

В. Н. Сорокина¹, Е. А. Павлющик², Т. А. Чак¹,
А. В. Хапалюк¹, В. Ю. Афонин²

АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМА М235Т ГЕНА АГТ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ У МУЖЧИН

УО «Белорусский государственный медицинский университет»¹,
Институт биоорганической химии НАН Беларуси²

Обследовано сто пятьдесят восемь пациентов мужского пола с артериальной гипертензией и шестьдесят два здоровых человека мужского пола. Методом ПЦР и ПДРФ-анализа определялись генотипы М235Т гена АГТ.

Обнаружена ассоциация более высокого риска развития АГ с гетерозиготным генотипом МТ гена АГТ, OR 1.95 (95% CI:1.08 – 3.54). Носительство гетерозиготного генотипа гена АГТ влечет формирование тяжелой, плохо корригируемой артериальной гипертензия с частыми гипертоническими кризами и поражением органов мишеней.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, полиморфизм М/Т гена АГТ, гипертонический криз, гипертензивная ангиопатия сетчатки.

V. N. Sarokina, E. A. Pavluyushchik, T. A. Chak, A. V. Khapaliuk, V. Yu. Afonin

ASSOCIATIONS OF POLYMORPHISM M235T OF THE GENE AGT WITH ARTERIAL HYPERTENSION AT MEN

There were examined 158 male patients with arterial hypertension and 62 healthy males. The M235T genotypes of AGT gene were determined by the method of PCR and RFLP.

It was found the association of a high risk of hypertension and heterozygous genotype MT of the AGT gene, OR 1.95 (95% CI:1.08 – 3.54).

Heterozygous genotype carrier status of the AGT gene entails the high probability of refractory and sever arterial hypertension, frequent hypertensive crises and damage of target organs.

Key words: arterial hypertension, M/T AGT polymorphism, hypertensive crise, hypertensive retinal angiopathy.

Активное внедрение молекулярно-генетических методов исследования в медицину в последние годы помогает объективно установить вес наследственных и средовых факторов в развитии болезней. Артериальная гипертензия (АГ) в силу социальной значимости, распространенности и множества путей патогенеза оказалась одним из главных объектов изучения [1]. Однако в результате поиска генетических детерминант АГ разные научные группы приходят к противоречивым результатам [2, 3]. Это указывает на актуальность продолжения исследований по данной тематике с целью сопоставления фактов и выработки итогового мнения.

Целью проводимой нами работы является установление роли наследственных факторов в патогенезе артериальной гипертензии. Для достижения поставленной цели последовательно решались следующие **задачи**: 1) осуществлен научно обоснованный выбор гена, который предположительно влияет на развитие АГ у индивидуума; 2) изучена ассоциация потенциального генетического фактора с развитием АГ и ее возможных осложнений (гипертонические кризы и ангиопатия сетчатки).

Материалы и методы. Первая задача решалась методом анализа литературы: сопоставления теоретических данных с фактическими результатами предшествовавших молекулярно-генетических исследований. Вторую задачу решали методом когортного исследования. Объектом данной части исследования являлось распределение генотипов и аллелей полиморфных маркеров гена AGT. В качестве субъектов выступили 220 мужчин, проходивших обследование или лечение в Республиканском госпитале МВД РБ в течение 2013–2014 гг. Из них 158 пациентов страдали АГ и 62, составившие контрольную группу, без сердечно-сосудистых заболеваний. Генетические исследования проводились в лаборатории фармакогенетики Института биоорганической химии НАНБ. Выявление полиморфных маркеров гена проводили методом ПДРФ-анализа, основанном на определении аминокислотных последовательностей в исследуемом ДНК-фрагменте в крови пациента методом ПЦР и анализа полиморфизма длины рестрикционных фрагментов.

Выбор потенциального генетического маркера развития АГ основывался на анализе патогенеза заболевания. Многофакторная природа АГ ассоциируется с генетическим полиморфизмом адренергической,

ренин-ангиотензин-альдостероновой, гомоцистеиновой, брадикининовой и эндотелиальной систем [4, 5]. Данные системы посредством сложной цепи физиологических и молекулярно-биохимических реакций участвуют в регуляции артериального давления. Клетки юкстагломерулярного аппарата почки выделяют в кровь фермент ренин. Ренин, воздействуя на сывороточный глобулин ангиотензиноген (AGT), превращает его в ангиотензин I. Последний служит субстратом для ангиотензинпревращающего фермента, конвертирующего ангиотензин I в ангиотензин II [6, 7]. Поскольку изначальным субстратом указанной цепочки химических реакций является AGT, то логично предположить роль гена AGT в патогенезе АГ. Ген AGT локализован на длинном плече 1-й хромосомы (1q42-q43) и экспрессируется в гепатоцитах. Различные генетические варианты ангиотензиногена обуславливают различную физиологическую активность ангиотензина II. Полиморфизм гена AGT насчитывает более тридцати вариантов гена, из которых наиболее изученными являются M235T и T174M [9]. В большинстве исследований показана ассоциация генотипа TT с АГ [8, 10], однако результаты исследований неоднозначны. Учитывая противоречивый характер научных результатов в других популяциях мы остановили свой выбор на данном гене.

Результаты и обсуждение. По полученным данным, генотипы изучаемого гена в группе с АГ были распределены следующим образом: MM генотип – 33 пациента (20,9%), MT генотип – 95 пациентов (60,1%), TT генотип – 30 пациента (19,0%); M – аллель выявлен в 50,9%, T – аллель – 49,1%. У здоровых лиц соотношение генотипов MM:MT:TT составило 17(27,4%):27(43,5%):18 (29,0%), ($\chi^2 = 5,10$; $p < 0,05$); M – аллель выявлена в 49,2%, T – аллель – 50,8% ($\chi^2 = 0,11$; $p = 0,74$). Описанное выше распределение генотипов отражено на рисунке 1.

При сравнении групп были обнаружены статистически достоверные различия в распределении генотипов. В группе пациентов, страдающих АГ, гетерозиготный генотип MT превалировал над гомозиготными вариантами MM и TT. У пациентов контрольной группы подобной закономерности не наблюдалось. Соотношение MT генотипа в сравниваемых группах следующее: 95(60,1%):27(43,5%) ($\chi^2 = 5,10$; $p < 0,05$).

Распределение частот генотипов гена AGT в обеих группах проанализировано относительно соответст-

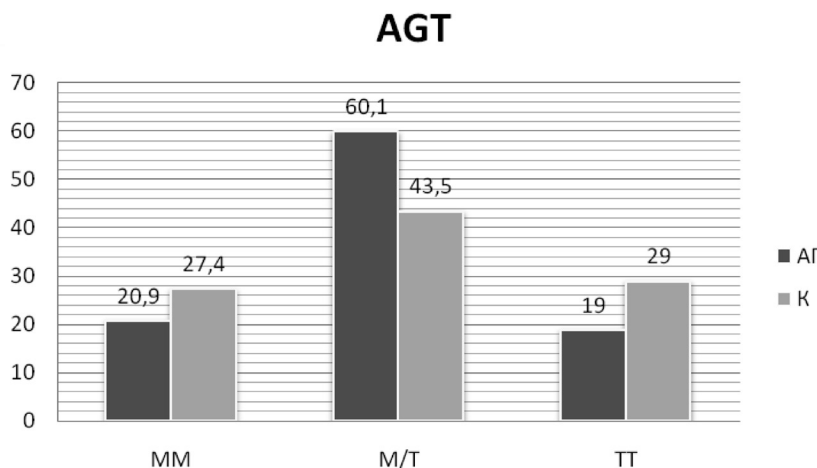


Рис. 1. Полиморфизм M235T гена AGT

вия распределению Харди-Вайнберга, что показано в таблицах 1 и 2. В процессе расчета относительного риска (OR) с использованием общей и мультипликативной генетических моделей определен риск развития АГ с участием изученных полиморфных маркеров гена ангиотензиногена. В данном случае истинный генетический эффект не объясняется мультипликативной моделью. Распределение частот генотипов в выборке «случаев» не соответствует равновесию Харди-Вайнберга (таблица 3). Построенная общая модель наследования продемонстрировала преобладание носительства генотипа МТ пациентами с АГ (таблица 4).

Таблица 1. Тест Харди-Вайнберга для контролей (тест хи-квадрат, df = 1)

| Генотипы | Контроли n = 62 | HWE | χ^2 | p |
|------------|--------------------|-------|----------|---|
| Генотип MM | 0,274 | 0,242 | | |
| Генотип MT | 0,435 | 0,500 | | |
| Генотип TT | 0,290 | 0,258 | | |

Таблица 2. Тест Харди-Вайнберга для случаев (тест хи-квадрат, df = 1)

| Генотипы | Случаи n = 158 | HWE | χ^2 | p |
|------------|-------------------|-------|----------|---|
| Генотип MM | 0,209 | 0,260 | | |
| Генотип MT | 0,601 | 0,500 | | |
| Генотип TT | 0,190 | 0,241 | | |

Таблица 3. Мультипликативная модель наследования гена AGT (тест хи-квадрат, df = 1)

| Аллели | Случаи n = 158 | Контроли n = 62 | χ^2 | p | OR | |
|----------|-------------------|--------------------|----------|------|-------|-----------|
| | | | | | знач. | 95% CI |
| Аллель M | 0,509 | 0,492 | 0,11 | 0,74 | 1,07 | 0,71-1,63 |
| Аллель T | 0,491 | 0,508 | | | 0,93 | 0,62-1,41 |

Таблица 4. Общая модель наследования гена AGT (тест хи-квадрат, df = 2)

| Генотипы | Случаи n = 158 | Контроли n = 62 | χ^2 | p | OR | |
|------------|-------------------|--------------------|----------|------|-------|-----------|
| | | | | | знач. | 95% CI |
| Генотип MM | 0,209 | 0,274 | 5,10 | 0,05 | 0,70 | 0,36-1,38 |
| Генотип MT | 0,601 | 0,435 | | | 1,95 | 1,08-3,54 |
| Генотип TT | 0,190 | 0,290 | | | 0,57 | 0,29-1,13 |

Полученные данные свидетельствуют об ассоциации более высокого риска развития АГ с носительством гетерозиготного генотипа МТ гена AGT, OR 1.95 (95% CI:1,08-3,54).

Нами была также изучена ассоциативная связь полиморфизма M235T гена AGT с возможными осложнениями АГ, такими как гипертензивная ангиопатия сетчатки и гипертонические кризы.

Гипертензивная ангиопатия сетчатки встречалась у 60,0% пациентов с АГ, частые гипертонические кризы осложняли течение заболевания также в 60,0% случаев.

Получены статистически достоверные данные о том, что гипертензивная ангиопатия сетчатки чаще встречается в сочетании с генотипом МТ ($\chi^2_{2-3} = 8,40$; p = 0,0037). Риск ангиопатии сетчатки (преимущественно гипертензивной) при наличии генотипа МТ гена AGT возрастает в 2,10 раза (OR-2,10;95% CI:1,52-2,92).

Установлено, что и гипертонические кризы чаще встречаются в сочетании с генотипом МТ гена AGT ($\chi^2_{2-3} = 7,87$; p = 0,005). Риск неблагоприятного течения АГ с частыми гипертоническими кризами при наличии у пациента гетерозиготного генотипа МТ гена AGT возрастает в 2,13 раза (OR-2,22; 95% CI:1,53-2,98).

Выводы

1. Результаты исследования выборки мужчин, проживающих в Республике Беларусь, показали, что риск развития АГ ассоциируется с носительством генотипа МТ гена AGT.

2. Носительство генотипа МТ гена AGT ассоциируется с развитием АГ с частыми гипертоническими кризами и ангиопатией сетчатки.

Литература

1. Караулова, Ю. Л. Гипертрофия левого желудочка при артериальной гипертонии и гипертрофической кардиомиопатии: детерминанты эволюции, оптимизации методов диагностики и лечения, динамика на фоне длительной медикаментозной терапии: автореф. дис. канд. мед. наук: 14.00.06, 14.00.25 / Ю. Л. Караулова; ГОУ ВПО Рос. ун-т дружбы народов. – М., 2009. – 39 с.

2. *Tissue-specific regulation of angiotensinogen gene expression in spontaneously hypertensive rats* / Tamura K [et al.] // *Hypertension*. – 1996. – Vol. 27(6). – P. 1216–1223.

3. *Molecular basis of salt sensitivity in human hypertension. Evaluation of renin-angiotensin-aldosterone system gene polymorphisms* / E. Poch [et al.] // *Hypertension*. – 2001. – Vol. 38(5). – P. 1204–1209.

4. *Searching for a better assessment of the individual coronary risk profile: the role of angiotensin-converting enzyme, angiotensin II type 1 receptor and angiotensinogen gene polymorphisms* / C Fatini [et al.] // *Eur Heart J*. – 2000. – Vol. 21. – P. 633–638.

5. *Молекулярно-генетические маркеры в патогенезе и лечении эссенциальной артериальной гипертензии* / А. А. Свистунов [и др.] // *Биомедицина*. – 2010. – № 3. – С. 125–127.

6. *Роль полиморфизмов некоторых генов в реализации артериальной гипертензии* / Н. С. Пахомя [и др.] // *Земский врач*. – № 3–4(24). – 2014. – С. 21–24.

7. *Molecular mechanisms of human hypertension* / R. P. Lifton [et al.] // *Cell*. – 2001. – Vol. 104, № 4. – P. 545–556.

8. *Шевченко, О. В.* Генетические основы патогенеза эссенциальной артериальной гипертензии / О. В. Шевченко // *Саратовский научно-медицинский журнал*. – Том 7, № 1. – 2011. – С. 83–87.

9. *A microarray minisequencing system for pharmacogenetic profiling of antihypertensive drug response* / U. Liljedahl [et al.] // *Pharmacogenetics*. – 2003. – Vol. 13, № 1. – P. 7–17.

10. *Angiotensinogen 235tallele «dosage» is associated with blood pressure phenotypes* / A. C. Pereira [et al.] // *Hypertension*. – 2003. – Vol. 41, № 1. – P. 25–30.