

© Шликова О.А.

УДК 616.12-008.331.1:612.1

РОЛЬ ПОЛІМОРФІЗМУ Pvu II ГЕНУ ЛІПОПРОТЕІНЛІПАЗИ У ПАТОГЕНЕЗІ АРТЕРІАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ

Шликова О.А.

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Однонуклеотидные полиморфизмы неодинаково проявляют себя в различных популяционных группах, что свидетельствует о значительных их межпопуляционных и межэтнических различиях и отражает своеобразие условий проживания, питания и образа жизни населения в разных регионах мира. Поэтому актуальным является изучение распространения одонуклеотидных полиморфизмов в различных популяционных и этнических группах. Целью нашего исследования было изучение распространенности полиморфизма Pvu II гена липопротеинлипазы (ЛПЛ) в Черкасской популяции и его связь с развитием артериальной гипертензии (АГ). Для изучения полиморфизма гена ЛПЛ было исследовано 85 мужчин в возрасте 19-66 лет, которые были обследованы в I городской больнице г.Черкасы. По данным анамнеза, объективного и дополнительных методов обследования исследуемые были разделены на группы: контрольная группа - с нормальными показателями артериального давления <math><140/90</math> ($n = 47$) и основная группа ($n = 38$) - мужчины с наличием АГ. В исследуемых группах было проведено определение полиморфизма гена ЛПЛ методом ПЦР с последующим рестрикционным анализом с использованием рестриктазы Pvu II. Впервые изучены распределение полиморфизма ЛПЛ в группе популяционного контроля и у мужчин с наличием артериальной гипертензии в Черкасской популяции. Установлены частоты генотипов в группе популяционного контроля, составлявшие: СС - 29,79% СТ - 51,06%, ТТ - 19,15%, и аллелей С - 55,32%, Т - 44,68%. У мужчин с наличием артериальной гипертензии частоты генотипов и аллелей гена ЛПЛ значительно не отличались от группы популяционного контроля: СС - 34,21%, СТ - 47,37%, ТТ - 18,42%; С - 57,9%, Т - 44,1%. Не выявлено связи между полиморфизмом PvuII гена ЛПЛ и развитием артериальной гипертензии.

Ключевые слова: одонуклеотидный полиморфизм, липопротеинлипаза, артериальная гипертензия.

Проблема розповсюженості артеріальної гіпертензії залишається на одному з перших місць в Україні. В ході виконання Державної програми «Лікування та профілактика артеріальної гіпертензії в Україні» (1999-2010 рр.) покращилось виявлення та лікування АГ, але показники охоплення хворих лікуванням, його ефективність, а також рівень поширеності серцевих захворювань і смертності від них залишились ще далекими від бажаних [1]. Тому актуальним залишається питання пошуку нових підходів в дослідженні патогенезу АГ, з метою створення більш ефективних методів її профілактики та лікування.

Дослідження артеріальної гіпертензії просунулось завдяки вивченню її фізіологічної регуляції. Завдяки дослідженням у фізіології накопичена багата інформація про процеси, що керують кров'яним тиском та про те, як порушення регуляції цих процесів може вносити вклад у розвиток патофізіології артеріальної гіпертензії [2]. Однак, фундаментальні причини артеріальної гіпертензії в значній мірі досить не з'ясовані. Одним із провідних в даному напрямку є пошук "генів-кандидатів" продукти експресії яких можуть прямо або опосередковано брати участь у розвитку артеріальної гіпертензії. Цей напрямок сформувався завдяки реалізації світових геномних проєктів "Human genome diversity project" та "Environmental genom project"[3,4].

Відомо, що АГ носить полігенний характер. В число генів-кандидатів на участь в її розвитку входять гени обміну ліпідів [5]. Серед них найбільшу увагу привертає ген ліпопротеїнліпази (ЛПЛ). ЛПЛ-ключовий фермент в ліпопротеїновому метаболізмі. ЛПЛ каталізує гідроліз тригліцеридів (компонентів циркулюючих хіломікронів і ліпопротеїнів дуже низької щільності) на аніони жирних кислот і діацилглицерол [6]. Ген ЛПЛ локалізується на короткому плечі (р) хромосоми 8 в

позиції 22 (8p22). В останнє десятиріччя було описано декілька видів поліморфізмів гену ЛПЛ та визначені їх ефекти щодо рівня ліпідів плазми та ризику атеросклерозу. Одним з найбільш частіших поліморфізмів, що вивчається, є поліморфізм PvuII: позиція в референт послідовності 15891 заміна С—>Т intron 6. В ряді робіт були встановлені різні асоціації поліморфізму PvuII з серцево-судинними захворюваннями та його вплив на рівень ліпідів плазми [7]. В Україні даних щодо вивчення поліморфізму PvuII гену ЛПЛ не існує. Відомо, що одонуклеотидні поліморфізми (ОНП) неоднаково проявляють себе в різних популяційних групах, що свідчить про значні їх міжпопуляційні та міжетнічні відмінності та відображає своєрідність умов проживання, харчування та образу життя населення в різних регіонах світу. Тому актуальним є вивчення розповсюдження ОНП в різних популяційних та етнічних групах.

Метою нашого дослідження було вивчення поширеності поліморфізму Pvu II гену ЛПЛ у Черкаській популяції та його зв'язку з розвитком артеріальної гіпертензії.

Матеріали та методи дослідження

Для вивчення поліморфізму гену ЛПЛ було досліджено 85 чоловіків віком 19-66 років, що були обстежені в 1 міській лікарні м.Черкаси при епідеміологічному дослідженні в рамках Державної програми «Лікування та профілактика артеріальної гіпертензії в Україні» сумісно з ННЦ «Інститут кардіології ім. акад. М.Д. Стражеска» АМН України (за що дякуємо проф. Горбась І.М. та проф. Смірновій І.П.). Кожному досліджуваному була заповнена клінічна анкета та проведено визначення вмісту глюкози та холестерину (ХС) у сироватці крові загальноприйнятими методами, ви-

значення біометричного індексу (БМІ) та вимірювання АТ. За даними анамнезу, об'єктивного та додаткових методів обстеження досліджувані були розподілені на групи: контрольна група – з нормальними показниками артеріального тиску <140/90 (n=47) та основна група (n=38) – чоловіки з наявністю АГ. Основним критерієм для включення в основну групу були рівень АТ - $\geq 140/90$ або наявності в анамнезі діагнозу артеріальної гіпертензії [8].

У досліджуваних групах було проведено визначення поліморфізму гену ЛПЛ методом ПЛР із наступним рестрикційним аналізом із використанням рестриктази Pvu II [9]. Статистичну обробку даних проводили з використанням програми Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США). Частоти алелей і генотипів поліморфних локусів, відповідність розподілу частот генотипів рівновазі Харді-Вайнберга та показники G-статистики розраховували за допомогою програми PopStat (2001). Для перевірки статистичної значимості відмінностей частотних показників використовували критерій χ^2 Пірсона з поправкою Йейтса. Достовірними вважали відмінності при $p \leq 0,05$, при $0,05 < p \leq 0,1$ відзначали тенденцію до розбіжності.

Результати та їх обговорення

Середній вік чоловіків контрольної та основної групи складав відповідно $35,0 \pm 11,48$ і $51,0 \pm 8,75$ років.

Як показали наші дослідження, середній вміст загального холестерину в сироватці крові осіб основної групи був вірогідно вищим $6,91 \pm 2,04$, ніж у осіб контрольної групи $4,7 \pm 0,72$ ($p < 0,0001$) (табл. 1). Також вірогідно відрізнявся БМІ, який був вищим у обстежених основної групи ($p < 0,0001$). Знайдено суттєві відмінності середніх показників рівнів САТ і ДАТ, що підтверджувало один із основних критеріїв відбору осіб до основної групи ($p < 0,0001$).

Таблиця 1
Вміст показників ліпідного та вуглеводного обміну серед основної групи та контрольної групи, M(St.D)

Групи	Показники				
	Холестерин, ммоль/л	Глюкоза, ммоль/л	БМІ	САТ, мм рт.ст.	ДАТ, мм рт.ст.
Контрольна (n=47)	4,7 (0,72)	4,28 (0,89)	23,33 (2,43)	113,04 (9,19)	70,61 (8,14)
Основна (n=38)	6,91 (2,04)	5,55 (2,25)	28,78 (4,31)	160,79 (17,19)	95,26 (12,43)
p	<0,0001	<0,001	0,0001	<0,0001	<0,0001

p – порівняння між контрольною та основною групами.

Частота генотипів та алелей у групах, що досліджувались, показана в таблиці 2. У контрольній групі частоти алелей С і Т склали 55,32% та 44,68%, а

носіями алелей (співвідношення кількості осіб з даним алелем до загальної кількості осіб в групі) С і Т були 80,8% та 70,2% осіб, відповідно.

Таблиця 2
Розподіл частот генотипів і алелей ЛПЛ поліморфізму серед чоловіків основної та контрольної груп, % (n)

Генотип, алель	Контрольна група (n=47)	Основна група (n=38)
С/С	29,79 (14)	34,21 (13)
С/Т	51,06 (24)	47,37 (18)
Т/Т	19,15 (9)	18,42 (7)
С	55,32 (38/52/94)	57,9 (31/44/76)
Т	44,68 (33/42/94)	42,1 (25/32/76)
χ^2 Пірсона с поправкой Йейтса, df=1	0,0146	0,0042
Значение G статистики (G)	0,07116	0,01566
Число степеней свободы для G (V)	4,8833	3,7646
Критический уровень значения G для p=0,05 $\chi^2(v)$	10,90396	9,13312
Частота аллеля (p)	0,553	0,579
Частота аллеля (q)	0,447	0,421
Наблюдаемая гетерозиготность (Hobs)	0,5106	0,4737
Ожидаемая гетерозиготность (Hex)	0,4943	0,4875
Нормированное отклонение Hobs от Hex (коэффициент инбридинга популяции) (F)	-0,033	0,0284
Адекватный учет редких аллелей (показатель μ)	1,994	1,987
Частота редких аллелей (h)	0,003	0,006

Серед чоловіків основної групи частота алелю С складала 57,9%, частота алелю Т – 42,1%. Загалом, розподіл генотипів значно не відрізнявся від показників контрольної групи ($p > 0,05$). Носійство С алельного варіанту визначено в 81,5% осіб, а Т алельного варіанту – у 65,8%. Розподіл генотипів в обох досліджуваних групах відповідав теоретично очікуваному при рівновазі Харді-Вайнберга (згідно значенням χ^2 -Пірсона з поправкою Йейтса и G статистики). При аналізі частот алелей С та Т не відмічалось вірогідних змін між контрольною та основною групами ($\chi^2=0,04$, $p=0,84$).

При аналізі нормованого відхилення гетерозиготності, що спостерігається (Hobs) від очікуваної (Hex) - коефіцієнт інбридингу популяції (F) - в контрольній групі склав менше 0, що відобража наявність незначного підвищення гетерозигот. Адекватність врахування рідкісних алелей в обох групах достатня та відповідає нерівномірному розподілу алелей ($\mu < 2$).

Розрахунок відношення шансів носіїв генотипу ТТ та алелю Т гену ЛПЛ основної групи відносно контрольної групи не показали вірогідних асоціацій наявності поліморфного алелю Т з розвитком АГ (табл. 3).

Таблиця 3

Відношення шансів для асоціації АГ з носійством генотипу ТТ та алелю Т

Генотипи	Відношення шансів (ДІ)	р
ТТ до СС	0,84 (0,24-2,9)	0,97
ТТ + СТ до СС	0,82 (0,33-2,04)	0,84

– порівняння генотипу ТТ і алелю Т між основною та контрольною групами

Порівняння середніх показників холестерину, глюкози, БМІ та артеріального тиску серед носіїв генотипів та алелей ЛПЛЛ основної групи з контрольною групою, M(St.D)

Показники	Контрольна група(n=47) Генотипи		р ₁	Основна група (n=38) Генотипи		р ₂
	СС n=14	СТ + ТТ n=33		СС n=13	СТ + ТТ n=25	
Холестерин, ммоль/л	4,34 (0,64)	4,86 (0,70)	0,023	6,63 (2,08)	7,05 (2,05)	0,56
Глюкоза, ммоль/л	3,92 (0,72)	4,43 (0,91)	0,07	5,06 (1,82)	5,8 (2,44)	0,35
БМІ кг/м ²	23,5 (2,23)	23,27 (2,57)	0,77	26,75 (3,0)	29,83 (4,5)	0,034
САТ, мм.рт.ст	115,21 (7,60)	112,12 (9,75)	0,29	164,54 (17,6)	158,84 (17,0)	0,34
ДАТ, мм.рт.ст.	70,07 (7,22)	70,56 (8,60)	0,76	96,08 (10,02)	94,84 (13,68)	0,77

Примітка: р₁ – порівняння між носіями генотипу СС та СТ+ТТ контрольної групи:

р₂ – порівняння між носіями генотипу СС та СТ+ТТ основної групи.

Виявлено, що рівень холестерину вірогідно вищий серед носіїв генотипів СТ та ТТ контрольної групи, ніж серед носіїв окремо тільки алелю С 4,34±0,64 та 4,86±0,70 (р=0,023).

Аналіз отриманих результатів показує, що в основній групі одночасно з підвищенням показників артеріального тиску спостерігається високий рівень холестерину в сироватці крові (>6,2 ммоль/л), що характеризує наявність помірної гіперхолестеринемії (6,2-7,5 ммоль/л). Також підвищувався біометричний індекс маси тіла та середній вік чоловіків був більшим 45 років. Отримані дані свідчать про те, що чоловіки даної групи можуть бути віднесені до категорії ризику розвитку ішемічної хвороби серця [10]. Контрольну групу складали чоловіки з нормальними рівнями холестерину та глюкози в сироватки крові, без надлишкової ваги за показником БМІ та рівнем артеріального тиску нижчим показника 140/90 мм рт.ст., тому дану групу можна вважати групою популяційного контролю для визначення поліморфізму ЛПЛЛ. При дослідженні зв'язку між показниками АТ, вмістом холестерину та глюкози та наявністю алелю Т в групі чоловіків з артеріальною гіпертензією не встановлено вірогідних змін. Але нами було виявлено вірогідне підвищення показників БМІ серед чоловіків основної групи носіїв алелю Т (генотипи СТ та ТТ) в порівнянні з носіями генотипу СС. Як відомо, підвищення БМІ>25 кг/м² свідчить про наявність надлишкової ваги, а БМІ>30 кг/м² є одним з критеріїв абдомінального типу ожиріння, що є однією із складових метаболічного синдрому – інсулінорезистентності [11]. Наявність даного зв'язку може свідчити про схильність осіб з даним генотипом до розвитку МС, складовими частинами якого є артеріальна гіпертензія та ішемічна хвороба серця [12]. Це підтверджує відомий факт, що LPL - фізіологічний кандидат для можливої інсулінорезистентності. Дійсно, накопичена велика кількість даних з епідеміологічних,

Як показали наші дослідження, серед носіїв генотипів СТ та ТТ в основній групі вірогідно вищими були показники БМІ у порівнянні з носіями генотипу СС р=0,034 (табл. 4). Показники рівня ХС та глюкози у сироватці крові вірогідно не змінювались. Рівні САД та ДАД у носіїв алелю Т не відрізнялись від носіїв алелю С в гомозиготному варіанті.

Таблиця 4

Порівняння середніх показників холестерину, глюкози, БМІ та артеріального тиску серед носіїв генотипів та алелей ЛПЛЛ основної групи з контрольною групою, M(St.D)

експериментальних досліджень та досліджень трансгенних тварин в підтвердження ролі ЛПЛЛ і її гену в патогенезі інсулінорезистентності. Цей факт був першочергово встановлений для центральної ролі ЛПЛЛ в метаболізмі ліпопротеїнів і жирних кислот. В подальшому, на прикладі трансгенетичної тваринної моделі показано, що надмірна експресія ЛПЛЛ викликає інсулінорезистентність у кролів, що знаходились на дієті з високим вмістом жирів [13,14].

Таким чином, нами не встановлено зв'язку між поліморфізмом RvuII гену ЛПЛЛ та розвитком артеріальної гіпертензії. Але отримані дані свідчать про доцільність подальшого дослідження даного поліморфізму в групі осіб з чітко встановленими ознаками метаболічного синдрому.

Вперше вивчено розподіл поліморфізму ЛПЛЛ у групі популяційного контролю та чоловіків із наявністю артеріальної гіпертензії у Черкаській популяції. Встановлені частоти генотипів в групі популяційного контролю, що складали СС – 29,79% СТ – 51,06%, ТТ – 19,15%, та алелей С – 55,32%, Т – 44,68 %. У чоловіків із наявністю артеріальної гіпертензії частоти генотипів та алелей гену ЛПЛЛ значно не відрізнялись від групи популяційного контролю: СС – 34,21 %, СТ – 47,37 %, ТТ – 18,42 %; С – 57,9 %, Т – 44,1 %.

Література

1. Свіщенко Є.П. Виявлення та лікування артеріальної гіпертензії в Україні: реальність та перспективи//Укр. кардіол. Журнал.-Додаток1.-2010.-С.
2. Risch N, Merikangas K. The future of genetic studies of complex human diseases / N. Risch, K. Merikangas //Science.-1996.-N.273.-P. 1516-1517.
3. Harding R.M. Human Genome Diversity Project / R.M Harding, A. Sajantila //Nature Genet. -1998. - V.18. - P. 307-308.
4. Brown P.O. Environmental Genome Project / P.O. Brown, L.L. Hartwell // Nature Genet.-1998.-V.18.-P.91-93.

5. S Cheng, Michael A. Grow, C. Pallaud et al. A multilocus genotyping assay for candidate markers of cardiovascular disease risk//Genome Res.-1999.-N.9.-P.936-949
6. Бидерман Б.В. Экспрессия липопротеинлипазы – эффективный показатель прогноза в-клеточного хронического лимфолейкоза/ Б.В. Бидерман и др //Гематол. И трансфузиол.-2008.-Т.53,№5.-С.67-71
7. G.S. Sago, I. Tatt, G. Salanti et al. Seven Lipoprotein Lipase polymorphisms, lipid fractions, and coronary disease: a HuGE association review and meta-analysis//Am. J. Epidemiol.-October 15, 2008.-kwn235v1
8. Рекомендації Української асоціації кардіологів з профілактики та лікування артеріальної гіпертензії/ Під ред.. С.П. Свіщенко.-К.,2004.-86 с.
9. Lalovic A, Sequeira R, DeGuzman et. Al. Investigation of completed suicide and genes involved in cholesterol metabolism/ A.. Lalovic, R. Sequeira / //Journal of Affective disorders.-2004.-N.79.-P.25-32.
10. Grundy S. M. Definition of Metabolic Syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association Conference on Scientific Issues Related to Definition / S. M. Grundy, H.B. Brewer, J.I. Cleeman et al. //Circulation.-2004.-N.109.-P.433-438.
11. Alberti K.G., Zimmet P., Shaww J. The metabolic syndrome- a new worldwide definition / K.G. Alberti, P. Zimmet, J. Shaww. //Lancet.-2005.-Vol.366.-P.1059-1062.
12. Abbasi F. Relationship between obesity, insulin resistance, and coronary heart disease risk/ F. Abbasi, B.W. Brown, C. Lamendola et all // J. Am Coll Cardiol.-2002.-N.40.-P.937-943.
13. Kitajima S. Overexpression of lipoprotein lipase improves insulin resistance induced by a high-fat diet in transgenic rabbits / S.Kitajima, M.Morimoto, E. Liu at. all.//Diabetologia.-2004.- N 47.-P.1202-1209.
14. Jeppesen J. Relationship between common lipoprotein lipase gene sequence variants, hyperinsulinemia, and risk of ischemic heart disease: a population-based study/ J. Jeppesen, T.W. Hansen, C. Torp-Pedersen et. all //Atherosclerosis.-2010.-Vol.211(2).-P.506-511.

Summary

ROLE OF LIPOPROTEIN LIPASE GENE PVU II POLYMORPHISM IN ARTERIAL HYPERTENSION PATHOGENESIS Shlykova O.A.

Key words: Single nucleotide polymorphisms, lipoprotein lipase, arterial hypertension.

Single nucleotide polymorphisms manifest themselves variously in different population groups and this fact indicates at their significant interpopulation and interethnic distinctions and displays singularity of living conditions, nutrition and lifestyle of the population in different regions of the world. Therefore it is relevant to examine the single-nucleotide polymorphisms distribution in different populations and ethnic groups. The aim of the research was to analyze the distribution of lipoprotein lipase (LPL) gene Pvu II polymorphism in Cherkasy population and its relationship to development of arterial hypertension (AH). In order to study the LPL gene polymorphism 85 men aged from 19 to 66 were examined in 1st city hospital of Cherkasy. According to medical history, objective and additional examination methods, patients were divided into the following groups: control group – men with normal blood pressure parameters <140/90 (n = 47) and main group (n = 38) – men with AH. In the examined groups LPL gene polymorphism was detected by PCR method with subsequent restriction analysis using restriction enzyme Pvu II. LPL polymorphism distribution in population control group of men with hypertension in Cherkasy population was examined for the first time. The following genotype frequencies in the population control group were defined: CC – CT 29.79% – 51.06%, TT – 19.15%, and allele C – 55.32%, T – 44.68%. Genotypes and allele of LPL gene frequencies in men with hypertension did not differ significantly from population control group: CC – 34.21% CT – 47.37%, TT – 18.42%, C – 57,9%, T – 44,1%. Thus, no connection between LPL gene Pvu II polymorphism and hypertension development was detected.

Ministry of Public Health of Ukraine

Higher State Educational Establishment of Ukraine “Ukrainian Medical Stomatological Academy”, Poltava

Матеріал надійшов до редакції 14.03.2011 р.