

## ИССЛЕДОВАНИЕ АССОЦИИИ ПОЛИМОРФНОГО ВАРИАНТА VNTR (RS5787598) ГЕНА PERIOD3 С РИСКОМ РАЗВИТИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У ЖИТЕЛЕЙ РЕСПУБЛИКИ КАРЕЛИЯ

Коломейчук С.Н.<sup>1</sup>, Корнева В.А.<sup>2</sup>, Илюха В.В.<sup>3</sup>, Кузнецова Т.Ю.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Учреждение Российской академии наук Институт биологии Карельского научного центра РАН, 185910, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11; e-mail: sergey\_kolomeychuk@rambler.ru

<sup>2</sup>ГОУ «Петрозаводский государственный университет», кафедра факультетской терапии, фтизиатрии, инфекционных болезней и эпидемиологии, 185000, г. Петрозаводск, пр. Ленина, 33

<sup>3</sup>ГОУ «Петрозаводский государственный университет», лаборатория молекулярной генетики врожденного иммунитета, 185000, г. Петрозаводск, пр. Ленина, 33

---

Изучена связь полиморфного маркера VNTR (rs5787598) циркадного гена *PER3* с риском развития эссенциальной артериальной гипертензии (ЭАГ) и ишемической болезни сердца (ИБС) у жителей Республики Карелия. Образцы ДНК больных ЭАГ и ИБС и здоровых неродственных индивидов были прогенотипированы по данному полиморфному маркеру методами полимеразной цепной реакции (ПЦР) и рестрикционного анализа. Показано, что частоты аллелей и генотипов в группе больных и в группе контроля достоверно не различались. Обнаружена ассоциация полиморфного варианта VNTR (rs5787598) гена *PER3* с уровнем триацилглицеринов в группе больных. Показано, что маркер VNTR (rs5787598) гена *PER3* не ассоциирован с ЭАГ и ИБС в данной выборке.

---

Ключевые слова: гипертензия, циркадные гены, полиморфизм.

## POLYMORPHIC VARIANT OF THE PERIOD GENE (PER3) VNTR (RS5787598) AS A MARKER OF THE RISK OF HEART DISEASE IN RESIDENTS OF THE REPUBLIC OF KARELIA

Kolomeichuk S.N.<sup>1</sup>, Korneva V.A.<sup>2</sup>, Kuznetsova T.Yu.<sup>2</sup>, Ilukha V.V.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Institute Of Biology Karelian Research Center Russian Academy Of Sciences, 185910, Petrozavodsk, Pushkinskaya, 11, e-mail: sergey\_kolomeychuk@rambler.ru

<sup>2</sup> Petrozavodsk State University Dept Of Faculty Therapy, 185035, Petrozavodsk, Lenina, 33

<sup>3</sup> Petrozavodsk State University Laboratory Of Molecular Genetics Of Innate Immunity, 185035, Petrozavodsk, Lenina, 33

---

The relationship between the polymorphic marker VNTR (rs5787598) circadian gene *PER3* at risk for essential hypertension and coronary heart disease among residents of the Republic of Karelia. It is shown that the frequency of alleles and genotypes in patients and EH in the control group did not differ significantly. Also found no significant difference between the group of patients with genotypes and the control group at the level of lipids. There is association of polymorphic variant VNTR (rs5787598) gene *PER3* the level of triacylglycerols in patients suffering from CAD and EAH.

---

Keywords: hypertension, circadian genes, polymorphism.

Генетические факторы играют важную роль в контроле многих физиологических процессов, связанных в том числе и с сердечно-сосудистой системой [7]. Суточные ритмы имеют генетическую природу. В современной литературе имеются данные, указывающие на важную роль генов циркадных ритмов в функционировании сердечно-сосудистой системы [2; 10]. На экспериментальных животных было показано, что мутации в основных часовых генах могут привести к изменениям циркадных ритмов, нарушению циклов сна-бодрствования и также повлиять на функционирование сердца и сосудов [4; 5]. Транскрипционный фактор *PERIOD3* (*PER3*) является одним из ключевых компонентов отрицательной ветви системы циркадных генов человека. Нокаут гена *PER3* у мышей имеет

слабое воздействие на циркадный ритм метаболизма в кардиомиоцитах. Лocus с переменным числом tandemных повторов (VNTR), характерный для приматов и человека, находится в 18 экзоне и состоит из 4 или 5 обратных tandemных повторов, отличающихся на 54 нуклеотида [2]. Многочисленные исследования связывают этот полиморфизм с общим контролем вегетативного баланса во время циклов сна-бодрствования и косвенно с контролем сердечной вегетативной активности [3]. Предполагается, что он также может влиять и на развитие сердечно-сосудистых заболеваний (далее – ССЗ) [9]. Возможный дисбаланс циркадных ритмов кардиомиоцитов может изменять метаболизм данных клеток и тем самым повышать восприимчивость человека к ССЗ. Исследование чешских ученых показало, что полиморфный вариант rs57875989 гена *PER3* не ассоциирован с инфарктом миокарда [9]. У пациентов с генотипами *Per3*<sup>5/5</sup> были отмечены повышенные уровни маркеров воспаления: IL-6 и натрийуретического пептида. У носителей аллели 4 мужского пола была отмечена большая циркадная ритмичность по сравнению с гомозиготами *Per3*<sup>5/5</sup>. Участие этого гена, и в частности полиморфных вариантов VNTR, в развитии ССЗ у населения России практически не изучено. Цель настоящего исследования - изучение роли полиморфизма VNTR гена *PER3* в развитии патологий сердца и сосудов (эссенциальной артериальной гипертензии (АГ) и ишемической болезни сердца (ИБС)). В работе использованы образцы крови 178 доноров без клинических проявлений и диагноза АГ (контрольная группа) и 161 образец крови больных с диагнозом АГ и ИБС. Заболевание диагностировали согласно IV пересмотру рекомендаций Всероссийского научного общества кардиологов по АГ от 2010 г. Все обследованные пациенты подписывали информированное согласие на участие в исследовании. Критерии включения для больных: впервые установленный диагноз «гипертоническая болезнь» (I-II стадии, степень АГ 1-2), отсутствие гипотензивной терапии, установленный диагноз «ИБС». Критерии включения в контрольную группу: отсутствие клинических проявлений и установленных диагнозов «гипертоническая болезнь» и «ИБС». Критерии исключения, общие для доноров всех изучаемых групп: курение, беременность и лактация, алкогольная зависимость, сахарный диабет, индекс массы тела  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup>. ДНК выделяли из 200 мкл венозной крови пациентов с помощью набора для выделения геномной ДНК (Axygen, США) согласно инструкциям производителя. Условия проведения ПЦР и рестрикции описаны ранее [2]. Полученные продукты (401 п.н. – аллель с 5-тью повторами и 347 п.н. – аллель с 4-мя повторами) разделяли в 2%-ном агарозном геле, окрашенном бромистым этидием, и визуализировали с помощью системы Kodak EDAS 290 (Kodak, США). Липидный спектр (общий холестерин – ОХС, липопротеины низкой и высокой плотности - ЛПНП и ЛПВП, триглицериды - ТГ) определяли на анализаторе COBAS INTEGRA 400 PLUS (Roche Diagnostics GmbH, ФРГ-

Австрия-США). Экспериментальные данные обрабатывали с использованием статистических программ Microsoft Excel и Statgraphics 2.1 (ANOVA). Достоверность различий частот аллелей и генотипов в группах оценивали с помощью критерия  $\chi^2$ . Достоверным считали уровень значимости  $p < 0.05$ .

Показаны два аллельных варианта гена *PER3* – 4 и 5 [2]. Было обнаружено, что частоты полиморфных вариантов гена *PER3* у здоровых жителей Республики Карелия составляют 0,66 (аллель 4) и 0,34 (аллель 5) соответственно. В группе больных ЭАГ, а также и в контрольной группе было отмечено преобладание аллели 4 и гетерозиготного генотипа *PER3*<sup>4/5</sup> (табл. 1). Распределение частот аллелей и генотипов в карельской популяции близко к распределению, характерному для населения Европы [5; 8]. Тест на соответствие равновесию Харди-Вайнберга  $\chi^2=0,04$  ( $p > 0,05$ ). Анализ распределения частот вариантов гена *PER3*, полиморфного по rs5787598, в зависимости от пола показал, что у мужчин и женщин нет достоверных различий встречаемости аллелей и генотипов этого гена (табл. 1). Однако при их сравнении в контрольной группе и группе пациентов, страдающих ЭАГ, обнаружили, что как среди мужчин, так и у женщин с сердечно-сосудистыми патологиями наблюдается тенденция к увеличению доли носителей аллеля 5.

**Таблица 1**

Распределение аллелей и генотипов гена *PER3* у здоровых и больных ССЗ людей

	Аллели		Генотипы		
	4	5	PER3 <sup>44</sup>	PER3 <sup>45</sup>	PER3 <sup>55</sup>
Здоровые (N=178)	0.661	0.339	0.417	0.487	0.096
Больные (N=161)	0.652	0.348	0.422	0.461	0.118
Критерий $\chi^2$	0.88 ( $p>0.05$ )		1.24 ( $p>0.05$ )		
Женщины здоровые (N=97)	0.644	0.356	0.402	0.485	0.113
Женщины больные (N=85)	0.613	0.387	0.318	0.553	0.129
Критерий $\chi^2$	1.29 ( $p>0.05$ )		1.98 ( $p>0.05$ )		
Мужчины здоровые (N=81)	0.691	0.309	0.469	0.444	0.086

Мужчины больные (N=76)	0.671	0.329	0.461	0.421	0.118
Критерий $\chi^2$	1.03 (p>0.05)		0.69 (p>0.05)		

Обнаружено, что уровни исследованных липидных показателей достоверно не отличались в контрольной группе и группе больных АГ и ИБС, за исключением ТГ, имевших достоверную разницу (табл. 2). Стоит заметить, что повышенные значения ТАГ ассоциируются и достоверно коррелируют у больных с генотипом *PER3*<sup>5/5</sup> и отсутствуют у носителей аллеля 4 и гетерозигот (табл. 2).

**Таблица 2**

Влияние генотипа по *PER3* на биохимические показатели у здоровых и больных (M±m)

Биохимические показатели	Генотип	Контрольная группа (N=178)	Группа людей, страдающих АГ+ИБС (N=161)
ОХС, ммоль/л	<i>PER3</i> <sup>44</sup>	5,21±0,44	6,07±1,05
	<i>PER3</i> <sup>45</sup>	5,71±0,21	5,63±0,82
	<i>PER3</i> <sup>55</sup>	6,02±0,55	6,74±0,98
ХС-ЛПВП, ммоль/л	<i>PER3</i> <sup>44</sup>	3,37±0,18	3,92±0,59
	<i>PER3</i> <sup>45</sup>	3,6±0,07	3,41±0,42
	<i>PER3</i> <sup>55</sup>	3,53±0,12	4,23±0,38
ХС-ЛПНП, ммоль/л	<i>PER3</i> <sup>44</sup>	1,32±0,58	1,46±0,4
	<i>PER3</i> <sup>45</sup>	1,35±0,63	1,37±0,49
	<i>PER3</i> <sup>55</sup>	1,36±0,47	1,41±0,54
ТГ, ммоль/л	<i>PER3</i> <sup>44</sup>	1,34±0,19	1,41±0,68
	<i>PER3</i> <sup>45</sup>	1,64±0,28	1,81±0,64
	<i>PER3</i> <sup>55</sup>	1,40±0,27	2,77±0,47*
Глюкоза, ммоль/л	<i>PER3</i> <sup>44</sup>	4,34±0,37	5,64±0,82
	<i>PER3</i> <sup>45</sup>	4,47±0,29	5,55±0,67
	<i>PER3</i> <sup>55</sup>	4,38±0,28	5,07±0,98

- \* p<0.05 по сравнению с контролем.

Наши данные подтверждают результаты Lipkova и соавт. [5]. Более вероятным результатом изменения нуклеотидной последовательности в кодирующей области гена представляется нарушение структуры сайта фосфорилирования и функций кодируемого белка. Это предположение можно подтвердить данными по влиянию изменения структуры некоторых генов на уровень их экспрессии [6]. Можно предположить, что изменения в структуре гена могут влиять на уровень экспрессии генов, белковые продукты которых вовлечены в регуляцию артериального давления и variability сердечного ритма.

**Вывод.** В нашем исследовании не было обнаружено ассоциации полиморфного маркера rs5787598 гена *PER3* с развитием ЭАГ и ИБС у жителей Республики Карелия. Работа выполнена при финансовой поддержке программы Президиума РАН «Фундаментальные науки - медицине», программы стратегического развития «Петрозаводский государственный университет» и гранта РГНФ 15-16-10001 а(р) «Русский Север: традиции и современность». Исследование выполнено при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках государственного задания в сфере научной деятельности, проект № 1713 (или № 2.2336.2014/К).

#### Список литературы

1. Curtis A.M., Cheng Y., Kapoor S. et al. Circadian variation of blood pressure and the vascular response to asynchronous stress // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 2007. - V. 104. № 9. - P. 3450–3455.
2. Ebisawa T., Uchiyama M., Kajimura N. et al. Association of structural polymorphisms in the human period3 gene with delayed sleep phase syndrome // EMBO Rep. – 2001. - V. 2, № 4. – P. 342-346.
3. Jones K.H., Ellis J., von Schantz M. et al. Age-related change in the association between a polymorphism in the PER3 gene and preferred timing of sleep and waking activities // J Sleep Res. – 2007. - V. 16, № 1. - P. 12-16.
4. Laposky A., Easton A., Dugovic C., Walisser J., Bradfield C., Turek F. Deletion of the mammalian circadian clock gene BMAL1/Mop3 alters baseline sleep architecture and the response to sleep deprivation // Sleep. - 2005. - V. 28, № 4. - P. 395-409.
5. Lipkova J., Splichal Z, Bienertova-Vasku JA, Jurajda M, Parenica J., Vasku A., Goldbergova M.P. Period3 VNTR polymorphism influences the time-of-day pain onset of acute myocardial infarction with ST elevation // Chronobiol Int. - 2014. – V. 31, № 8. - P. 878-890.

6. Miyazaki K., Nagase T., Mesaki M., Narukawa J., Ohara O., Ishida N. Phosphorylation of clock protein PER1 regulates its circadian degradation in normal human fibroblasts // *Biochem J.* - 2004. - V. 15, № 380 (Pt 1). – P. 95-103.
7. Muller J.E., Tofler G.H. Circadian variation and cardiovascular disease // *N. Engl. J. Med.* - 1991. - V. 325. - P. 1038–1039.
8. Nadkarni N.A., Weale M.E., von Schantz M., Thomas M.G. Evolution of a length polymorphism in the human PER3 gene, a component of the circadian system // *J. Biol. Rhythms.* - 2005. - V. 20, № 6. – P. 490-499.
9. Pendergast J.S., Friday R.C., Yamazaki S. Distinct functions of Period2 and Period3 in the mouse circadian system revealed by in vitro analysis // *PLoS One.* – 2010. – V. 5, № 1. – P. 8552.
10. Virag J.A., Lust R.M. Circadian influences on myocardial infarction // *Front Physiol.* - 2014. - V. 5. – P. 422.
11. Vitaterna M.H., Ko C.H., Chang A.M., Buhr E.D., Fruechte E.M., Schook A., Antoch M.P., Turek F.W., Takahashi J.S. The mouse Clock mutation reduces circadian pacemaker amplitude and enhances efficacy of resetting stimuli and phase-response curve amplitude // *Proc Natl Acad Sci U S A.* - 2006. – V. 103, № 24. – P. 9327-9332.

**Рецензенты:**

Смирнов Л.П., д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории экологической биохимии Института биологии Карельского НЦ РАН, г. Петрозаводск;

Ирина А.В., д.б.н., заведующая кафедрой фармакологии, организации и экономики фармации Петрозаводского государственного университета, г. Петрозаводск.