

# ПАТОГЕНЕЗ КЛЕТОЧНОГО СТАРЕНИЯ: ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ И АКТИВНОСТЬ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИН-АЛЬДОСТЕРОНОВОЙ СИСТЕМЫ

О.С. Павлова<sup>1</sup>, И.Ю. Коробко<sup>1</sup>, М.М. Ливенцева<sup>1</sup>, О.А. Барбук<sup>1</sup>, И.И. Русских<sup>1</sup>, М.Г. Колядко<sup>1</sup>, А.М. Гарькавая<sup>2</sup>, С.Э. Огурцова<sup>2</sup>

Республиканский научно-практический центр «Кардиология»<sup>1</sup>,  
Институт биоорганической химии Национальной Академии наук Беларуси, г. Минск, Беларусь<sup>2</sup>

УДК 612.67:576:616-092

**Ключевые слова:** длина теломер лейкоцитов, ренин-ангиотензин-альдостероновая система, ангиотензин II, генетический полиморфизм, ген ангиотензиногена, ген ренина.

**для ЦИТИРОВАНИЯ.** О.С. Павлова, И.Ю. Коробко, М.М. Ливенцева, О.А. Барбук, И.И. Русских, М.Г. Колядко, А.М. Гарькавая, С.Э. Огурцова. Патогенез клеточного старения: полиморфизм генов и активность ренин-ангиотензин-альдостероновой системы. *Неотложная кардиология и кардиоваскулярные риски*, 2020, Т. 4, № 1, С. 898–903.

**Цель исследования** заключалась в определении взаимосвязи генетического полиморфизма и компонентов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) с относительной длиной теломер (ДЛТ) лейкоцитов у лиц с нормальным или оптимальным артериальным давлением (АД).

**Материалы и методы.** Клинико-молекулярное обследование проведено у 48 человек без сердечно-сосудистых заболеваний, средний возраст составил  $48,5 \pm 10,2$  лет. Для определения относительной ДЛТ лейкоцитов использовался метод мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР). Генотипирование осуществлялось методом ПЦР с анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов генов РААС – M235T гена ангиотензиногена (AGT), I/D гена ангиотензин-превращающего фермента (ACE), A1166C гена рецепторов 1-го типа к ангиотензину II (AGTR1), C(-344)T гена альдостеронсинтазы (CYP11B2), G83A гена ренина (REN). Для определения

уровня альдостерона, ренина и ангиотензина II в крови использовался иммуноферментный анализ.

**Результаты.** В обследуемой группе получена отрицательная корреляционная взаимосвязь относительной ДЛТ с содержанием в крови ангиотензина II ( $r = 0,495$ ;  $p = 0,01$ ) в отличие от альдостерона ( $r = 0,046$ ;  $p = 0,76$ ) и ренина ( $r = 0,062$ ;  $p = 0,68$ ). При носительстве мутантных T аллеля AGT (M235T) и A аллеля REN (G83A) взаимосвязь относительной ДЛТ лейкоцитов с уровнем ангиотензина II увеличивалась ( $r = -0,65$ ;  $p = 0,01$  и  $r = 0,59$ ;  $p = 0,02$ , соответственно).

**Выводы.** У лиц с нормальным или оптимальным АД выявлена отрицательная взаимосвязь ангиотензина II в крови с относительной ДЛТ лейкоцитов. Полиморфизм M235T гена AGT и G83A гена REN может оказывать более значимое влияние на относительную ДЛТ лейкоцитов посредством повышения уровня ангиотензина II.

## THE PATHOGENESIS OF CELL AGING: GENE POLYMORPHISM AND RENIN-ANGIOTENSIN-ALDOSTERONE SYSTEM ACTIVITY

O.S. Pavlova<sup>1</sup>, I.Yu. Korobko<sup>1</sup>, M.M. Liventseva<sup>1</sup>, O.A. Barbuk<sup>1</sup>, I.I. Russkikh<sup>1</sup>, M.G. Kaliadka<sup>1</sup>, A.M. Gorkavaya<sup>2</sup>, S.E. Ogurtsova<sup>2</sup>

Republican Scientific and Practical Center of Cardiology<sup>1</sup>  
Institute of Bioorganic Chemistry, Minsk, Belarus<sup>2</sup>

**Key words:** leukocyte telomere length, renin-angiotensin-aldosterone system, angiotensin II, genetic polymorphism, angiotensinogen gene, renin gene.

**FOR REFERENCES.** O.S. Pavlova, I.Yu. Korobko, M.M. Liventseva, O.A. Barbuk, I.I. Russkikh, M.G. Kaliadka, A.M. Gorkavaya, S.E. Ogurtsova. The pathogenesis of cell aging: gene polymorphism and renin-angiotensin-aldosterone system activity. *Neotlozhnaya kardiologiya i kardiovaskulyarnye riski* [Emergency cardiology and cardiovascular risks], 2020, vol. 4, no. 1, pp. 898–903.

**The aim of the study** was to determine the correlation of genetic polymorphism and renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) components with the relative leukocyte telomere length (TL) in individuals with normal or optimal blood pressure.

**Materials and methods.** Clinical and molecular examinations were performed on 48 people without cardiovascular diseases, whose mean age

was  $48.5 \pm 10.2$  years. The method of multiplex PCR was used to determine the relative leukocyte TL. Genotyping was performed by polymerase chain reaction with the analysis of length polymorphism of gene restriction fragments of RAAS – M235T of angiotensinogen (AGT), I/D of angiotensin-converting enzyme gene (ACE), A1166C of angiotensin II Type-1 Receptor (AGTR1) gene, C(-344) T of the aldosterone synthase gene (CYP11B2), G83A of the renin gene (REN). The

enzyme immunoassay method was used to determine the level of aldosterone, renin and angiotensin II in the blood.

**Results.** In the study group a negative correlation was obtained between the relative leukocyte TL and blood angiotensin II ( $r = 0.495$ ;  $p = 0.01$ ) in contrast to aldosterone ( $r = 0.046$ ;  $p = 0.76$ ) and renin ( $r = 0.062$ ;  $p = 0.68$ ). In association with the carriage of the mutant T allele of AGT (M235T) and A allele of REN (G83A) the correlation of the relative leukocyte DLT with the

level of angiotensin II was increased ( $r = 0.65$ ;  $p = 0.01$  and  $r = 0.59$ ;  $p = 0.02$ , respectively).

**Conclusions.** In individuals with normal or optimal blood pressure a negative correlation between angiotensin II in the blood and the relative leukocyte TL was revealed. The polymorphism of M235T of the AGT gene and G83A of the REN gene may have a more significant effect on the relative leukocyte TL due to an increased level of angiotensin II.

Возрастающий интерес к патогенезу возраст-зависимых сердечно-сосудистых заболеваний (артериальной гипертензии (АГ), атеросклерозу, ишемической болезни сердца (ИБС) и сердечной недостаточности) привел к поиску потенциальных биологических маркеров старения. На сегодняшний день доказано, что одним из ключевых механизмов клеточного старения является укорочение длины теломер. Теломеры представляют собой ДНК-белковые структуры на концах линейных отделов хромосом, которые предотвращают потерю генетической информации во время репликации ДНК в клетках. Длина теломер отражает биологический статус предыдущих делений и может быть индикатором пролиферативного потенциала клеток. Основным механизмом поддержания длины теломер служит достраивание теломеразных повторов ДНК ферментом теломеразой. Существуют значительная вариабельность длины теломер у индивидуумов, но теломеры неизменно укорачиваются с возрастом и делением клеток [1].

Об ассоциации длины теломер с сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ) сообщалось в различных проведенных клинических исследованиях [2-5]. Более высокий относительный риск развития АГ, ИБС, а также цереброваскулярных заболеваний наблюдался у пациентов с короткой длиной теломер лейкоцитов.

Основными пусковыми механизмами патологических процессов, связанных с изменением функционирования теломер, являются окислительный стресс и хроническое воспаление. Активация ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) способствует повышению образования свободных радикалов, провоспалительных факторов, снижению антиоксидантной защиты, индукции апоптоза, атерогенеза и фиброза [6]. Взаимосвязь между компонентами РААС и длиной теломер лейкоцитов впервые была подтверждена в популяционном Фрамингемском исследовании – повышенный уровень ренина плазмы крови был связан с меньшей длиной теломер [7]. В исследовании Venetos A. и соавт. была показана обратная зависимость между содержанием альдостерона и длиной теломер лейкоцитов у мужчин с нормальным артериальным давлением (АД) и с АГ [8]. Межиндивидуальные различия по влиянию РААС на изменение и темпы укорочения длины теломер по мнению Nilsson P. можно объяснить особенностями полиморфизма генов, ко-

дирующих основные ее компоненты [9]. В клинико-генетическом исследовании Fyhrquist F. и соавт. были получены данные, что длина теломер связана с I/D полиморфизмом гена ангиотензинпревращающего фермента у пациентов с АГ, и при носительстве DD генотипа увеличивалась взаимосвязь длины теломер с повышением сердечно-сосудистого риска [10]. В настоящее время происходит накопление данных о роли генетически детерминированной активности РААС в изменении длины теломер и исследования, посвященные изучению данного вопроса, немногочисленны.

**Целью настоящего исследования** являлось определение взаимосвязи генетического полиморфизма и компонентов РААС с относительной длиной теломер лейкоцитов у лиц с нормальным или оптимальным АД.

## Материал и методы

Клинико-генетическое обследование было проведено у 48 человек с нормальным или оптимальным уровнем АД ( $<129/84$  мм рт.ст.). Исследование проводилось после одобрения Комитета по этике Республиканского научно-практического центра «Кардиология» и получения добровольного информированного согласия участников. По результатам обследования и с учетом данных выписки медицинских карт амбулаторных больных была сформирована исследуемая группа. Критериями исключения являлись АГ, сахарный диабет, ожирение III степени, хроническая и острые формы ИБС, острая ревматическая лихорадка и хроническая ревматическая болезнь сердца, острые респираторные вирусные инфекции и острые воспалительные заболевания, диффузные болезни соединительной ткани, хроническая обструктивная болезнь легких, тиреотоксический узловой зоб.

Проводился клинический осмотр с измерением офисного АД, выполнялись электрокардиография и биохимическое исследование крови на содержание глюкозы, креатинина, общего холестерина (ОХС), липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), триглицеридов (ТГ). Офисное АД измерялось одновременно на обеих руках трехкратно в автоматическом режиме с интервалами в 1 минуту с использованием стандартных размеров манжет, соответствующих окружности плеча (тонометр WatchBP Office, Швейцария). Определение содержания альдостерона, ренина и ангиотензина II в сыворотке крови

Таблица 1. Номенклатура исследуемых локусов, последовательность праймеров и размеры амплифицируемых фрагментов

Ген	SNP	Последовательности праймеров, рестриктаза	Аллели, длина фрагментов, (п.н)
ACE	rs4646994 Alu I/D	F: CCCTGCAGGTGTCTGCAGCATGT	I 597
		R: GGATGGCTCTCCCCGCTTGTCTC	D 319
AGT	rs699 Met235Thr	F:GATGCGCACAAAGGTCCTG	M 303
		R:CAGGGTGTCTCCACACTGGCTCGC <i>SfaNI</i>	T 266
REN	rs2368564 G83A	F: TGAGGTTTCGAGTCGGCCCCCT	G 250
		R: TGCCCAAACATGGCCACACAT-3' <i>Mbol</i>	A 171+79
CYP11B2	rs1799998 C-344T	F:GAGGAGGAGACCCCATGTGAC	C 203+138+126+71
		R:CCTCCACCCTGTTACAGCCC <i>HaeIII</i>	T 274+138+126
AGTR1	rs5186 1166A/C	F:GAGGTTGAGTGACATGTTTCAAAC	A 253
		R:CGTCATCTGTCTAATGCAAAATGT <i>Ddel</i>	C 155+98

Table 1. Nomenclature of studied loci, primer sequences and sizes of amplified fragments

Gene	SNP	Primer Sequences, Restrictase	Alleles, Fragment Length, (bp)
ACE	rs4646994 Alu I/D	F: CCCTGCAGGTGTCTGCAGCATGT	I 597
		R: GGATGGCTCTCCCCGCTTGTCTC	D 319
AGT	rs699 Met235Thr	F:GATGCGCACAAAGGTCCTG	M 303
		R:CAGGGTGTCTCCACACTGGCTCGC <i>SfaNI</i>	T 266
REN	rs2368564 G83A	F: TGAGGTTTCGAGTCGGCCCCCT	G 250
		R: TGCCCAAACATGGCCACACAT-3' <i>Mbol</i>	A 171+79
CYP11B2	rs1799998 C-344T	F:GAGGAGGAGACCCCATGTGAC	C 203+138+126+71
		R:CCTCCACCCTGTTACAGCCC <i>HaeIII</i>	T 274+138+126
AGTR1	rs5186 1166A/C	F:GAGGTTGAGTGACATGTTTCAAAC	A 253
		R:CGTCATCTGTCTAATGCAAAATGT <i>Ddel</i>	C 155+98

Таблица 2. Нуклеотидные последовательности праймеров для определения относительной длины теломера

Нуклеотидная последовательность праймера	
elg	5'-ACACTAAGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTTAGTGT-3'
elc	5'-TGTTAGGTATCCCTATCCCTATCCCTATCCCTATCCCTAACA-5'
lbu	5'-CGGCGGCGGGCGGCGGGCTGGGCGGAAATGCTGCACAGAATCCTTG-3'
lbd	3'-GCCCGGCCCGCGCGCCCGTCCCGCGGAAAGCATGGTCGCCTGTT-3'

Table 2. Nucleotide primer sequences for determining relative telomere lengths

Primer Sequence	
elg	5'-ACACTAAGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTTAGTGT-3'
elc	5'-TGTTAGGTATCCCTATCCCTATCCCTATCCCTATCCCTAACA-5'
lbu	5'-CGGCGGCGGGCGGCGGGCTGGGCGGAAATGCTGCACAGAATCCTTG-3'
lbd	3'-GCCCGGCCCGCGCGCCCGTCCCGCGGAAAGCATGGTCGCCTGTT-3'

проводилось иммуноферментным методом. Определяли содержание альдостерона и ренина с помощью наборов для иммуноферментного анализа Demeditec Diagnostics GmbH (Германия), ангиотензина II – Biorbyt (США, предназначен для исследовательских целей). Измерение полученных результатов с их автоматической обработкой проводилось на микропланшетном ридере Sunrise (Tecan, Швейцария). Нормальные значения в вертикальном положении для альдостерона составили 13,37-

233,55 пг/мл (2,5 – 97,5 процентиль), для ренина – 7,54-42,3 пг/мл (5 – 95 процентиль).

Материалом для генетического исследования являлась цельная венозная кровь в объеме 8–9 мл, забор которой производили в пробирки с консервантом, содержащим раствор ЭДТА (рН = 8,0). ДНК выделяли методом экстракции с помощью набора NucleoSpin®Blood (MACHEREYNAGEL, Германия), согласно прилагаемому протоколу. Определение концентрации ДНК и чистоты препаратов ДНК устанавливали с использованием спектрофотометра Agilent 8453 и оценивали из соотношения поглощения 260 нм / 280 нм. Проводился анализ полиморфизма генов РААС – M235T гена ангиотензиногена (AGT), I/D гена ангиотензин-превращающего фермента (ACE), A1166C гена рецепторов 1-го типа к ангиотензину II (AGTR1), C(-344)T гена альдостеронсинтазы (CYP11B2), G83A гена ренина (REN). Генотипирование по изучаемым полиморфным локусам проводили методом полимеразной цепной реакции с анализом полиморфизма длин рестриционных фрагментов аллель-специфичными праймерами, синтезированными «Праймтех» (Беларусь) (табл. 1).

Реакцию амплификации генов проводили на приборе AGILENT SureSycler 8800, USA. Полученные фрагменты разделяли в двухпроцентном агарозном геле и идентифицировали с помощью гель-документирующей системы ChemiDoc™ MP System (BIO-RAD, США).

Для определения относительной длины теломер лейкоцитов (ДТЛ) использовалась геномная ДНК образца периферической крови обследуемых лиц методом монохромной мультиплексной ПЦР. Реакционная смесь содержала: 20 нг ДНК, 10 мкл смеси SIBR Green, по 1 мкл праймеров telg, telc, albu, albd (концентрация 900 нМ каждого) (табл. 2).

Полученную смесь доводили до объема 25 мкл деонизированной водой. Образцы смешивались, центрифугировались. Реакционную смесь далее помещали в термоциклер CFX96 «Bio-Rad, США» для проведения ПЦР. Реакционная смесь для каждого образца содержала как праймеры для теломерной ДНК, так и праймеры для гена альбумина. Температура гибридизации праймеров к теломерным повторам составляла 74 °С, а температура гибридизации праймеров к альбумину составляла 84 °С. Альбумин служил внутренним контролем, относительно которого определяли длину теломерного повтора. В качестве негативного контроля использовалась реакционная смесь, не содержащая ДНК, с двумя парами праймеров, а также реакционная смесь, содержащая только специфические праймеры для гена альбумина. Для каждого образца делалось три повторности теломерной реакции и три повторности контрольной реакции. Для разведений стандартных образцов строили калибровочные кривые. Кривые накопления продукта, полученные

в процессе ПЦР в реальном времени, были подвергнуты математической обработке. Расчет производился по формуле T/S, где T – количество в нг теломер, а S – количество в нг альбумина. Единица измерения – условные единицы (усл.ед.).

Статистический анализ проводился с применением пакета программ «STATISTICA 8.0». Проверка нормальности распределения проводилась с использованием W-критерия Шапиро-Уилка. Статистический анализ клинических характеристик обследуемых представлен в виде средних значений X и среднего квадратичного (стандартного) отклонения SD –  $X \pm SD$ . При распределении количественных данных, отличных от нормального, результаты вычислялись с определением медианы и 25-75 перцентилей – Me (25 %-75 %), для сравнительного анализа использовался критерий Манна-Уитни. Результаты, представленные в виде качественных признаков, сравнивались с использованием критерия хи-квадрат Пирсона ( $\chi^2$ ), при ожидаемых частотах от 5 до 9 рассчитывался  $\chi^2$  с поправ-

Таблица 3. Клинико-лабораторная характеристика лиц с нормальным или оптимальным артериальным давлением

Показатель	Группа
АД систолическое, мм. рт. ст.	118,18 ± 12,34
АД диастолическое, мм. рт. ст.	74,87 ± 7,47
Частота сердечных сокращений, ударов в мин.	69,07 ± 9,45
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	26,26 ± 5,03
Общий холестерин, ммоль/л	5,61 ± 1,07
ЛПНП, ммоль/л	3,68 ± 0,92
ЛПВП, ммоль/л	1,44 ± 0,37
Триглицериды, ммоль/л	1,24 ± 0,49
Глюкоза венозной крови, ммоль/л	5,45 ± 0,63
Креатинин, мкмоль/л	75,27 ± 10,22
Относительная длина теломер лейкоцитов <sup>1</sup> , усл.ед.	0,95 (0,81-1,00)
Альдостерон <sup>1</sup> , пг/мл	74,3 (50,9-94,1)
Ренин <sup>1</sup> , пг/мл	15,0 (5,6-19,5)
Ангиотензин II <sup>1</sup> , пг/мл	52,6 (22,0-104,8)

Примечания: <sup>1</sup> – данные представлены Me (25 %-75 %).

Table 3. Clinical and laboratory assessment of patients with normal and optimal blood pressure

Variable	Group
Systolic BP, mm Hg	118.18 ± 12.34
Diastolic BP, mm Hg	74.87 ± 7.47
Heart rate, beats per min.	69.07 ± 9.45
Body mass index, kg/m <sup>2</sup>	26.26 ± 5.03
Total cholesterol, mmol/l	5.61 ± 1.07
LDL, mmol/l	3.68 ± 0.92
HDL, mmol/l	1.44 ± 0.37
Triglycerides, mmol/l	1.24 ± 0.49
Glucose, mmol/l	5.45 ± 0.63
Creatinine, μmol/L	75.27 ± 10.22
Relative leukocyte telomere length <sup>1</sup> , cu	0.95 (0.81-1.00)
Aldosterone <sup>1</sup> , pg/ml	74.3 (50.9-94.1)
Renin <sup>1</sup> , pg/ml	15.0 (5.6-19.5)
Angiotensin II <sup>1</sup> , pg/ml	52.6 (22.0-104.8)

Note: <sup>1</sup> – data are presented as median (25%-75% IQR).

Таблица 4. Распределение изучаемых генотипов и аллелей полиморфизма генов РААС у лиц с нормальным или оптимальным артериальным давлением

Полиморфизмы генов	Генотипы, аллели	Пациенты, количество (%)	$\chi^2$	P
ACE (I/D)	II	11 (22,9)	0,76	0,51
	ID	27 (56,3)		
	DD	10 (20,8)		
	I	49 (51,0)		
	D	47 (49,0)		
AGT (M235T)	MM	17 (35,4)	0,16	0,58
	MT	22 (45,8)		
	TT	9 (18,8)		
	M	56 (58,3)		
	T	40 (41,7)		
AGTR1 (A1166C)	AA	23 (47,9)	0,07	0,70
	AC	21 (43,8)		
	CC	4 (8,3)		
	A	67 (69,8)		
	C	29 (30,2)		
CYP11B2 C(-344)T	CC	9 (18,8)	0,80	0,47
	CT	27 (56,2)		
	TT	12 (25,0)		
	C	45 (46,9)		
	T	51 (53,1)		
REN (G83A)	GG	28 (58,3)	0,04	0,76
	GA	17 (35,4)		
	AA	3 (6,3)		
	G	73 (76,0)		
	A	23 (24,0)		

Table 4. Distribution of the studied genotypes and alleles of gene RAAS polymorphism in patients with normal and optimal blood pressure

Gene Polymorphism	Genotype/ Allele	Number of Patients, (%)	$\chi^2$	P
ACE (I/D)	II	11 (22.9)	0.76	0.51
	ID	27 (56.3)		
	DD	10 (20.8)		
	I	49 (51.0)		
	D	47 (49.0)		
AGT (M235T)	MM	17 (35.4)	0.16	0.58
	MT	22 (45.8)		
	TT	9 (18.8)		
	M	56 (58.3)		
	T	40 (41.7)		
AGTR1 (A1166C)	AA	23 (47.9)	0.07	0.70
	AC	21 (43.8)		
	CC	4 (8.3)		
	A	67 (69.8)		
	C	29 (30.2)		
CYP11B2 C(-344)T	CC	9 (18.8)	0.80	0.47
	CT	27 (56.2)		
	TT	12 (25.0)		
	C	45 (46.9)		
	T	51 (53.1)		
REN (G83A)	GG	28 (58.3)	0.04	0.76
	GA	17 (35.4)		
	AA	3 (6.3)		
	G	73 (76.0)		
	A	23 (24.0)		

Note:  $\chi^2$  – Pearson's chi-square test, p – significance level.

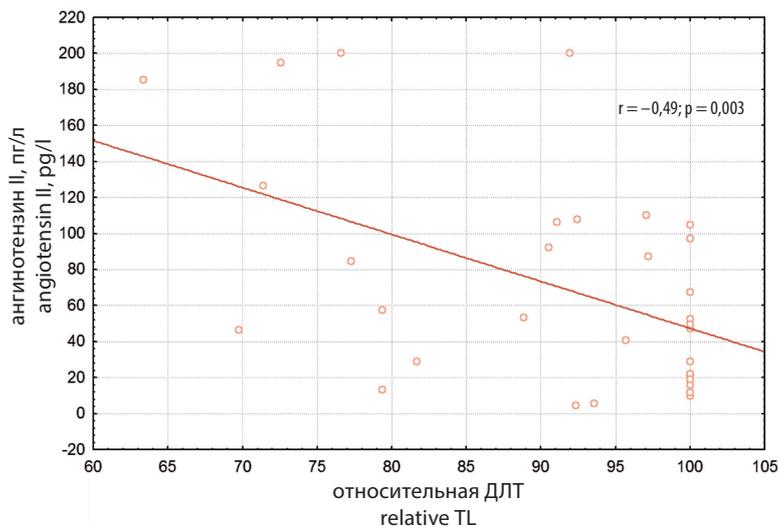


Рисунок 1. Корреляционная взаимосвязь относительной длины лейкоцитов с ангиотензином II с нормальным или оптимальным артериальным давлением

Figure 1. Correlation of relative TL with angiotensin II in normal and optimal BP

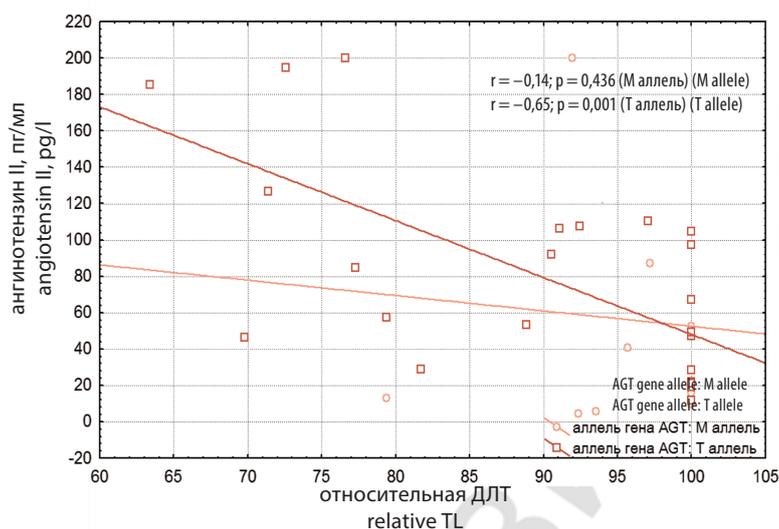


Рисунок 2. Корреляционная взаимосвязь относительной длины теломер лейкоцитов с ангиотензином II в зависимости от аллельного полиморфизма M235T гена AGT

Figure 2. Correlation of relative TL with angiotensin II depending on M235T allele polymorphism of AGT gene

кой Йейтса и менее 5 – двусторонний точный критерий Фишера. Связь количественных переменных определялась с помощью коэффициента корреляции Пирсона и коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Для проверки гипотез о равенстве использовался t-критерий Стьюдента; статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

### Результаты

Средний возраст обследуемой группы составил  $48,5 \pm 10,2$  лет (26 мужчин и 22 женщины). Общая клинико-лабораторная характеристика группы представлена в табл. 3.

По результатам генетического анализа, было получено, что распределение генотипов полиморфизма I/D гена ACE, M235T гена

AGT, A1166C гена AGTR1, G83A гена REN, C(-344)T гена CYP11B2 соответствовало теоретически ожидаемому равновесию Харди-Вайнберга (табл. 4).

В обследуемой группе проводился анализ взаимосвязи изучаемых компонентов РААС периферической крови с относительной ДЛТ лейкоцитов в обследуемой группе. Получена значимая отрицательная корреляционная зависимость относительной ДЛТ с содержанием в крови ангиотензина II ( $r = -0,495$ ;  $p = 0,003$ ) в отличие от альдостерона ( $r = -0,046$ ;  $p = 0,76$ ) и ренина ( $r = -0,062$ ;  $p = 0,68$ ) (рис. 1).

Дальнейший сравнительный анализ в обследуемых подгруппах пациентов в зависимости от аллельного полиморфизма генов РААС продемонстрировал, что при носительстве мутантных Т аллеля AGT (M235T) и А аллеля REN (G83A) увеличивалась взаимосвязь относительной ДЛТ лейкоцитов с уровнем ангиотензина II (Рис. 2, 3).

При сравнении относительной ДЛТ в зависимости от носительства аллелей изучаемых полиморфных локусов генов РААС достоверных отличий между группами не выявлено, вместе с тем отмечалась некоторая тенденция в отношении полиморфизма A1166C гена AGTR1 (табл. 5).

### Обсуждение

В настоящем исследовании была выявлена ассоциативная взаимосвязь укорочения относительной ДЛТ с повышением уровня ангиотензина II у лиц с нормальным или оптимальным АД. При анализе полиморфизма основных генов РААС было получено, что носительство мутантных Т аллеля гена AGT (M235T) и А аллеля гена REN (G83A) может оказывать более значимое влияние на относительную ДЛТ лейкоцитов посредством повышения уровня ангиотензина II.

Полиморфизм M235T гена AGT может влиять на увеличение содержания ангиотензиногена и ангиотензина II в плазме крови. По данным ряда исследований и проведенного в дальнейшем мета-анализа было доказано, что концентрация ангиотензиногена в плазме крови возрастала у пациентов при мутантном генотипе ТТ в сравнении с ММ генотипом [11, 12]. Полиморфизм гена REN оказывает влияние на активацию его транскрипции, что в свою очередь приводит к увеличению концентрации ренина в плазменной и тканевой РААС [13]. Ренин и ангиотензиноген являются главными компонентами ренин-ангиотензин-альдостеронового каскада – ренин расщепляет ангиотензиноген, образуя ангиотензин I, который под влиянием ангиотензинпревращающего фермента преобразуется в ангиотензин II. Основное патогенетическое влияние на органы и ткани при повышении активности РААС происходит посредством гормона ангиотензина II, который оказывает вазоконстрикторный эффект,

увеличивает выработку альдостерона, действует как ростовой фактор и индуцирует провоспалительные медиаторы (интерлейкин-1, интерлейкин-6, интерлейкин-17, MCP-1, фактор некроза опухоли  $\alpha$ ). Негемодинамические эффекты ангиотензина II заключаются также в стимуляции выработки активных форм кислорода, которые вызывают дисфункцию митохондрий и клеточное повреждение [14]. Посредством стимуляции рецепторов 1 типа ангиотензин II активирует фермент NADPH-оксидазу – основной источник свободных радикалов, тем самым способствуя развитию окислительного стресса. Таким образом, окислительный стресс и хроническое воспаление, которые возникают при активации РААС, могут играть значимую роль в патогенезе клеточного старения, ускоряя развитие ССЗ и возрастных изменений. Тем не менее, изучение влияния РААС на маркеры клеточного старения и функцию теломер нуждается в проведении дальнейших фундаментальных и клинических исследований.

Полиморфизмы генов	Аллели	Относительная длина теломер лейкоцитов <sup>1</sup> , усл.ед	P
ACE (I/D)	I	0,97 (0,83-1,0)	0,190
	D	0,92 (0,82-1,0)	
AGT (M235T)	M	0,97 (0,92-1,0)	0,164
	T	0,92 (0,77-1,0)	
AGTR1 (A1166C)	A	0,97 (0,91-1,0)	0,087
	C	0,89 (0,73-1,0)	
CYP11B2 C(-344)T	C	0,95 (0,96-1,0)	0,579
	T	0,96 (0,82-1,0)	
REN (G83A)	G	0,95 (0,89-1,0)	0,238
	A	0,92 (0,79-1,0)	

Примечания<sup>1</sup> – данные представлены ME (25%-75%).

## Заключение

В настоящей работе выявлена ассоциативная взаимосвязь ангиотензина II с длиной теломер лейкоцитов у лиц с нормальным или оптимальным АД и отсутствием ССЗ, что может свидетельствовать об участии РААС

## REFERENCES

- Yeh J.K., Wang C.Y. Telomeres and Telomerase in Cardiovascular Disease. *Genes (Basel)*, 2016, vol. 7, no. 9, pp. 7-58.
- Madrid A.S., Rode L., Nordestgaard B.G., Bojesen S.E. Short telomere length and ischemic heart disease: Observational and genetic studies in 290 022 individuals. *Clin. Chem*, 2016, vol. 62, no. 8, pp. 1140-1149. doi: 10.1373/clinchem.2016.258566.
- Xu C., Wang Z., Su X., Da M., Yang Z., Duan W., Mo X. Association between leucocyte telomere length and cardiovascular disease in a large general population in the United States. *Sci Rep*, 2020, vol. 10, no. 1, 80p. doi: 10.1038/s41598-019-57050-1.
- Tian Y., Wang S., Jiao F., Kong Q., Liu C., Wu Y. Telomere Length: A Potential Biomarker for the Risk and Prognosis of Stroke. *Front Neurol*, 2019, no. 10, pp. 624. doi: 10.3389/fneur.2019.00624.
- Muñoz-Durango N., Fuentes C.A., Castillo A.E., Luis Martín González-Gómez L.M., Vecchiola A., Fardella C.E., Kaleris A.M. Role of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System beyond Blood Pressure Regulation: Molecular and Cellular Mechanisms Involved in End-Organ Damage during Arterial Hypertension. *Int J Mol Sci*, 2016, vol. 17, no. 7, pp. 797. doi: 10.3390/ijms17070797.
- Vasan R.S., Demissie S., Kimura M., Cupples L.A., White C., Gardner J.P., Cao X., Levy D., Benjamin E.J., Aviv A. Association of leukocyte telomere length with echocardiographic left ventricular mass: the Framingham heart study. *Circulation*, 2009, vol. 120, no. 13, pp. 1195-1202.
- Benetos A., Gardner J.P., Kimura M., Labat C., Nzietchueng R., Dousset B., Zannad F., Lacolley P., Aviv A. Aldosterone and telomere length in white blood cells. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2005, vol. 60, no. 12, pp. 1593-1596.

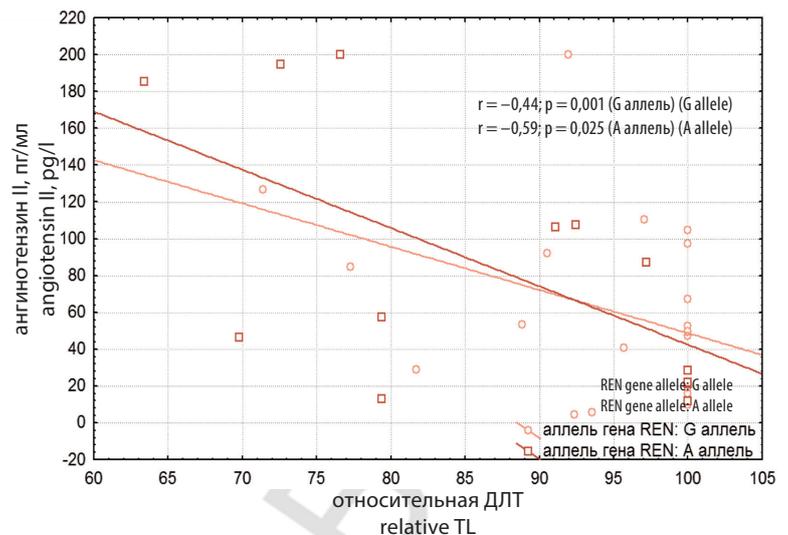


Рисунок 3. Корреляционная взаимосвязь относительной длины теломер лейкоцитов с ангиотензином II в зависимости от аллельного полиморфизма G83A гена REN

Figure 3. Correlation of relative TL with angiotensin II depending on G83A allele polymorphism of REN gene

Gene polymorphism	Alleles	Relative telomere length <sup>1</sup> , cu	P
ACE (I/D)	I	0.97 (0.83-1.0)	0.190
	D	0.92 (0.82-1.0)	
AGT (M235T)	M	0.97 (0.92-1.0)	0.164
	T	0.92 (0.77-1.0)	
AGTR1 (A1166C)	A	0.97 (0.91-1.0)	0.087
	C	0.89 (0.73-1.0)	
CYP11B2 C(-344)T	C	0.95 (0.96-1.0)	0.579
	T	0.96 (0.82-1.0)	
REN (G83A)	G	0.95 (0.89-1.0)	0.238
	A	0.92 (0.79-1.0)	

Note: <sup>1</sup> – data are presented as median (25%-75% IQR).

в развитии клеточного старения еще до клинических проявлений возраст-зависимых заболеваний сердечно-сосудистой системы.

**Конфликт интересов.** Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов.

Table 5. Relative telomere length depending on RAAS gene polymorphism in patients with normal and optimal BP

Таблица 5. Относительная длина теломер в зависимости от полиморфизма генов РААС у лиц с нормальным или оптимальным артериальным давлением

- Nilsson P.M., Tufvesson H., Leosdottir M., Melander O. Telomeres and cardiovascular disease risk: an update 2013. *Transl Res*, 2013, vol. 162, no. 6, pp. 371-380. doi: 10.1016/j.trsl.2013.05.004.
- Fyrhquist F., Silventoinen K., Sajonmaa O., Kontula K., Devereux R.B., de Faire U., Os I., Dahlöf B. Telomere length and cardiovascular risk in hypertensive patients with left ventricular hypertrophy: the LIFE study. *J Hum Hypertens*, 2011, vol. 25, no. 12, pp. 711-718. doi: 10.1038/jhh.2011.57.
- Jeunemaitre X., Soubrier F., Kotelevtsev Y.V., Williams C.S., Charru A.S., Hunt C., Hopkins P.N., Williams R.R., Lalouel J.M. Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen. *Cell*, 1992, vol. 71, no. 1, pp. 169-180.
- Sethi A.A., Nordestgaard B.G., Tybjaerg-Hansen A. Angiotensinogen gene polymorphism, plasma angiotensinogen, and risk of hypertension and ischemic heart disease: a meta-analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, vol. 23, no. 7, pp. 1269-1275. doi: 10.1161/01.ATV.0000079007.40884.5C.
- Konoshita T. Do genetic variants of the Renin-Angiotensin system predict blood pressure response to Renin-Angiotensin system-blocking drugs? A systematic review of pharmacogenomics in the Renin-Angiotensin system. *Curr Hypertens Rep*, 2011, vol. 13, no. 5, pp. 356-361.
- Pychtina V.S., Strazhesko I.D., Agal'zov M.V., Tkacheva O.N. Penin-angiotensin-aldosteronovaya sistema i replikativnoe kletchnoe starenie: ich vzaimodeystvie v chode stareniya sosudov [Renin-angiotensin-aldosterone system and replicative cellular senescence: their interaction during the vascular ageing]. *Razional'naya Farmakoterapiya v Kardiologii*, 2014, vol. 10, no. 3, pp. 312-316. (in Russian).

Поступила 17.03.2020