



Нарушение регуляции стабильности генома может быть ключевым механизмом развития гипертрофии левого желудочка при артериальной гипертензии

Минушкина Л.О.^{1*}, Бражник В.А.², Никитин А.Г.³, Носиков В.В.³, Затейщиков Д.А.^{1,2,3}

¹ ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» УД Президента РФ.

² ГБУЗ Городская клиническая больница № 51 ДЗ г. Москвы.

³ ФГБУ Федеральный научно-клинический центр специализированных видов клинической помощи и медицинских технологий ФМБА России, Москва.

Авторы:

Минушкина Лариса Олеговна, д.м.н., профессор кафедры терапии, кардиологии и функциональной диагностики ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента РФ.

Бражник Виктория Алексеевна, к.м.н., гл. врач ГБУЗ «Городская клиническая больница № 51 ДЗ г. Москвы» доцент кафедры терапии, кардиологии и функциональной диагностики ФГБУ «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента РФ.

Никитин Алексей Георгиевич, к.б.н., зав. лабораторией генетики ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов клинической помощи и медицинских технологий» ФМБА России.

Носиков Валерий Вячеславович, д.б.н., профессор, зав. лабораторией генетики ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов клинической помощи и медицинских технологий» ФМБА России.

Затейщиков Дмитрий Александрович, д.м.н., профессор, зав. первичным сосудистым отделением ГБУЗ ГКБ № 51 ДЗМ, профессор кафедры терапии, кардиологии и ФД с курсом нефрологии ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» УДП РФ, в.н.с. лаборатории генетики ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов клинической помощи и медицинских технологий» ФМБА России.

Резюме

Цель

Изучить ассоциацию полиморфизма генов семейства PPAR, а также генов PARG, PARG и NOS3, с гипертрофией левого желудочка (ГЛЖ) у больных артериальной гипертензией (АГ).

Материал и методы

В исследование были включены 212 больных, 127 из них имели ГЛЖ. Проводились: трансторакальная ЭхоКС, а также определение аллелей и генотипов полиморфных маркеров генов-кандидатов путем выделения геномной ДНК из венозной крови обследуемых методом фенол-хлороформной экстракции. Для амплификации полиморфных участков генов использовали амплификатор Терцик («ДНК-Технология», Россия). Статистическая обработка результатов проводилась с помощью стандартного статистического пакета программ SPSS.

Результаты

Была показана ассоциация ГЛЖ с носительством аллеля 4а гена NOS3 (OR 1,68, $p=0,016$), и генотипа GG гена PARG (OR 3,61, $p=0,024$). В многофакторном регрессионном анализе независимую связь с ГЛЖ показали аллель 4а гена NOS3, генотип GG гена PARG, возраст пациента и уровень максимального систолического артериального давления.

Заключение

Таким образом, одним из механизмов развития ГЛЖ у больных АГ может быть нарушение равновесия процессов, приводящих к дестабилизации/стабилизации генома.

Ключевые слова

PARG, NOS3, артериальная гипертония, гипертрофия левого желудочка.

Impaired regulation of genome stability may be the key mechanism of left ventricular hypertrophy development in arterial hypertension.

Minushkina L.O.¹, Brazhnik V.A.², Nikitin A.G.³, Nosikov V.V.³, Zateishchikov D.A.^{1,2,3}

¹ Central State Medical Academy of the Department for Presidential Affairs of the Russian Federation, Moscow

² City Clinical Hospital №51, Moscow

³ Federal Clinical Research Center of Specialized Types of Health Care and Medical Technologies, Federal Biomedical Agency of Russia, Moscow

Authors:

Larisa O. Minushkina, M.D., doctor of sciences, professor of therapy, cardiology and functional diagnostics department of Central State Medical Academy of the Department for Presidential Affairs of the Russian Federation, Moscow

Victoria A. Brazhnic, M.D., Ph.D., head of City Clinical Hospital №51, Moscow, assistant professor of therapy, cardiology and functional diagnostics department of Central State Medical Academy of the Department for Presidential Affairs of the Russian Federation, Moscow

Alexei G. Nikitin, Ph.D., head of the laboratory of genetics of Federal Clinical Research Center of Specialized Types of Health Care and Medical Technologies, Federal Biomedical Agency of Russia, Moscow

Valery V. Nosikov, doctor of sciences, professor, head of the laboratory of genetics of Federal Clinical Research Center of Specialized Types of Health Care and Medical Technologies, Federal Biomedical Agency of Russia, Moscow

Dmitry A. Zateishchikov, M.D., doctor of sciences, professor, head of primary vascular department of City Clinical Hospital №51, Moscow, professor of therapy, cardiology and functional diagnostics department of Central State Medical Academy of the Department for Presidential Affairs of the Russian Federation, Moscow, leading researcher of the laboratory of genetics of Federal Clinical Research Center of Specialized Types of Health Care and Medical Technologies, Federal Biomedical Agency of Russia, Moscow

Summary

Objective

To investigate association between PPAR gene family polymorphisms and PPAR, PARG and NOS3 genes with left ventricular hypertrophy (LVH) in patients with arterial hypertension (AH).

Materials and methods

This study involved 2012 patients, 127 of them had LVH. We performed transthoracic echocardiography and used determination of alleles and genotypes of polymorphic candidate genes using phenol-chloroform DNA extraction from venous blood of patients. Amplificator "Tercic" ("DNA-technology, Russia) has been used for polymorphic genetic loci amplification. Statistical analysis has been performed with SPSS software.

Results

We demonstrated the association of LVH with 4a allele of NOS3 (OR 1,68, p=0,016) and GC genotype of PARG gene (OR 3,61, p=0,024). Multiple regression analysis demonstrated independent relationship of left ventricular hypertrophy with 4a NOS3 allele, GG genotype of PARG gene, patient's age and maximal levels of systolic blood pressure.

Conclusion

Impaired balance of processes that lead to genome destabilization/stabilization may be one of the mechanisms responsible for LVH developing in patients with AH

Keywords

PARG, NOS3, arterial hypertension, left ventricular hypertrophy

Список сокращений

| | | | |
|-------|--|------------------|---|
| АГ | — артериальная гипертензия | ADPRT1 | — ген поли (АДФ-рибоза) - полимеразы 1 |
| АД | — артериальное давление | CI | — доверительный интервал |
| ГЛЖ | — гипертрофия миокарда левого желудочка | NAD ⁺ | — никотинамидадениндинуклеотид |
| ДНК | — дезоксирибонуклеиновая кислота | NOS3 | — NO-синтетаза 3 типа |
| ИБС | — ишемическая болезнь сердца | OR | — Odds ratio (отношение шансов) |
| ИММЛЖ | — индекс массы миокарда левого желудочка | PARG | — ген поли (АДФ-рибоза) гидролазы |
| КДР | — конечный диастолический размер | PARP1 | — ген поли (АДФ-рибоза) полимеразы первого типа |
| КСР | — конечный систолический размер | PPARA | — ген рецептора активируемого пролифератором пероксисом типа альфа |
| ЛЖ | — левый желудочек | PPARD | — ген рецептора, активируемого пролифератором пероксисом типа дельта |
| ММЛЖ | — масса миокарда левого желудочка | PPARG2 | — ген рецептора активируемого пролифератором пероксисом типа гамма 2 |
| нд | — недостоверно | PPARG3 | — ген рецептора активируемого пролифератором пероксисом типа гамма 3 |
| САД | — систолическое артериальное давление | PPARGC1A | — ген коактиватора 1альфа рецептора, активируемого пролифератором пероксисом типа гамма |
| СКФ | — скорость клубочковой фильтрации | | |
| ТЗСЛЖ | — толщина задней стенки левого желудочка | | |
| ТМЖП | — толщина межжелудочковой перегородки | | |
| ФВ | — фракция выброса | | |

Современные рекомендации по ведению больных артериальной гипертензией (АГ) выделяют бессимптомные поражения органов-мишеней — гипертрофию левого желудочка (ГЛЖ), гипертоническую нефропатию и др., в отдельную проблему, и предлагают потратить значительные диагностические усилия на их выявление [1]. Эти поражения относят к дополнительным факторам риска, неблагоприятно влияющим на прогноз больных. Отсутствие строгой корреляции между уровнем, тяжестью, длительностью АГ и началом формирова-

ния поражения органов-мишеней делает очевидным наличие дополнительных условий для формирования этих осложнений. В последнее время появились экспериментальные данные, указывающие на то, что процессы регуляции стабильности дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) могут иметь для этого решающее значение. Считается, что гиперпродукция оксида азота (NO) приводит к активации процессов перекисного окисления, результатом которых является синтез перекиси азота (пероксинитрита). Одной из мишеней для действия пероксини-

трита является ДНК. Экспрессия NO-синтазы, в свою очередь, регулируется ядерными рецепторами семейства PPAR. Обратный процесс — репарация ДНК, запускается с участием поли (аденозиндифосфат рибоза (АДФ-рибоза)) полимеразы первого типа (PARP1) [2] и поли (АДФ-рибоза) гидролазы (PARG). Изменение стабильности генома активно исследуется в качестве потенциального механизма развития многих заболеваний. Есть основания предполагать их участие в развитии осложнений АГ [3]. Ассоциативные генетические исследования позволяют проверить гипотезу о значимости участия того или иного белка в развитии заболевания, изучая больных с генотипами определенного белка, определяющими его различную активность.

В связи с этим целью настоящего исследования было изучить возможную ассоциацию полиморфных маркеров генов ядерных рецепторов семейства PPAR и ядерных белков PARP и PARG и эндотелиальной NO-синтазы с развитием ГЛЖ при АГ.

Характеристика больных и методы исследования

Исследование было одобрено локальным этическим комитетом. В исследование включены 212 больных АГ. Критериями исключения были отсутствие согласия на участие, наличие рубцовых изменений миокарда и выраженные клапанные пороки сердца.

Клиническая характеристика больных

По гендерному составу: мужчин — 94 (44,3%) и женщин — 118 (55,7%). Средний возраст больных составил $60,23 \pm 0,74$ лет, длительность АГ на момент обследования — $14,2 \pm 0,79$ лет. 22 (10,4%) больных имели на момент включения в исследование АГ 1 степени, 67 (31,6%) — АГ 2 степени и 123 (58%) — АГ 3 степени. У 115 (54,2%) диагностирована ишемическая болезнь сердца (ИБС), у 35 (16,5%) — сахарный диабет 2 типа, 17 (8,1%) — имели в анамнезе инсульт. Индекс массы тела составил в среднем $29,2 \pm 0,34$ кг/м², 168 (79,2%) имели избыточную массу тела. 37 (17,4%) больных имели скорость клубочковой фильтрации (СКФ) < 60 мл/мин.

Методы обследования.

При трансторакальной эхокардиографии определялись конечно-диастолический размер (КДР), конечно-систолический размер (КСР) левого желудочка (ЛЖ), толщина межжелудочковой перегород-

ки (ТМЖП) и толщина задней стенки ЛЖ (ТЗСЛЖ). Измерение проводилось в М-режиме на уровне хорд митрального клапана из парастернального доступа по длинной оси сердца. Фракция выброса (ФВ) определялась с помощью вычисления объемов по формуле Симпсона в апикальной 4-камерной позиции. Масса миокарда ЛЖ (ММЛЖ, г.) рассчитывалась по формуле Devereux RB [5]: $ММЛЖ = 1,04 \times [(ТМЖП + ТЗСЛЖ + КДР)^3 - КДР^3] - 13,6$.

Индекс ММЛЖ (ИММЛЖ) рассчитывали, как отношение ММЛЖ к площади поверхности тела. ГЛЖ считали ИММЛЖ >95 г/м² для женщин и ИММЛЖ >110 г/м² для мужчин.

Для определения аллелей и генотипов полиморфных маркеров генов-кандидатов выделяли геномную ДНК из венозной крови обследуемых методом фенол-хлороформной экстракции. Для амплификации полиморфных участков генов использовали амплификатор Терцик («ДНК-Технология», Россия). Агарозные гели окрашивали бромистым этидием, полиакриламидные — нитратом серебра. В табл. 1 представлены изученные гена-кандидаты.

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью стандартного статистического пакета программ SPSS. Для количественных переменных рассчитывали средние величины и их ошибки. Для оценки достоверности их различия использовали тест Mann-Whitney и Kruskal-Wallis. Дискретные величины сравнивали по критерию χ^2 Пирсона. Когда ожидаемое число наблюдений в любой из клеток таблицы сопряженности было < 5, использовали точный критерий Фишера, указывали величину p для двухстороннего его варианта. Оценка независимости влияния клинических и генетических показателей на степень ГЛЖ проводилась методом логистической регрессии. Клинические показатели, связь которых с особенностями течения АГ носила достоверный характер в однофакторном регрессионном анализе ($p < 0,05$), включали в многофакторный регрессионный анализ. В качестве многофакторного анализа использовали бинарную логистическую регрессию, которая проводилась с использованием метода Wilks. Для всех видов анализа статистически значимыми считали значения $p < 0,05$. Соответствие распределения частот генотипов уравнению Харди-Вайнберга проверяли с помощью онлайн-калькулятора (<http://www.oege.org/software/hardyweinberg.html>).

Таблица 1

Изученные гены-кандидаты

| Ген-кандидат | Полиморфные маркеры | Распределение частот генотипов | | χ^2 р |
|---|-----------------------|---|--|-----------------------------------|
| | | Наблюдаемое | Ожидаемое (по Харди-Вайнбергу) | |
| Ген эндотелиальной NO-синтазы (NOS3) | 4a/4b Glu298Asp | 4b4b-68 4a4b-101 4a4a-5 | 80,7 57,6 17,7 | 19,65 <0,001 |
| Ген рецептора активируемого пролифератором пероксисом типа α (PPARA) | C24313G | CC-150 CG-56 GG-6 | 149,4 57,1 5,5 | 0,08 |
| Ген рецептора активируемого пролифератором пероксисом типа γ 2 (PPARG2) | Pro12Ala | Pro/Pro-149 Pro/Ala-53 Ala/Ala-8 | 146,6 57,6 5,67 | 1,37 |
| Ген рецептора активируемого пролифератором пероксисом типа γ 3 (PPARG3) | C (-681) G | CC -104 CG -48 GG -12 | 99,9 56,2 7,9 | 3,49 |
| Ген коактиватора 1 α рецептора, активируемого пролифератором пероксисом типа γ (PPARGC1A) | Gly482Ser | Gly/Gly -71 Gly/Ser- 83 Ser/Ser-10 | 77,2 70,6 16,2 | 5,01 <0,05 |
| Ген рецептора, активируемого пролифератором пероксисом типа δ (PPARD) | T (-87) C | CC -59 CT -26 TT -79 | 31,6 80,8 51,6 | 75,4 <0,001 |
| Ген поли (АДФ-рибоза) - полимеразы 1 (ADPRT1) | Leu54Phe Val762Ala | Leu/Leu -44 Leu/Phe -62 Phe/Phe- 58 Ala/Ala-127 Ala/Val-28 Val/Val-9 | 34,3 81,4 48,3 121,2 39,5 3,2 | 9,32 <0,005 13,98 <0,001 |
| Ген поли (АДФ-рибоза) - гидролазы (PARG) | A (-431) G | AA-97 AG-48 GG-19 | 89,3 68,5 11,2 | 9,72 <0,005 |

Результаты

Среди обследованных больных АГ, у 127 выявлена ГЛЖ, у 85 пациентов признаки ГЛЖ отсутствовали. Пациенты с ГЛЖ были старше, женщин среди них было больше чем мужчин, эти больные имели большую длительность АГ, более высокие цифры максимального систолического артериального давления (САД) (табл. 2).

Достоверные различия в частотах аллелей и генотипов полиморфных маркеров генов PPARG2, PPARG3, PPARA, PPARGC1A, PPAR1 в группах боль-

ных с наличием и отсутствием ГЛЖ отсутствовали (табл. 1).

Распределение частот генотипов полиморфных маркеров генов PPARA, PPARG2, PPARG3 соответствовало уравнению Харди-Вайнберга. Для остальных маркеров было выявлено отклонение от ожидаемого распределения (табл. 1).

Частоты генотипов полиморфных маркеров генов PPARG2, PPARG3, PPARA, PPARGC1A, PPAR1, ADPRT1 достоверно не отличались у больных с ГЛЖ и без ГЛЖ (табл. 3). У больных с ГЛЖ была

Таблица 2

Клиническая характеристика больных

| Параметры | Все больные (n=212) | Больные без ГЛЖ (n=85) | Больные с ГЛЖ (n=127) | р |
|--------------------------------------|---------------------|------------------------|-----------------------|-------|
| Пол, муж/жен | 94/118 | 49/36 | 45/82 | 0,001 |
| Возраст, годы | 60,2 \pm 0,74 | 54,8 \pm 1,04 | 63,8 \pm 0,93 | 0,01 |
| Сахарные диабет 2 типа, n (%) | 35 (16,5) | 9 (10,6) | 26 (20,5) | нд |
| Длительность АГ, лет | 14,2 \pm 0,79 | 10,9 \pm 0,92 | 16,7 \pm 1,15 | 0,001 |
| Индекс массы тела, кг/м ² | 29,2 \pm 0,34 | 28,7 \pm 0,44 | 29,5 \pm 0,22 | нд |
| Избыточная масса тела, n (%) | 168 (79,2) | 63 (74,1) | 105 (82,7) | нд |
| САД максим, мм рт. ст. | 198,3 \pm 1,53 | 186,9 \pm 3,27 | 205,9 \pm 1,71 | 0,01 |
| ДАД максим, мм рт. ст. | 110,9 \pm 0,79 | 108,3 \pm 1,84 | 112,8 \pm 0,86 | нд |
| СКФ, мл/мин | 81,36 \pm 1,43 | 83,5 \pm 2,63 | 77,2 \pm 1,69 | нд |
| СКФ < 60 мл / мин, n (%) | 37 (17,4) | 12 (14,1) | 25 (19,6) | нд |
| Инсульт, n (%) | 17 (8,1) | 4 (4,7) | 13 (10,2) | нд |
| ИБС, n (%) | 115 (54,2) | 40 (47,1) | 75 (59,1) | нд |

Примечание: ДАД — диастолическое артериальное давление, нд — недостоверно.

достоверно выше частота носительства аллеля 4а полиморфного маркера 4a\4b гена NOS3 ($p=0,016$, OR 1,68 [1,07–2,62]). У этих больных достоверно выше оказалась и частота генотипа GG полиморфного маркера A (-431) G гена PARG ($p=0,024$) [OR 3,61 CI 1,21–12,91]. Частота аллеля А оказалось достоверно ниже [OR 0,27 CI 0,07–0,98], а аллеля G достоверно выше [OR=1,64 [1,01–2,67]] по сравнению с группой больных без ГЛЖ. Для полиморфного маркера T (-87) C гена PPARG в группе больных с ГЛЖ достоверно реже встречались носители гетерозиготного генотипа.

Было проведено также сравнение основных характеристик миокарда левого желудочка у больных с разными генотипами изученных полиморфных маркеров. Достоверные различия были получены только для генов NOS3, PARG и PPARG (табл. 4).

Для полиморфного маркера A (-431) G гена PARG было показано, что больные носители редкого генотипа GG имеют достоверно большую ММЛЖ и ИММЛЖ, по сравнению с носителями аллеля А. Ассоциации этого маркера с параметрами систолической и диастолической функций ЛЖ выявлено не

Таблица 3

Частота аллелей и генотипов полиморфных маркеров генов, продукты экспрессии которых участвуют в регуляции метаболизма у больных с наличием и отсутствием ГЛЖ

| | Нет ГЛЖ n= 85 | Есть ГЛЖ n= 127 | p | OR [95%CI] |
|---|------------------|--------------------|-------|-------------------|
| Полиморфный маркер C24313G гена PPARG | | | | |
| Генотипы | | | | |
| CC | 61 (71,8%) | 89 (70,1%) | нд | 1,01 [0,59–2,04] |
| CG | 23 (27,1%) | 33 (26,0%) | нд | 0,94 [0,51–1,76] |
| GG | 1 (1,2%) | 5 (3,9%) | нд | 3,34 [0,39–30,00] |
| Аллели: | | | | |
| C | 145 (85,3%) | 211 (83,1%) | нд | 0,84 [0,49–1,84] |
| G | 25 (14,3%) | 43 (16,9%) | нд | 1,18 [0,69–2,02] |
| Полиморфный маркер Pro12Ala гена PPARG2 | | | | |
| Генотипы | | | | |
| Pro/Pro | 64 (75,3%) | 85 (67,5%) | нд | 0,68 [0,36–1,86] |
| Pro/Ala | 18 (21,2%) | 36 (28,6%) | нд | 1,48 [0,77–2,84] |
| Ala/Ala | 3 (3,5%) | 5 (4,0%) | нд | 1,04 [0,44–4,48] |
| Аллели: | | | | |
| Pro | 146 (85,9%) | 206 (81,7%) | нд | 0,73 [0,23–1,45] |
| Ala | 24 (14,1%) | 46 (18,3%) | нд | 1,35 [0,79–2,32] |
| Полиморфный маркер C (-681) G гена PPARG3 | | | | |
| Генотипы | | | | |
| CC | 44 (64,7%) | 69 (63,3%) | нд | 0,94 [0,50–1,76] |
| CG | 19 (27,9%) | 33 (30,3%) | нд | 1,12 [0,57–2,18] |
| GG | 5 (7,4%) | 7 (6,4%) | нд | 0,84 [0,26–2,84] |
| Аллели: C | 107 (77,5%) | 171 (78,4%) | нд | 0,98 [0,58–1,66] |
| G | 29 (22,5%) | 47 (21,6%) | нд | 1,01 [0,60–1,70] |
| Полиморфный маркер T (-87) C гена PPARG | | | | |
| Генотипы | | | | |
| CC | 23 (33,8%) | 39 (35,8%) | нд | 1,09 [0,57–0,06] |
| CT | 18 (26,5%) | 13 (11,9%) | 0,012 | 0,36 [0,16–0,81] |
| TT | 27 (39,7%) | 57 (52,3%) | нд | 1,66 [0,90–3,07] |
| Аллели | | | | |
| C | 64 (47,1%) | 91 (41,7%) | нд | 0,80 [0,52–1,24] |
| T | 72 (52,9%) | 127 (58,3%) | нд | 1,24 [0,80–1,90] |
| Полиморфный маркер Gly482Ser гена PPARGC1A | | | | |
| Генотипы | | | | |
| Gly/Gly | 29 (42,6%) | 47 (43,1%) | нд | 1,01 [0,55–1,88] |
| Gly/Ser | 36 (52,9%) | 54 (49,5%) | нд | 0,87 [0,47–1,60] |
| Ser/Ser | 3 (4,4%) | 8 (7,3%) | нд | 1,71 [0,44–6,70] |
| Аллели: | | | | |
| Gly | 94 (69,1%) | 148 (64,9%) | нд | 0,94 [0,59–1,49] |
| Ser | 42 (30,9%) | 70 (35,1%) | нд | 1,05 [0,67–1,66] |
| Полиморфный маркер Leu64Phe гена ADPRT1 | | | | |
| Генотипы | | | | |
| Leu/Leu | 16 (23,5%) | 31 (28,4%) | нд | 1,54 [0,77–3,06] |
| Leu/Phe | 25 (36,8%) | 42 (38,5%) | нд | 1,32 [0,72–2,45] |
| Phe/Phe | 27 (39,7%) | 36 (33,0%) | нд | 0,74 [0,39–1,40] |
| Аллели | | | | |
| Leu | 57 (41,9%) | 104 (47,7%) | нд | 1,26 [0,82–1,94] |
| Phe | 79 (58,1%) | 114 (52,3%) | нд | 0,79 [0,51–1,21] |

| | Нет ГЛЖ n= 85 | Есть ГЛЖ n= 127 | р | OR [95%CI] |
|---|--------------------------------------|--|----------------------|---|
| Полиморфный маркер Val762Ala гена ADPRT1 | | | | |
| Генотипы Ala/Ala Ala/Val Val/Val | 50 (73,5%) 15 (22,1%) 3 (4,4%) | 87 (79,8%) 16 (14,7%) 6 (5,5%) | нд нд нд | 1,42 [0,69–2,90] 0,60 [0,27–1,32] 1,26 [0,30–5,22] |
| Аллели Ala Val | 115 (84,6%) 21 (15,4%) | 180 (86,5%) 28 (13,5%) | нд нд | 1,17 [0,63–2,16] 0,85 [0,47–1,57] |
| Полиморфный маркер A (-431) G гена PARG | | | | |
| Генотипы AA AG GG | 44 (64,7%) 21 (30,9%) 3 (4,4%) | 61 (56,0%) 32 (29,4%) 16 (14,7%) | нд нд 0,024 | 0,69 [0,27–1,29] 0,93 [0,48–1,79] 3,61 [1,21–12,91] |
| Аллели A G | 109 (80,1%) 27 (19,9%) | 154 (70,6%) 64 (29,4%) | 0,03 0,03 | 0,27 [0,07–0,98] 1,64 [1,01–2,67] |
| Полиморфный маркер 4a/4b гена NOS3 | | | | |
| Генотипы 4b/4b 4b/4a 4a/4a | 36 (53,7%) 30 (44,8%) 1 (1,5%) | 38 (33,3%) 72 (63,2%) 4 (3,5%) | 0,005 0,012 нд | 0,43 [0,23–0,79] 2,10 [1,14–3,86] 2,36 [0,26–23,53] |
| Аллели 4b 4a | 102 (76,1%) 32 (23,9%) | 148 (64,9%) 80 (35,1%) | 0,016 0,016 | 0,59 [0,37–0,93] 1,68 [1,07–2,62] |
| Полиморфный маркер Glu298Asp гена NOS3 | | | | |
| Генотипы Glu/Glu Glu/Asp Asp/Asp | 41 (62,1%) 24 (36,4%) 1 (1,5%) | 62 (52,5%) 52 (44,1%) 4 (3,4%) | нд нд нд | 0,67 [0,36–1,24] 1,37 [0,74–2,56] 2,24 [0,24–20,84] |
| Аллели Glu Asp | 106 (80,3%) 26 (19,7%) | 176 (74,6%) 60 (25,4%) | нд нд | 0,72 [0,42–1,21] 1,39 [0,82–2,33] |

Таблица 4

Данные эхокардиографии (ЭхоКГ) в зависимости от генотипов PARG, PPARA и NOS3

| Параметры ЭхоКГ | 4a 4b гена NOS3 | | C24313G гена PPARA | | A (-431) G гена PARG | |
|-------------------------|-------------------------|-----------------------------------|--------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------|
| | Генотип 4b/4b (n=74) | Генотипы 4a 4a и 4a 4b (n=107) | Генотип CC (n=150) | Генотипы CG и GG (n=62) | Генотипы AA и AG (n=158) | Генотип GG (n=19) |
| ТЗСЛЖ, см | 1,10±0,050 | 1,22±0,025 | 1,19±0,020 | 1,11±0,024 | 1,16±0,016 | 1,23±0,051 |
| р | 0,017 | | 0,045 | | нд | |
| ТМЖП, см | 1,12±0,023 | 1,21±0,022 | 1,17±0,017 | 1,09±0,024 | 1,14±0,015 | 1,21±0,048 |
| р | 0,004 | | 0,014 | | нд | |
| КДР, см | 4,79±0,077 | 4,85±0,058 | 4,82±0,047 | 4,81±0,063 | 4,82±0,044 | 5,00±0,154 |
| р | нд | | нд | | нд | |
| ФВ, % | 58,5±0,89 | 56,5±1,04 | 56,3±0,77 | 58,5±1,11 | 55,50±0,72 | 57,3±02,92 |
| р | нд | | нд | | нд | |
| ММЛЖ, г | 245,3±9,25 | 270,6±9,09 | 262,3±7,54 | 236,8±9,25 | 251,9±6,46 | 298,6±26,50 |
| р | 0,053 | | 0,051 | | 0,025 | |
| ИММЛЖ, г/м ² | 127,4±4,65 | 144,6±4,44 | 138,5±3,70 | 125,5±4,33 | 133,8±3,24 | 157,6±20,02 |
| р | 0,032 | | 0,044 | | 0,023 | |

было. Различия в состоянии систолической функции ЛЖ также отсутствовали.

Для полиморфного маркера C24313G гена PPARA было показано, что носители генотипа CC имеют достоверно более толстые стенки миокарда ЛЖ, ММЛЖ и ИММЛЖ.

Для полиморфного маркера 4a|4b гена NOS3 показано, что больные, имеющие в генотипе аллель 4a, имеют достоверно большую толщину стенок миокарда ЛЖ и достоверно больший ИММЛЖ.

Для оценки независимости влияния клинических и генетических факторов на риск ГЛЖ был проведен регрессионный анализ (таблица 5). В однофакторном регрессионном анализе мужской пол, возраст, уровень САД, а также полиморфизм гена NOS3 оказались связаны с развитием ГЛЖ. Факторы, достоверно связанные с ГЛЖ при однофакторном анализе, включались в многофакторный анализ.

Таблица 5

Клинические и генетические факторы, независимо влияющие на риск развития ГЛЖ

| Фактор | OR (однофакторный анализ) | p | OR (многофакторный анализ) | p |
|--|---------------------------|--------|----------------------------|--------|
| Мужской пол | 2,59 [1,86–5,72] | 0,0001 | | нд |
| Возраст | 1,09 [1,02–1,14] | 0,0001 | 1,12 [1,07–1,17] | 0,0001 |
| Максимальный уровень САД | 1,03 [1,01–1,06] | 0,001 | 1,18 [1,02–1,58] | 0,023 |
| Аллель 4a полиморфного маркера 4a/4b гена NOS3 | 2,32 [1,34–4,11] | 0,008 | 2,58 [1,09–6,09] | 0,031 |
| Генотип GG полиморфного маркера A (–431) G гена PARG | 3,72 [1,04–13,72] | 0,043 | 8,52 [1,71–42,38] | 0,028 |

При многофакторном анализе оказалось, что независимо ассоциированными факторами с ГЛЖ у больных АГ оказались наличие в генотипе аллеля 4a полиморфного маркера 4a/4b гена NOS3, генотип GG полиморфного маркера A (–431) G гена PARG, возраст больных и максимальный уровень САД.

Обсуждение

Стабильность генома, по современным представлениям, связана с сразу несколькими, идущими одновременно процессами. Во-первых, активностью факторов, дестабилизирующих ДНК, к которым относится пероксинитрит, а во-вторых, от активности репарационных процессов, во главе которых стоит взаимодействие PARP1 и PARG. Кроме того, определяющим фактором может быть регуляторное звено.

В представленном исследовании показана ассоциация полиморфных маркеров генов NOS3, PPARG и PARG с развитием ГЛЖ у больных АГ. Выявленная ассоциация подтверждает, что развитие ГЛЖ не является только лишь прямым следствием увеличения гемодинамической нагрузки на миокард, а служит следствием дисбаланса факторов участвующих в регуляции стабильности генома.

Оксид азота с одной стороны рассматривают как один из ключевых эндотелиальных факторов, участвующих в регуляции сосудистого тонуса, с другой стороны — одним из токсических факторов, повреждающих ткани и запускающих развитие апоптоза [4]. NO синтезируется из L-аргинина с помощью семейства ферментов NO-синтаз в ряде тканей. Образовавшись в эндотелии с помощью фермента эндотелиальной NO-синтазы 3 типа (NOS3), оксид азота либо запускает систему гуанилатциклазы и работает как основной фактор релаксации эндотелия, либо взаимодействует с пероксидом, образуя пероксинитрид. Пероксинитрид в свою очередь является мощным генотоксическим веществом, и имеет очень существенное значение

в регуляции экспрессии фермента поли (АДФ) рибозо-полимеразы.

Ассоциация генотипов полиморфного маркера 4a/4b гена NO-синтазы с развитием ГЛЖ была показана ранее [7], а в настоящем исследовании была подтверждена на большей группе больных. Данный полиморфизм ассоциируется с увеличением уровня базальной секреции NO и со снижением его выброса в ответ на стимулы, активирующие NOS3, т. е. улучшаются условия образования пероксинитрита [8].

Рецепторы активаторов пролиферации пероксисом (PPAR) относятся к числу ядерных рецепторов, участвующих в регуляции транскрипции, кроме прочих зарегистрированных эффектов, их стимуляция может вести к изменению активности NO-синтаз. Эти рецепторы представлены в 3 изоформах — альфа, гамма и бета/дельта, каждая из которых кодируется своим геном (PPARA, PPARG, PPARD). Каждая из изоформ обладает тканевой и субстратной специфичностью. К функциям этой группы рецепторов относится регуляция процессов пролиферации, ангиогенеза, воспаления, липидного обмена и перекисного окисления липидов. Механизм кардиопротективного действия активации PPARA до настоящего времени не вполне ясен. В эксперименте на культуре клеток было показано, что активация PPARA способствует уменьшению пролиферации кардиомиоцитов в ответ на стимуляцию эндотелином [9]. Одной из гипотетических возможностей реализации такой защиты, в т. ч. от ГЛЖ, может быть включение механизма ингибирования апоптоза, стимулированного инсулиноподобным фактором роста, при активации PPARA [5, 10]. Еще один путь влияния на развитие ГЛЖ при активации PPARA может быть связан с ситрулином 1, важным участником энергетического метаболизма [11]. Последний участвует в деацетилляции белков, и, таким образом, вмешивается в активность самых разных процессов, в т. ч. регулирует NOS3 [12]. При этом важной особенностью его действия является тот факт, что субстрат (NAD+) использует

ся также для репарации ДНК. По некоторым данным эти два процесса конкурируют между собой из-за ограниченного количества NAD⁺. При применении блокаторов PPARA, эффекты белка SIRT-1 в отношении развития ГЛЖ, нивелируются [6]. Активация PPARA препятствует также развитию фиброза миокарда [13].

Одним из гипотетических механизмов кардиопротективного в отношении развития ГЛЖ действия PPARA является его взаимодействие с NO-синтазами. Агонист PPARA фенофибрат, используемый в качестве гиполипидемического средства, снижает чувствительность бронхов к метахолину, действие которого связано с недостаточной активностью NO-синтаз [14]. В сердце экспрессируется, в основном, рецептор типа альфа. Рецепторы типа гамма специфичны для жировой ткани, а рецепторы типа бета/дельта — в различных органах и тканях, причем основной их функцией является регуляция клеточной пролиферации и дифференцировки. У рецепторов типа гамма есть ряд коактиваторов — протеинов, вызывающих конформационную трансформацию рецептора и участвующих в его активации. Коактиватор типа альфа 1 экспрессируется в основном в сердечной мышце и участвует в обеспечении энергетического обмена кардиомиоцита.

Роль PPARA в развитии ГЛЖ подтверждается клиническими данными. Ранее была показана ассоциация между развитием ГЛЖ и генотипом CC полиморфного маркера C24313G гена PPARA [15]. В настоящем исследовании эта ассоциация воспроизведена на большей выборке больных.

Значительное число работ, касающихся развития ГЛЖ проводилось для получения доказательств участия других ядерных рецепторов семейства PPAR, не удалось подтвердить такую взаимосвязь, что, возможно, объясняется тем, что функциональная значимость избранных полиморфизмов невелика.

PARP1 является сенсором повреждения ДНК, и начинает процесс ее репарации [16]. PARP1 интенсивно связывается с одиночными и двойными разрывами ДНК, образовавшимися при непосредственном повреждении ДНК или при ферментативном воздействии во время репарации ДНК. Дальнейший процесс синтеза поли (АДФ-рибозы) предшествует началу репарации поврежденной ДНК. Одновременно с этим поли (АДФ-рибозо) полимер является ускорителем апоптоза. Изменение активности поли (АДФ-рибозы) полимеразы может

приводить к развитию наследственной дистрофии сетчатки, а также предрасполагает к некоторым видам онкологических и аутоиммунных заболеваний [17]. Активация генов семейства PARP опосредует защиту клетки от генотоксических, окислительных и других воздействий. Возможно, PARP играет роль в некоторых метаболических процессах, в частности, в метаболизме жиров. Система поли (АДФ-рибозы) полимераз может быть ассоциирована с развитием гипертрофии миокарда [18]. Некоторые медиаторы развития гипертрофии миокарда, такие как ангиотензин II, интелейкин-6, являются активаторами ферментов семейства PARP и возможно именно активация этой системы опосредует развитие ГЛЖ. Это давало основания предполагать ассоциацию полиморфизма PARP с развитием ГЛЖ.

Ген PARP-1 картирован в хромосоме 13q34. Ген ADPRT1, кодирующий поли (АДФ-рибоза) — полимеразу PARP1, состоит из двух функционально различающихся частей: N-концевого ДНК-связывающего и C-концевого каталитического доменов. Между ними находится домен аутомодификации. Известен ряд полиморфизмов в этом гене, из которых наиболее изученными являются Leu54Phe, расположенный в экзоне 2, и Val762Ala, расположенный в экзоне 17 в начале каталитического домена. Полиморфный маркер Val762Ala ассоциирован с повышенным риском развития некоторых онкологических заболеваний [19], маркер Leu54Phe — с риском развития диабетической нефропатии [20]. В эксперименте показана возможность участия PARP-1 в развитии повреждения миокарда и его гипертрофии [21]. Показано, что блокаторы PARP-1 способны предотвращать развитие ГЛЖ у экспериментальных животных и в культуре клеток миокарда [22, 23]. Клинические данные, подтверждающие подобное предположение, до настоящего времени отсутствуют. Результаты, касающиеся наиболее изученных полиморфных маркеров, не показали их ассоциации между развитием ГЛЖ и полиморфизмом гена PARP1.

Фермент поли (АДФ-рибоза) гликогидролаза является физиологическим антагонистом поли (АДФ-рибозы) полимеразы. Поли (АДФ-рибоза) гликогидролаза разрушает поли (АДФ-рибозу) полимер, являющийся продуктом ферментов семейства PARP. Цепи полимера, синтезированные в ядрах в ответ на мутагенное воздействие, распадаются через 1–2 мин после завершения их синтеза, благодаря действию гидролазы.

Функция этого фермента также связана с системной апоптоза. Поли (АДФ-рибоза) гликогидролаза тормозит процессы апоптоза. Основной каталитический центр поли (АДФ-рибозы) гидролазы комплиментарен АДФ-рибозе. Ген поли (АДФ-рибозы) гликогидролазы картирован у человека в хромосоме 10q11.23. Известно, что активность PARG повышается в ответ на ишемию. Показано повышение экспрессии соответствующего гена в мозге ишемизированных мышей, в органах брюшной полости при ишемии в бассейне брыжеечной артерии. До настоящего времени данных об ассоциации полиморфных маркеров гена PARG с развитием заболеваний у человека получено не было. В представленном исследовании носительство аллеля G полиморфного маркера A (-431) G гена PARG предрасполагало к развитию ГЛЖ. Возможным механизмом этого эффекта может быть снижение активности PARG у носителей этого аллеля, нарушение разрушения АДФ-рибозы полимера, что делает клетки более чувствительными к воздействию факторов роста.

Ограничением настоящего исследования является относительно небольшое число больных. Однако полученные результаты дают основания для дальнейшего планирования исследований в указанной области.

Таким образом, одним из механизмов развития ГЛЖ у больных АГ может быть нарушение равновесия процессов, приводящих к дестабилизации/стабилизации генома.

Конфликт интересов: не заявлен.

Литература

- Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, et al. 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2013; 34 (28): 2159–219.
- Ko HL, Ren EC. Functional Aspects of PARP1 in DNA Repair and Transcription. *Biomolecules*. 2012; 2 (4): 524–48.
- Feng X, Koh DW. Roles of poly (ADP-ribose) glycohydrolase in DNA damage and apoptosis. *International review of cell and molecular biology* 2013; 304:227–81.
- Nakagawa T, Guarente L: Sirtuins at a glance. *J Cell Science*. 2011; 124 (6): 833–8.
- Devereux RB, Reichek N. Echocardiographic determination of left ventricular mass in man. Anatomic validation of the method. *Circulation*. 1977; 55 (4): 613–8.
- Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev*. 2007; 87 (1): 315–424.
- Minushkina LO, Zateishchikov DA, Zateishchikova AA, et al. NOS3 gene polymorphism and left ventricular hypertrophy in patients with essential hypertension. *Cardiology*. 2002; 42 (3): 30–4.
- Wang XL, Mahaney MC, Sim AS, et al. Genetic Contribution of the Endothelial Constitutive Nitric Oxide Synthase Gene to Plasma Nitric Oxide Levels. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 1997; 17 (11): 3147–53.
- Le K, Li R, Xu S, et al. PPARalpha activation inhibits endothelin-1-induced cardiomyocyte hypertrophy by prevention of NFATc4 binding to GATA-4. *Archives of biochemistry and biophysics*. 2012; 518 (1): 71–8.
- El Azzouzi H, Leptidis S, Bourajaj M, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) gene profiling uncovers insulin-like growth factor-1 as a PPARalpha target gene in cardioprotection. *The J Biol Chem*. 2011; 286 (16): 14 598–607.
- Planavila A, Iglesias R, Giralto M, Villarroya F. Sirt1 acts in association with PPARalpha to protect the heart from hypertrophy, metabolic dysregulation, and inflammation. *Cardiovasc Res*. 2011; 90 (2): 276–84.
- Canto C, Auwerx J. Targeting Sirtuin 1 to Improve Metabolism: All You Need Is NAD+? *Pharmacol Rev*. 2012; 64 (1): 166–87.
- Ares-Carrasco S, Picatoste B, Camafeita E, et al. Proteome changes in the myocardium of experimental chronic diabetes and hypertension: role of PPARalpha in the associated hypertrophy. *J of Proteomics*. 2012; 75 (6): 1816–29.
- Becker J, Delayre-Orthez C, Frossard N, et al. The peroxisome proliferator-activated receptor alpha agonist fenofibrate decreases airway reactivity to methacholine and increases endothelial nitric oxide synthase phosphorylation in mouse lung. *Fundamental & clinical pharmacology*. 2012; 26 (3): 340–6.
- Minushkina LO, Brazhnik VA, Zateishchikov DA, et al. Genetic predictors of left ventricular hypertrophy: do polymorphisms of peroxisome proliferator activated nuclear receptor genes play any role? *Cardiology*. 2003; 43 (12): 71–5.
- Luo X, Kraus WL. On PAR with PARP: cellular stress signaling through poly (ADP-ribose) and PARP-1. *Genes & development*. 2012; 26 (5): 417–32.
- Rozsak A, Lianeri M, Sowińska A, et al. Involvement of PARP-1 Val762Ala Polymorphism in the Onset of Cervical Cancer in Caucasian Women. *Mol Diagn Ther* 2013; 17 (4): 239–45.
- Pillai JB, Russell HM, Raman J, et al. Increased expression of poly (ADP-ribose) polymerase-1 contributes to caspase-independent myocyte cell death during heart failure. *American Journal of Physiology — Heart Circulat Physiol*. 2005; 288 (2): H486–96.
- Ye F, Cheng Q, Hu Y, et al. PARP-1 Val762Ala polymorphism is associated with risk of cervical carcinoma. *PLoS one*. 2012; 7 (5): e37446.

20. Prasad P, Tiwari AK, Kumar KM, et al. Association analysis of ADPRT1, AKR1B1, RAGE, GFPT2 and PAI-1 gene polymorphisms with chronic renal insufficiency among Asian Indians with type-2 diabetes. *BMC medical genetics*. 2010; 11:52.
21. Pacher P, Szabo C. Role of poly (ADP-ribose) polymerase 1 (PARP-1) in cardiovascular diseases: the therapeutic potential of PARP inhibitors. *Cardiovasc Drug Rev*. 2007; 25 (3): 235–60.
22. Liu M, Li Z, Chen GW, et al. AG-690/11 026 014, a novel PARP-1 inhibitor, protects cardiomyocytes from AngII-induced hypertrophy. *Molec Cell Endocrinol*. 2014; 392 (1–2): 14–22.
23. Deres L, Bartha E, Palfi A, et al. PARP-Inhibitor Treatment Prevents Hypertension Induced Cardiac Remodeling by Favorable Modulation of Heat Shock Proteins, Akt-1/GSK-3beta and Several PKC Isoforms. *PLoS one*. 2014; 9 (7): e102148.