и при ГБ до и после терапевтического лечения

Table 3. The level of gw-methDNA and the degree of ChrComp in leukocytes in the control group and in patients with hypertension before and after treatment

Группа	Мужчины		Женщины	
	gw-methDNA, % Me (Q1-Q3)	ChrComp, % Me (Q1-Q3)	gw-methDNA, % Me (Q1-Q3)	ChrComp, % Me (Q1-Q3)
Контроль	49,5 (39,9-65,8)	52,9 (38,3-68,3)	64,2 (45,7-78,9)	50,4 (38,8-64,3)
ГБ без ДЭ (при поступлении)	77,2 (59,2-85,1)	75,9 (45,6-84,4)	85,3 (77,7-88,5)	73,0 (56,4-83,0)
ГБ+ДЭ (при поступлении)	78,0 (75,7-83,9)	49,8 (39,5-81,8)	81,5 (77,1-83,7)	67,9 (44,3-79,4)
ГБ без ДЭ (при выписке)	78,9 (72,0-84,5)	70,9 (62,2-84,0)	81,6 (66,9-83,7)	67,0 (47,8-82,1)
ГБ+ДЭ (при выписке)	83,5 (81,1-87,6)	67,1 (54,8-70,4)	85,8 (80,0-89,0)	51,8 (36,0-65,2)

рокий межиндивидуальный разброс значений уровня gw-methDNA и степени ChrComp. Это указывает на важность персонализированного подхода к выбору лекарственной терапии не только с учетом наличия различных сопутствующих заболеваний, но и опираясь на генетический и эпигенетический/эпигеномный статус пациента. Полученные результаты говорят о необходимости обоих типов анализа (как на уровне метилирования ДНК, так и на уровне хроматина) для адекватной дифференциальной диагностики риска развития цереброваскулярных осложнений при ГБ.

Литература

1. Мироненко Т.В., Перетьятко С.Г. Острая гипертоническая энцефалопатия: принципы диагностики и лечения. *Практична ангиологія*. 2008;7-8(18-19).
2. Одинак М.М., Денишчук И.С., Вознюк И.А. Особенности суточного профиля артериального давления у больных с прогрессирующим течением гипертонической дисциркуляторной энцефалопатии. *Вестник Российской Военно-Медицинской Академии*. 2006;16(2):26–29.
3. Dobrynina L.A., Zabitova M.R., Kalashnikova L.A. et al. Hypertension and cerebral microangiopathy (Cerebral Small Vessel Disease): genetic and epigenetic aspects of their relationship. *Acta Naturae*. 2018 Apr-Jun;10(2):4–15.
4. Fernández-Sanlés A., Sayols-Baixeras S., Subirana I. et al. DNA methylation biomarkers of myocardial infarction and cardiovascular disease. *Clin Epigenetics*. 2021 Apr 21;13(1):86. doi:10.1186/s13148-021-01078-6.
5. Pagiatakis C., Musolino E., Gornati R. et al. Epigenetics of aging and disease: a brief overview. *Aging Clin Exp Res*. 2021 Apr;33(4):737–745. doi:10.1007/s40520-019-01430-0.
6. Fischer M.A., Vondrisk T.M. Clinical epigenomics for cardiovascular disease: Diagnostics and therapies. *J Mol Cell Cardiol*. 2021 May;154:97–105. doi.org/10.1016/j.jymcc.2021.01.011.
7. Metzinger L., de Franciscis S., Serra R. The Management of cardiovascular risk through epigenetic biomarkers. *Biomed Res Int*. 2017;2017:9158572. doi.org/10.1155/2017/9158572.
8. Suguna S., Nandal D.H., Kamble S. et al. Genomic DNA isolation from human whole blood samples by nonenzymatic salting out method. *Int J Pharm Pharmac Sci*. 2014;6(6):198–199.
9. Suchkova I.O., Sasina L.K., Dergacheva N.I. et al. The influence of low dose bisphenol A on whole genome DNA methylation and chromatin compaction in different human cell lines. *Toxicol in Vitro*. 2019 Aug;58:26–34. doi:10.1016/j.tiv.2019.03.010.
10. Statistics Kingdom. <https://www.statskingdom.com/320ShapiroWilk.html> (accessed on 10 May 2022).
11. Online Web Statistical Calculators. <https://astatsa.com/> (accessed on 10 May 2022).
12. Wei X., Yi X., Zhu X.H., Jiang D.S. Histone methylation and vascular biology. *Clin Epigenetics*. 2020 Feb 18;12(1):30. doi:10.1186/s13148-020-00826-4.

References

1. Mironenko T.V., Peretyatko S.G. Ostraya gipertonicheskaya entsefalopatiya: printsipy diagnostiki i lecheniya [Acute hypertensive encephalopathy: principles of diagnosis and treatment]. *Prakticheskaya angiologiya* [Practical angiology]. 2008;7-8(18-19). (In Russ.)
2. Odnak M.M., Denishchuk I.S., Voznyuk I.A. Osobennosti sutochnogo profilya arterial'nogo davleniya u bol'nykh s progredieryntnym techeniyem gipertonicheskoy distsirkulyatornoy entsefalopatii [Features of the daily blood pressure profile in patients with a progressive course of hypertensive dyscirculatory encephalopathy]. *Vestnik Rossiyskoy Voenno-Meditsinskoy Akademii* [Bulletin of the Russian Military Medical Academy]. 2006;16(2):26–29. (In Russ.)
3. Dobrynina L.A., Zabitova M.R., Kalashnikova L.A. et al. Hypertension and cerebral microangiopathy (Cerebral Small Vessel Disease): genetic and epigenetic aspects of their relationship. *Acta Naturae*. 2018 Apr-Jun;10(2):4–15.
4. Fernández Sanlés A., Sayols Baixeras S., Subirana I. et al. DNA methylation biomarkers of myocardial infarction and cardiovascular disease. *Clin Epigenetics*. 2021 Apr 21;13(1):86. doi:10.1186/s13148-021-01078-6.
5. Pagiatakis C., Musolino E., Gornati R. et al. Epigenetics of aging and disease: a brief overview. *Aging Clin Exp Res*. 2021 Apr;33(4):737–745. doi:10.1007/s40520-019-01430-0.
6. Fischer M.A., Vondrisk T.M. Clinical epigenomics for cardiovascular disease: Diagnostics and therapies. *J Mol Cell Cardiol*. 2021 May;154:97–105. doi.org/10.1016/j.jymcc.2021.01.011.
7. Metzinger L., de Franciscis S., Serra R. The Management of cardiovascular risk through epigenetic biomarkers. *Biomed Res Int*. 2017;2017:9158572. doi.org/10.1155/2017/9158572.
8. Suguna S., Nandal D.H., Kamble S. et al. Genomic DNA isolation from human whole blood samples by nonenzymatic salting out method. *Int J Pharm Pharmac Sci*. 2014;6(6):198–199.
9. Suchkova I.O., Sasina L.K., Dergacheva N.I. et al. The influence of low dose bisphenol A on whole genome DNA methylation and chromatin compaction in different human cell lines. *Toxicol in Vitro*. 2019 Aug;58:26–34. doi:10.1016/j.tiv.2019.03.010.
10. Statistics Kingdom. <https://www.statskingdom.com/320ShapiroWilk.html> (accessed on 10 May 2022).
11. Online Web Statistical Calculators. <https://astatsa.com/> (accessed on 10 May 2022).
12. Wei X., Yi X., Zhu X.H., Jiang D.S. Histone methylation and vascular biology. *Clin Epigenetics*. 2020 Feb 18;12(1):30. doi:10.1186/s13148-020-00826-4.