

Промоторный полиморфизм rs890293 гена эпоксигеназы *CYP2J2* ассоциирован с повышенным риском развития гипертонической болезни у женщин

Быканова М.А.¹, Солодилова М.А.¹, Бочарова А.В.², Вагайцева К.В.², Степанов В.А.², Полоников А.В.¹

¹ Курский государственный медицинский университет, кафедра биологии, медицинской генетики и экологии, г. Курск; marina.bickanova@yandex.ru

² Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск

Полиморфный вариант -76G>T (rs890293) гена *CYP2J2* показал статистически значимые различия в распределении частот генотипов при сравнении групп больных ГБ (n = 960) и здоровых женщин (n = 552). Гетерозиготный генотип -76G/T ассоциировался с повышенным риском развития ГБ у женщин.

Ключевые слова: гипертоническая болезнь, ДНК-полиморфизм, арахидоновая кислота, *CYP2J2*

Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии необходимости раскрытия конфликта интересов.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №15-15-10010).

The Promoter Polymorphism rs890293 of the *CYP2J2* Gene Is Associated with An Increased Risk of Essential Hypertension in Women

Bykanova M.A.¹, Solodilova M.A.¹, Bocharova A.V.², Vagaytseva K.V.², Stepanov V.A.², Polonikov A.V.¹

¹ Kursk State Medical University, Department of Biology, Medical Genetics and Ecology, Kursk; marina.bickanova@yandex.ru

² Federal State Budgetary Scientific Institution «Tomsk National Research Medical Center of The Russian Academy of Sciences», Tomsk

Polymorphism -76G>T (rs890293) of the *CYP2J2* gene showed significant differences in the distribution of genotypes between hypertensive and healthy women. In particular, the heterozygous genotype -76G/T was associated with increased risk of developing essential hypertension in women.

Key words: hypertensive disease, DNA polymorphism, arachidonic acid, *CYP2J2*.

Введение

В соответствии с данными Росстата, распространенность артериальной гипертензии (АГ) в РФ в течение последних лет остается стабильно высокой — ею страдает около 40% населения страны, что в абсолютном выражении составляет порядка 58 млн. человек [1]. Гипертоническая болезнь (ГБ) — мультифакториальное заболевание, развивающееся при комплексном взаимодействии генетических и средовых факторов. В основе патогенеза болезни лежат полигенные механизмы. В настоящее время генетиками всего мира активно ведется поиск генов-кандидатов предрасположенности к ГБ. Значительная доля установленных генов предрасположенности к ГБ непосредственно вовлечена в регуляцию сосудистого тонуса. В частности, одним из важных сосудистых регуляторов являются ферменты, контролирующие метаболизм эпоксиэйкозатриеновых кислот (ЕЕТs) — продуктов биосинтеза арахидоновой кислоты, катализируемых цитохром Р450 эпоксигеназами [2].

ЕЕТs характеризуются важнейшими биологическими функциями в сердечно-сосудистой системе, такими как регулирование кровообращения, расслабление гладких мышц, снижение общего тонуса сосудов [3], а также они обладают противовоспалительными, антитромботическими, фибринолитическими свойствами [4]. В кардиомиоцитах ЕЕТs имеют протективную роль, помогая в восстановлении клеток после кислородного голодания, путем активации чувствительного калиевого канала и митоген-ативированной протеинкиназы, которые предупреждают повреждения от ишемии и аритмии, а также усиливают жизнеспособность клеток [5].

Ключевым ферментом биосинтеза ЕЕТs является цитохром 2J2 — единственный представитель 2J подсемейства цитохром Р450-эпоксигеназ. *CYP2J2* локализуется в эндоплазматической сети и является одним из ферментов, отвечающих за преобразование арахидоновой кислоты в ЕЕТs [6]. В сердечной мышце, скелетной мускулатуре, плаценте, а также в легких, почках *CYP2J2*

является доминирующей формой цитохрома P450. Высокий уровень экспрессии обнаружен в кардиомиоцитах и в эндотелии коронарных артерий [2]. Также данный белок обнаружен в клетках крови, моноцитах, макрофагах, Т лимфоцитах и тромбоцитах [2, 7].

Ген *CYP2J2* расположен на коротком плече хромосомы 1 в сегменте р31.3–31.2. Секвенирование гена *CYP2J2* идентифицировало множество полиморфизмов в различных его участках: в промоторной зоне, экзонах, а также в некодирующих и нетранслируемых областях [8]. Одним из наиболее хорошо охарактеризованных ДНК-полиморфизмов является нуклеотидная замена -76G>T (rs890293). Располагаясь в промоторной зоне, данный полиморфизм влияет на экспрессию гена и, таким образом, на активность биосинтеза EETs [9]. Ранее нами было обнаружено статистически значимая ассоциация полиморфизма -76G>T с риском развития ГБ в относительно небольшой популяции русских жителей Курской области [11].

Целью настоящего исследования явилось изучение ассоциации функционально значимого промоторного полиморфизма -76G>T гена *CYP2J2* с риском развития гипертонической болезни в когорте жителей Центральной России.

Материалы и методы исследования

Всего в исследовании приняли участие 1512 неродственных индивидов, проживающих на территории Курской области. Из них 92% были русской национальности (на основе самоидентификации), остальные 8% были представлены другими славянскими народностями (украинцы и белорусы). Контрольная группа включала 552 практически здоровых добровольцев и группу больных ГБ (n = 960), которые соответствовали друг другу по полу и возрасту (табл. 1).

Было получено информированное согласие каждого из участников, протокол исследования был одобрен Региональным этическим комитетом при Курском государственном медицинском университете. Диагноз *эссенциальная ГБ* устанавливался врачами-кардиологами на основании критериев ВОЗ на базе областной клинической больницы и больницы скорой медицинской помощи г. Курска после исключения симптоматических артериальных гипертензий с помощью клинических, лабораторных и клинично-инструментальных методов. Критерием включения здоровых индивидов в контроль-

ную группу были: систолическое АД ≤ 130 мм рт. ст., диастолическое АД ≤ 85 мм рт. ст. при двух повторных измерениях, отсутствие стойких хронических заболеваний по данным субъективного обследования. У всех пациентов проводился забор венозной крови. Выделение геномной ДНК производилось из лейкоцитов крови классической фенольно-хлороформной экстракцией [12]. Генотипирование полиморфизма -76G>T (rs890293) гена *CYP2J2* проводилось на базе Томского НИИ Медицинской генетики в Центре коллективного пользования «Медицинская геномика» на масс-спектрометре MassARRAY Analyzer 4 (Sequenom). Анализ результатов генотипирования проводили с помощью программного обеспечения MassARRAY TYPER 4.0. Статистическую обработку данных осуществляли при помощи STATISTICA 6.0 для Windows (StatSoft Inc, USA). Для сравнения частот аллелей и генотипов между группами больных ГБ и здоровых индивидов использовался критерий χ^2 Пирсона с поправкой Йетса на непрерывность данных. Для оценки ассоциаций аллелей и генотипов гена *CYP2J2* с предрасположенностью к ГБ рассчитывали отношение шансов (OR) — показатель, отражающей во сколько раз вероятность оказаться в группе «случай» (больные ГБ) отличается от вероятности оказаться в группе «контроль» (здоровые) для носителя изучаемого генотипа. Границы 95%-ного доверительного интервала (CI) для OR вычисляли методом B. Woolf.

Результаты и обсуждение

Распределение частот генотипов в группах больных ГБ и здоровых индивидов находилось в соответствии с равновесием Харди—Вайнберга ($p = 0,932$). Частоты аллелей и генотипов полиморфизма rs890293 представлены в табл. 2. Частота встречаемости минорного аллеля -76T в исследованной нами популяции жителей Центральной России не отличалась от таковой в других европеоидных популяциях [13]. Встречаемость аллеля -76G статистически значимо была выше у больных ГБ, чем у здоровых индивидов (OR 1,51; 95%CI 1,11–2,07; $p = 0,011$). Как видно из табл. 2, гетерозиготный генотип -76GT ассоциировался с повышенным риском развития ГБ (OR 1,44; 95%CI 1,04–2,00; $p = 0,034$), наличие такого варианта ассоциировано с повышенным риском возникновения заболевания. Так как реализация наследственной предрасположенности к ГБ в значительной сте-

Таблица 1

Базовые характеристики изучаемой популяции

Базовые характеристики	Пациенты с ГБ (n = 960)	Контрольная группа (n = 552)	Уровень значимости p
Средний возраст ¹	59,07 ± 9,51	58,25 ± 7,41	0,06
Мужчины ²	471 (49)	294 (53)	0,13
Женщины ²	489 (51)	258 (47)	
Примечание. ¹ Средний возраст ± стандартное отклонение; ² абсолютное число и процент пациентов соответствующего пола.			

пени зависит от пола, поэтому представлялось важным оценить распределение частот генотипов отдельно для мужчин и женщин. Данные по распределению частот аллелей и генотипов полиморфизма rs890293 гена *CYP2J2* среди больных с ГБ и здоровых индивидов в зависимости от пола представлены в табл. 3.

У мужчин не было обнаружено статистически значимых различий в распределении частот аллелей и генотипов между группами больных ГБ и здоровых индивидов. В то

же время у женщин варианты генотипы -76G/T+TT были ассоциированы с повышенным риском развития ГБ у женщин (OR 2,16; 95%CI 1,31–3,55; p = 0,002).

В ходе исследования нами обнаружена ассоциация полиморфизма rs890293 гена *CYP2J2* и ГБ в популяции русских жителей Центральной России, что подтвердило результаты нашего предварительного исследования в популяции русских жителей Курской области [11]. Однако нами был выявлен половой диморфизм в ассоциации

Таблица 2

Полиморфизм rs890293 гена *CYP2J2* у больных ГБ и здоровых индивидов

Частота аллелей и генотипов гена	Больные ГБ (n = 961) n (%) ¹	Контроль (n = 552) n (%)	Уровень значимости, (p) ²	OR (95% CI) ³
Частоты аллелей				
-76G аллель	0,922	0,947	0,011	1,51 (1,11-2,07)
-76T аллель	0,078	0,053		
Частоты генотипов				
-76GG	819 (85,2)	495 (89,7)	0,014	0,66 (0,48-0,92)
-76GT	135 (14,0)	56 (10,1)	0,034	1,44 (1,04-2,00)
-76TT	7 (0,7)	1 (0,2)	0,296	2,89 (0,50-16,73)
Примечание. ¹ Абсолютное число и процент лиц с исследуемым генотипом; ² p-уровень значимости; ³ Отношение шансов с 95% доверительными интервалами				

Таблица 3

Распределение аллелей и генотипов полиморфизма rs890293 гена *CYP2J2* у больных с ГБ и здоровых индивидов в зависимости от пола

Частота аллелей и генотипов гена	Больные ГБ (n = 961) n (%) ¹	Контроль (n = 552) n (%)	Уровень значимости, (p) ²	OR, (95% CI) ³
Мужчины (больных 472, здоровых 294)				
Частоты аллелей				
-76G аллель	0,938	0,942	0,793	1,08 (0,70-1,66)
-76T аллель	0,063	0,058		
Частоты генотипов				
-76GG	416 (88,1)	260 (88,4)	0,90	0,97 (0,62-1,53)
-76GT	53 (11,2)	34 (11,6)	0,89	0,97 (0,61-1,53)
-76TT	3 (0,6)	0 (0,0)	0,44	4,39 (0,23-85,3)
-76G/T+TT	56 (11,8)	34 (11,6)	0,90	1,03 (0,65-1,62)
Женщины (больных 489, здоровых 258)				
Частоты аллелей				
-76G аллель	0,908	0,953	0,002	2,05 (1,29-3,24)
-76T аллель	0,092	0,047		
Частоты генотипов				
-76GG	403 (82,4)	235 (91,1)	0,001	0,46 (0,28-0,75)
-76GT	82 (16,8)	22 (8,5)	0,002	2,16 (1,31-3,55)
-76TT	4 (0,8)	1 (0,4)	0,83	1,59 (0,25-10,2)
-76G/T+TT	86 (18,6)	23 (8,9)	0,001	2,15 (1,32-3,48)
Примечание. ¹ Абсолютное число и процент лиц с исследуемым генотипом; ² p-уровень значимости различий между группами; ³ отношение шансов с 95% доверительными интервалами				

данного полиморфизма с риском развития ГБ. Объяснить связь данного генотипа с ГБ у женщин можно объяснить, с одной стороны, возможностью вовлеченностью изучаемого цитохрома в метаболизм половых гормонов, с другой — существованием межгенных (эпистатических) или генно-средовых взаимодействий, которые могут лежать в основе различий генетических ассоциаций ДНК-маркеров с развитием мультифакториальных заболеваний, одним из типичных примеров которых является гипертоническая болезнь [14]. Ассоциация между полиморфизмом rs890293 и ГБ также была обнаружена у мужчин европейской популяции [15]. Тогда как для китайской и шведской популяции статистически значимых различий между частотами генотипов в группах больных и здоровых обнаружено не было [10, 16]. Таким образом, результаты исследований по поиску ассоциаций полиморфизма rs890293 гена *CYP2J2* с риском развития ГБ в различных популяциях противоречивы.

Влияние вариантных генотипов (-76G/T+TT) на риск развития ГБ, вероятно, реализуется через снижение уровня экспрессии гена у носителей данных вариантов, в результате чего нарушается биосинтез EETs. Данные активные метаболиты арахидоновой кислоты способны поляризовать клетки гладких мышц сосудов, что приводит к расслаблению стенок сосудов и снижению уровня гидродинамического давления крови. Последствиями снижения уровня EETs может стать сниженная активность ионных каналов, регулирующих вазорелаксацию, недостаточное стимулирование образования вазодилаторов, увеличение сократительной способности сердечной мышцы и частоты сердечных сокращений, повышение уровня ренина и снижение выделения натрия в почках, способствование апоптическому и окислительному повреждению сосудов. В почках было обнаружено, что EETs, которые образуются в проксимальных канальцах и кортикальных собирательных трубочках, уменьшают транспорт иона натрия и воды путем ингибирования натрий-водородного транспортера — Na^+/H^+ обменника [17]. Все указанные выше изменения могут способствовать повышению артериального давления у носителей вариантных генотипов полиморфизма rs890293 гена *CYP2J2*.

Недостатком нашего исследования является то, что нами не исследованы другие важные полиморфизмы гена *CYP2J2*, а также гены других ферментов, ответственных за биосинтез EETs. При оценке ассоциации полиморфизма гена *CYP2J2* с развитием ГБ нами не учитывались средовые факторы риска. Патогенез гипертонической болезни сложен и многообразен и выявление генетических факторов риска болезни может оказаться полезным для разработки индивидуализированных подходов к лечению и профилактики болезни. Одной из важных генетически детерминированных систем регуляции сосудистого тонуса является эпоксигеназный путь метаболизма арахидоновой кислоты. Дальнейшие исследования позволят пролить свет на молекулярные

механизмы регуляции биосинтеза вазоактивных эпоксиэйкозатриеновых кислот и оценить их вклад в детерминацию гипертонической болезни и ее осложнений.

Список литературы

1. Гогин Е.Е. Гипертоническая болезнь — основная причина, определяющая сердечно-сосудистую заболеваемость и смертность в стране. Терапевтический архив. 2003; Т. 75, №9: С. 31-36.
2. Beshay N.M., Zordoky, Ayman O.S., El-Kadi Effect of cytochrome P450 polymorphism on arachidonic acid metabolism and their impact on cardiovascular diseases. Pharmacology and Therapeutics. 2010;125:446-463.
3. Fichtlscherer, S., Dimmeler, S., Breuer, S. et al. Inhibition of cytochrome P450 2C9 improves endothelium-dependent, nitric oxide-mediated vasodilatation in patients with coronary artery disease. Circulation. 2004; 109(2): 178-183.
4. Newman JW, Morisseau C, Hammock BD. Epoxide hydrolases: Their roles and interactions with lipid metabolism. Progress in lipid research. 2005; 44: 1-51.
5. Yang W, Gauthier KM, Reddy LM. et al. Stable 5,6-epoxyeicosatrienoic acid analog relaxes coronary arteries through potassium channel activation. Hypertension. 2005; 45: 681-686.
6. Westphal C, Konkel A, Schunck WH. CYP-eicosanoids-a new link between omega-3 fatty acids and cardiac disease. Prostaglandins & OtherLipidMediators. 2011; 96: 1-4.
7. Duthel F, Dauchy S, Diry M. et al. Xenobiotic-metabolizing enzymes and transporters in the normal human brain: Regional and cellular mapping as a basis for putative roles in cerebral function. Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals. 2009; 37: 1528-1538.
8. Spiecker M., Darius H., Hankeln T. et al. Risk of coronary artery disease associated with polymorphism of the cytochrome P450 epoxygenase CYP2J2. Circulation. 2004; 110: 2132-2136.
9. Florian H., Babbette L.M., Carl A.H. et al. Cytochrome p450 subfamily 2j polypeptide 2 expression and circulating epoxyeicosatrienoic metabolites in preeclampsia. Circulation. 2012; 126: 2990-2999.
10. Fava C, Montagnana M, Almgren P. et al. The common functional polymorphism -50G>T of the CYP2J2 gene is not associated with ischemic coronary and cerebrovascular events in an urban-based sample of Swedes. Journal of Hypertension. 2010 Feb; 28: 294-299.
11. Polonikov A.V., Ivanov V.P., Solodilova M.A. et al. A common polymorphism G-50T in cytochrome P450 2J2 gene is associated with increased risk of essential hypertension in a Russian population. Disease Markers. 2008; 24: 119-126.
12. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Д. Методы геномной инженерии. Молекулярное клонирование. М.: Мир, 1984; 480 С.
13. http://browser.1000genomes.org/Homo_sapiens/Variation/Population
14. Pinsonneault J., Sadee W. Pharmacogenomics of multigenic diseases: sex-specific differences in disease and treatment outcome. AAPS Pharm Sci. 2003; 5: E29.
15. King L.M., Gainer J.V., David G.L. et al. Single nucleotide polymorphisms in the CYP2J2 and CYP2C8 genes and the risk of hypertension. Pharmacogenet Genomics. 2005; 15: 7-13.
16. Zhu Q, Fu Z, Ma Y. et al. A novel polymorphism of the CYP2J2 gene is associated with coronary artery disease in Uyghur population in China. Clin Biochem. 2013;46(12):1047-1054.
17. Fleming I. The pharmacology of the cytochrome P450 epoxygenase/soluble epoxide hydrolase axis in the vasculature and cardiovascular disease. Pharmacological Reviews. 2014; 66(4): 1106-1140.