

И.П. КАЙДАШЕВ, М.С. РАСИН, Л.Г. САВЧЕНКО,
О.А. ШЛЫКОВА, Л.И. ЯКИМИШИНА

Украинская медицинская стоматологическая академия, Полтава

ПОЛИМОРФИЗМ РЕЦЕПТОРА АНГИОТЕНЗИНА II 1-ГО ТИПА У БОЛЬНЫХ ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ В УКРАИНСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ



Исследовано распределение полиморфизма рецептора ангиотензина II 1-го типа в украинской популяции. У здоровых людей частота генотипов AA — 51 %, AC — 34 %, CC — 15 %; аллелей A — 68 %, C — 32 %. Есть основания предполагать преимущественную распространенность аллеля C и генотипа CC у здоровых людей в украинской популяции. Частоты генотипов у пациентов с эссенциальной гипертензией: AA — 22,85 %, AC — 51,9 %, CC — 25,3 %; аллелей: A — 48,7 %, C — 51,3 %. Таким образом, развитие эссенциальной гипертензии связано с присутствием аллеля C и его гомозиготного варианта. Кроме того, тяжесть и осложнения гипертонии зависели от присутствия этого аллеля и генотипа. Мы заключили, что украинское население имеет специфическое распределение полиморфизма рецептора ангиотензина II 1-го типа с преобладанием аллеля C1166 и генотипа CC. Присутствие этих генетических вариантов является фактором риска эссенциальной гипертензии.

© И.П. КАЙДАШЕВ, М.С. РАСИН, Л.Г. САВЧЕНКО,
О.А. ШЛЫКОВА, Л.И. ЯКИМИШИНА, 2005

ISSN 0564-3783. Цитология и генетика. 2005. № 5

Введение. Эссенциальная гипертензия — одна из лидирующих причин заболеваемости и смертности от сердечно-сосудистой патологии. Это заболевание возникает в результате взаимодействия различных генов с факторами окружающей среды, такими как питание, психо-эмоциональные воздействия и экологический стресс. Несмотря на то, что генетические основы этого заболевания заподозрены несколько веков назад, мы по-прежнему далеки от полного понимания роли генов в развитии подъема артериального давления. До сих пор нет полного списка генов-кандидатов, участвующих в регуляции артериального давления.

Логично, что одной из первых изученных систем регуляции сосудистого тонуса была ренин-ангиотензиновая система (РАС), которая обеспечивает множество жизненно важных процессов — водный и солевой гомеостаз, поддержание сосудистого тонуса, воздействие на морфофункциональное состояние органов и тканей сердечно-сосудистой системы и, в конце концов, регуляция кровяного давления. Поэтому гены, кодирующие белки РАС, должны участвовать в патогенезе эссенциальной гипертензии. Наиболее вероятными генами-кандидатами являются гены ангиотензин I конвертирующего фермента и рецептора ангиотензина II 1-го типа (АТ1R).

АТ1R опосредует вазоконстрикторную и пролиферативную активность ангиотензина II, напротив, рецептор ангиотензина II 2-го типа ингибирует клеточную пролиферацию и опосредует развитие апоптоза. Ген АТ1R был клонирован и картирован на длинном плече хромосомы 3 человека (3q21—q25) [1]. Полиморфизм этого гена, заключающийся в замене аденина на цитозин в положении +1166 в 3'-нетранслируемой области, в настоящее время является одним из самых хорошо изученных, и его связь с развитием инфаркта миокарда хорошо известна [2—4]. В последние годы появились исследования, посвященные связи этого полиморфизма с развитием эссенциальной гипертензии в различных популяциях.

Целью предлагаемого исследования явилось изучение ассоциации полиморфизма АТ1R с эссенциальной гипертензией в украинской популяции для использования этого полиморфизма в качестве маркера возможности развития у индивидуумов артериальной гипертензии.

Материалы и методы. Контрольную группу составили 41 индивидуум без сердечно-сосудистых и других системных заболеваний в анамнезе, проживающие в Полтаве и не состоящие в родстве. Средний возраст — $47 \pm 0,6$ года. В группу больных эссенциальной гипертензией вошли 79 пациентов I Городской клинической больницы г. Полтава. Средний возраст $48,8 \pm 0,8$ года. Все больные прошли тщательное лабораторное и инструментальное обследование для исключения симптоматических артериальных гипертензий. В исследование включены пациенты только мужского пола.

Геномную ДНК из венозной крови обследуемых выделяли фенол-хлороформным методом. Полиморфный участок гена АТ1Р амплифицировали с помощью полимеразной цепной реакции в 50 мкл среды, содержащей 67 мМ трис-НСl, рН 8,8, 16,6 мМ сульфат аммония, 0,01 % твин-20, 2 мМ хлорид магния, 0,2 мМ каждого dNTP, по 66 нг праймеров АТ1Р-L (5'-CCTGCACCATGTTTTGAGGTTGAGTGAC-3') и АТ1Р-R (5'-AAAATAACAGGACAAACG CAGGCTAGGGAG-3'), 2,5 ед. ДНК-полимеразы Taq, 50–100 нг геномной ДНК. ПЦР проводили на амплификаторе «Терцик» (ДНК-Технология, Россия) по следующей программе: первый цикл — 94 °С/3 мин, 35 циклов — 94 °С/1 мин, 65 °С/1 мин, 72 °С/2 мин, последний цикл — 72 °С/6 мин.

К 15 мкл амплификационной смеси добавляли 2 мкл 10-кратного буфера G (НПО «Сиб-энзим», Новосибирск), содержащего 10 мМ трис-НСl, рН 7,5, 10 мМ хлорид магния, 2 мкл БСА (1 мг/мл) и 1 мкл рестриктазы BstDE1 (2 ед/мкл). Пробы выдерживали в течение ночи при 60 °С. Продукты расщепления разделяли с помощью электрофореза в 2%-ном агарозном геле, который окрашивали бромистым этидиумом [1].

Результаты исследования обработаны статистически с помощью критерия χ^2 и определения достоверности точным критерием Фишера.

Результаты исследований и их обсуждение. В результате амплификации получается фрагмент длиной 352 п.н., аллель С1166 расщепляется рестриктазой на фрагменты 114 и 238 п.н., а аллель А1166 остается нерасщепленным. Наличие фрагмента длиной 352 п.н. соответствует генотипу АА, двух фрагментов 114 и 238

п.н. — генотипу СС и трех — АС. В популяционной выборке аллель А гена АТ1Р преобладает над аллелем С. В целом это прослеживается для всех популяций — москвичей, поляков, датчан и французов. Как видно из представленных в табл. 1 данных, популяции характеризуются значительными различиями в распространенности аллелей. Столь разноречивые данные можно объяснить различиями в критериях отбора и формирования групп популяционного контроля. Так, нами для устранения влияния неучтенных факторов в группы были включены только мужчины в отличие от московской и польской, в которых женщины составляли около 30 и 54 % соответственно.

Анализируя характер распределения аллелей А и С, можно легко заметить сходство полтавской популяции с датской и французской, хотя полтавская популяция характеризуется весьма значительной распространенностью гомозигот СС, что, на наш взгляд, является очень важным фактом, на обсуждении которого мы остановимся ниже.

Далее нами было изучено распределение частот встречаемости аллелей и генотипов гена АТ1Р в группе сравнения и группе пациентов с эссенциальной гипертензией среди мужчин полтавской популяции. Как видно из табл. 2, у пациентов с эссенциальной гипертензией снижается частота генотипа АА' и растет частота генотипов АС и СС. Это же прослеживается и в частоте аллелей — снижается частота аллеля А и растет частота аллеля С. Нужно заметить, что такое изменение характера распределения частот в группах пациентов с гипертензией наблюдается и среди других популяций — московской и польской. Тем не менее и в этой части исследования нами установлено значительное увеличение частоты генотипа СС и аллеля С в популяции полтавских больных как в сравнении с группой здоровых, так и со всеми группами иностранных популяций.

Такое увеличение частоты аллеля С можно объяснить с несколькими причинами: 1) случайное увеличение частоты, связанное с относительно небольшой выборкой; 2) включение в исследование, в отличие от московского и польского, лиц только мужского пола; 3) специфический характер распределения в полтавской популяции.

Таблица 1

Сравнительный анализ распределения частот встречаемости аллелей и генотипов гена АТ1R в пяти популяциях европеоидов

Генетический маркер	Полтавчане n = 41	Москвичи [5] n = 98	Поляки [8] n = 150	Датчане [5] n = 190	Французы [5] n = 723
Генотип AA	51	66,3	64	51	46
Генотип AC	34	26,6	32	42	47
Генотип CC	15*	7,1	4	7	7
Аллель A	68	79,6	80	72	69
Аллель C	32*	20,4	20	40	44

*p < 0,05.

Таблица 2

Сравнительный анализ распределения частот встречаемости аллелей и генотипов гена АТ1R в группах популяционного контроля и группах пациентов с эссенциальной гипертензией, %

Генетический маркер	Полтавская популяция		Московская популяция [5]		Польская популяция [5]	
	Группа сравнения	Группа пациентов	Группа сравнения	Группа пациентов	Группа сравнения	Группа пациентов
Генотип AA	51	22,8	66,3	50	64	52
Генотип AC	34	51,9	26,6	39,9	32	38
Генотип CC	15	25,3*	7,1	10,1*	4	10*
Аллель A	68	48,7	79,6	69,9	80	71
Аллель C	32	51,3*	20,4	30,1*	20	29*

*p < 0,05.

Таблица 3

Распределение степени тяжести и стадий гипертонической болезни в зависимости от полиморфизма гена АТ1R

Генотип	Проц. обследованных	Возраст, годы	Индекс массы тела	Стадия гипертонической болезни			Тяжесть гипертонической болезни		
				%					
				I	II	III	легкая	средняя	тяжелая
AA	22,8	52(32-60)	31,0 + 0,3	11,1	77,8	11,1	16,7	72,2	11,1
AC	51,9	50(24-63)	30,0 + 0,2	2,4*	73,2	24,4*	2,4*	53,7	43,9*
CC	25,3	44(19-59)	27,0 + 0,2	5*	60*	35*	5*	55	40*

*p < 0,05.

Анализ распределения частот генотипов и аллелей среди группы сравнения и группы пациентов в полтавской популяции показывает, что частота встречаемости аллеля C и генотипа CC высока в обеих группах и еще больше увеличивается среди больных, что вряд ли связано с малым числом обследованных лиц и подтверждается статистически. Кроме того,

высокая частота этих генотипа и аллеля, которые коррелируют с развитием артериальной гипертензии [5–8], удачно согласуется с особенностями заболеваемости эссенциальной гипертензией (гипертонической болезнью) в Полтаве. Так, заболеваемость гипертонической болезнью среди взрослого населения Украины в 2003 г. составила 231,4, а по Полтавской об-

ласти — 284,1. Эти данные свидетельствуют в пользу специфического распространения аллеля С и генотипа СС среди населения полтавской популяции.

Значительное влияние на распределение генотипов и аллелей в нашем исследовании могло оказать включение в группы пациентов только мужского пола. Известно, что у женщин физиологические уровни эстрогенов предохраняют от развития артериальной гипертензии и атеросклероза [9], что может в определенной степени нивелировать проявления гипертензивного генотипа до определенного возраста.

Для подтверждения значимости аллеля С и гомозиготного фенотипа в развитии эссенциальной гипертензии было проведено исследование степени тяжести заболевания в зависимости от присутствия полиморфных вариантов гена АТ1R.

Как видно из табл. 3, присутствие аллеля С определяет развитие артериальной гипертензии в более молодом возрасте и при более низком индексе массы тела, причем генотип СС наиболее неблагоприятен. Подобным образом наличие у пациента аллеля С определяет развитие более тяжелой гипертензии (степень тяжести) с более выраженными осложнениями (стадия) — инфаркт миокарда, нарушения мозгового кровообращения. И если уровень артериального давления определяется наличием аллеля С, то развитие осложнений зависит от варианта присутствия аллеля — у гомозигот осложнения развиваются чаще, чем у гетерозигот.

Таким образом, в полтавской популяции выявлено характерное распределение аллелей А, С и соответствующих генотипов гена АТ1R, отличающееся от других европеоидных популяций. Характерные признаки заключаются в повышенной частоте аллеля А и генотипа СС. Среди пациентов, страдающих эссенциальной гипертензией, наблюдается еще большее увеличение частоты этих аллеля и генотипа. У таких пациентов тяжесть гипертензии зависит от присутствия аллеля С, а развитие осложнений — от варианта его присутствия (у гомозигот осложнения развиваются чаще).

Знание генетической роли сосудистого рецептора ангиотензина II в развитии артери-

альной гипертензии представляется нам весьма важным как для ранней профилактики, так и для прогнозирования течения заболевания. Сегодня в Украине широко внедряется группа гипотензивных препаратов — блокаторы АТ1R, действие которых не может не зависеть от полиморфизма этих рецепторов. Знание распространенности полиморфных вариантов этого рецептора в украинской популяции может существенно влиять на эффективность клинического применения данной группы препаратов.

SUMMARY. The distribution of polymorphism of the angiotensin II type I receptor in Ukrainian population was investigated. Healthy persons had genotypes AA (51 %), AC (34 %), CC (15 %) and alleles A (68 %), C (32 %). We suppose the prevalence of allele C and genotypes CC in health persons in Ukrainian population. The frequencies of genotypes and alleles in patients with essential hypertension were AA (22,85 %), AC (51,9 %), CC (25,3 %) and A (48,7 %), C (51,3 %). Thus the development of essential hypertension was associated with the presence of allele C and its homozygote variant. Moreover the severity and complications of hypertension depended on the presence of this allele and genotype. We concluded that Ukrainian population has specific distribution of polymorphism of the angiotensin II type I receptor with prevalence of allele C1166 and genotype CC. The presence of these genetic variants is a risk factor for essential hypertension.

РЕЗЮМЕ. Був досліджений розподіл поліморфізму рецептора ангіотензіна II 1-го типу в українській популяції. У здорових людей частота генотипів AA — 51 %, AC — 34 %, CC — 15 %; алелів А — 68 %, С — 32 %. Ми припускаємо переважну поширеність алеля С і генотипу СС у здорових людей в українській популяції. Частоти генотипів у пацієнтів з есенціальною гіпертензією: AA — 22,85 %, AC — 51,9 %, CC — 25,3 %; алелів: А — 48,7 %, С — 51,3 %. Таким чином, розвиток есенціальної гіпертензії пов'язаний з присутністю алеля С і його гомозиготного варіанта. Крім того, тяжкість та ускладнення гіпертонії залежали від присутності цього алеля і генотипу. Ми зробили висновок, що українське населення має специфічний розподіл поліморфізму рецептора ангіотензіна II 1-го типу з перевагою алеля С1166 і генотипу СС. Присутність цих генетичних варіантів є фактором ризику есенціальної гіпертензії.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Curnow K., Pascoe L., White P. Genetic analysis of the human type-1 angiotensin receptor // *Mol. Endocr.* — 1992. — 6. — P. 1113—1118.

2. Berge K., Bakken A., Bohn M. et al. A DNA polymorphism at the angiotensin II type 1 receptor (AT1R) locus and myocardial infarction // *Clin Genet.* — 1997. — 52. — P. 71–76.
3. Alvarez R., Reguero J., Batalla A. et al. Angiotensin-converting enzyme and angiotensin II receptor 1 polymorphisms: association with early coronary disease // *Cardiovasc. Res.* — 1998. — 40. — P. 375–379.
4. Tiret L., Bonnardeaux A., Poirier O. et al. Synergistic effects of angiotensin-converting enzyme and angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms on risk of myocardial infarction // *Lancet.* — 1994. — 344. — P. 910–913.
5. Чистяков Д.А., Кобалава Ж.Д., Терещенко С.Н., Моисеев С.В., Носиков В.В. Полиморфизм гена сосудистого рецептора ангиотензина II и сердечно-сосудистые заболевания // *Терапевт. арх.* — 2000. — № 4. — С. 27–30.
6. Kiuya M., Sugimoto K., Katsuya T. et al. A/C1166 gene polymorphism of the angiotensin II type 1 receptor (AT1) and ambulatory blood pressure: the Ohasama study // *Hypertens Res.* — 2003. — 26, № 2. — P. 141–145.
7. Jones A., Dhamrait S.S., Payne J.R. et al. Genetic variants of angiotensin II receptors and cardiovascular risk of hypertension // *Hypertension.* — 2003. — 42. — P. 500–505.
8. Dzida G., Sobstyl J., Puzniak A., Golon P., Mosiewicz J., Hanzlik J. Polymorphisms of angiotensin-converting enzyme and angiotensin II receptor type 1 genes in essential hypertension in a Polish population // *Med. Sci. Monit.* — 2001. — 7(6). — P. 1236–1241.
9. Safar M.E., Smulyan H. Hypertension in women // *Amer. J. Hypertens.* — 2004. — 17. — P. 82–87.

Поступила 28.01.05