

УДК 616.611-002-053.2:616.12-008.331(571.54)

Т.А. Байрова¹, Н.А. Шадрина², А.Б.-Ж. Бимбаев^{1,2}, О.Ч. Хойкова^{1,2}

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА Т174М ГЕНА АНГИОТЕНЗИНОГЕНА В РЕАЛИЗАЦИИ СИМПТОМАТИЧЕСКОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Бурятский филиал ГУ НЦ МЭ ВСНЦ СО РАМН (Улан-Удэ)¹
ГУЗ Детская республиканская клиническая больница (Улан-Удэ)²

Изучено частотное распределение генотипов и аллелей гена ангиотензиногена (AGT) у детей с установленным диагнозом хронический гломерулонефрит (ХГН) с различным уровнем артериального давления (АД) и практически здоровых детей и подростков русской и бурятской национальностей. Было обследовано 38 и 59 больных ХГН и 94 и 79 практически здоровых детей указанных национальностей. Полиморфизм гена AGT определяли методом полимеразной цепной реакции. Найдена ассоциация полиморфизма Т174М гена AGT с САГ при хроническом гломерулонефрите в популяции бурят.

Ключевые слова: симптоматическая артериальная гипертензия, ген ангиотензиногена (AGT), этнос, дети

THE ROLE OF POLYMORPHISM T174M OF GENE ANGIOTENSINOGENE IN THE REALISATION OF SYMPTOMATIC ARTERIAL HYPERTENSION OF CHILDREN

T.A. Bairova¹, N.A. Shadrina², A.B.-Zh. Bimbaev^{1, 2}, O.Ch. Hoykova^{1,2}

Buryat Branch of Scientific Centre of Medical Ecology of ESSC SB RAMS, Ulan-Ude¹
Nursery Republican Clinical Hospital, Ulan-Ude²

Frequency distribution of angiotensinogen (AGT) gene genotypes and alleles was studied among children with chronic glomerulonephritis (HGN) with different level of the blood pressure (BP) and among nearly healthy children and adolescents of russian and buryat nationalities. 38 and 59 patients with HGN and 94 and 79 nearly healthy children of these nationalities were examined. Polimorfizm of AGT gene was determined by means of polymerase chain reaction. Absence of ethnic particularities in frequency of the registrations of the SAH and its dependency on the nephritis duration was revealed. The association of polymorphism T174M AGT gene with SAH in chronic glomerulonephritis group of buryat population was founded.

Key words: symptomatic arterial hypertension, gene angiotensinogen (AGT), ethnic, children

Хронический гломерулонефрит (ХГН) в детском возрасте является одной из наиболее частых причин формирования симптоматической артериальной гипертензии (САГ). В регуляции артериального давления, как при эссенциальной, так и при симптоматической гипертензии значимая роль отводится генетическим факторам. При этом, как отмечает Б.И. Шулушко (2001), генетическая составляющая при симптоматической гипертензии имеет даже большее значение, чем при эссенциальной.

С разработкой современных генетических технологий и появлением возможности детекции генов, определяющих подверженность хроническим заболеваниям, внимание исследователей привлечено к полиморфным маркерам генов-кандидатов, кодирующих компоненты регуляторных систем. К таким системам относится в первую очередь ренин-ангиотензин-альдостероновая система (РААС), генетический контроль компонентов которой является предметом пристального изучения. Ангиотензиноген, относящийся к β_2 -глобулинам и содержащийся в плазме и тканях в до-

статочных количествах, является предшественником всех эффекторных пептидов ренин-ангиотензиновой системы [9]. Концентрация ангиотензиногена в плазме крови определяется кандидатным геном ангиотензиногена (AGT) [9, 10]. Для гена AGT, расположенного на хромосоме 1 (1q42-43), основным интерес представляют две точечных мутации в кодирующей области, приводящие к замене аминокислоты метионина на треонин в 235-м (M235T) и треонина на метионин в 174-ом положении (T174M) аминокислотной последовательности [11]. Показана сцепленность указанных полиморфных вариантов гена ангиотензиногена с артериальной гипертензией во многих популяциях [1, 5, 7, 8]. При этом большинство исследований посвящено генетической детерминации эссенциальной АГ; в то время как о роли указанных полиморфных маркеров с симптоматической артериальной гипертензией сведений крайне мало.

Целью нашей работы явилось изучение роли T174M полиморфизма гена ангиотензиногена в ре-

ализации САГ при хроническом гломерулонефрите у детей республики Бурятия.

МЕТОДИКА

Нами обследовано 156 детей и подростков, принадлежащих к двум основным этническим группам республики Бурятия (коренное население – буряты, пришлое – русские). У обследованных детей по совокупности анамнестических, клинико-лабораторных данных, результатов морфологического исследования почечных биоптатов установлен диагноз хронический гломерулонефрит.

Первая группа – 96 (61,5 %) больных от 2 до 17 лет (средний возраст $12,79 \pm 3,87$ лет), принадлежащих к коренному этносу, в том числе 50 мальчиков и 46 девочек.

Вторая группа – 60 (38,5 %) больных русской национальности в возрасте от 3 до 17 лет (средний возраст $12,57 \pm 4,24$ лет), в том числе 36 мальчиков и 24 девочки.

Таким образом, группы являлись однородными по возрасту и половому составу ($p > 0,05$).

В качестве популяционного контроля для сравнения распределения генотипов и аллелей полиморфных маркеров генов ACE использовали выборку из 173 здоровых подростков (средний возраст $15,1 \pm 2,7$ лет), в том числе: буряты – 79 (45,7 %), русские – 94 (54,3 %).

Всем пациентам проводилось стандартное лабораторное обследование с целью определения степени активности основного заболевания и уточнения функции почек. Основные биохимические параметры исследовались на биохимических анализаторах «Cobas Mira Plus», «AVL» (Швейцария) с использованием диагностических наборов фирмы «Carmay» (Польша).

Офисное измерение артериального давления проводилось по стандартной методике. Уровень артериального давления оценивали на основании центильных таблиц величин АД, соответствующих 90, 95 и 99 центилю в зависимости от пола, возраста и перцентилля роста, в соответствии с рекомендациями, сформулированными Американской рабочей группой по контролю АД у детей и подростков (2004).

Идентификацию аллелей полиморфных маркеров гена AGT проводили методом полимеразной цепной реакции с последующим расщеплением ДНК – рестриктазами и вертикальным электрофоретическим разделением фрагментов ДНК в 8% полиакриламидном геле.

Расчет относительного риска (RR) развития патологии проведен нами по формуле:

$$RR = \frac{(a+0,5) \times (d+0,5)}{(b+0,5) \times (c+0,5)}$$

где «a» и «b» – число больных, имеющих (a) и не имеющих (b) мутантный генотип; «c» и «d» – число пациентов группы контроля, имеющих (c) и не имеющих (d) мутантный генотип. Оценка проведена в соответствии со следующими значениями: $RR > 1$ – наличие фактора

риска; $RR < 1$ – отрицательная ассоциация; $RR = 1$ – отсутствие зависимости [4].

Статистическая обработка результатов проведена по общепринятой методике вариационной статистики. Для проверки соответствия эмпирического распределения частот генотипов теоретически ожидаемому равновесию Харди-Вайнберга использовали критерий χ^2 . Все различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Статистическую обработку полученных данных проводили, используя пакет прикладных программ «Statistica for Windows®» версии 6.0 (StatSoft, USA).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Среди обследованных нами 96 детей и подростков коренного этноса с установленным диагнозом ХГН частота регистрации симптоматической АГ составила 39,6 % ($n = 38$). В группе русских больных ХГН ($n = 60$) симптоматическая артериальная гипертензия выявлена у 22 пациентов (36,7 %). Следовательно, нами не найдено статистически достоверного различия частоты распространенности симптоматической артериальной гипертензии на фоне ХГН у представителей коренного и пришлого населения республики Бурятия ($\chi^2 = 0,13$, $p > 0,05$).

Анализ распределения генотипов в контрольной выборке обнаружил существенное преобладание генотипа ТТ в обеих этногруппах (76,59 % – русские и 83,55 % – буряты), тогда как гомозиготы ММ встречаются с частотой 4,26 и 2,53 % в соответствующих группах (табл. 1). Это согласуется с данными литературы о низкой частоте распространенности гомозигот ММ в других популяциях [1, 2, 4, 6, 8, 12]. Отклонение от равновесия Харди-Вайнберга в контрольной популяционной выборке среди детей обеих этнических групп не выявлено.

В нормотензивной группе больных ХГН русской национальности распределение генотипов следующее: ТТ – 73,68 %, ТМ – 5,26 %, ММ – 21,06 %. Получено значимое отклонение от равновесия Харди-Вайнберга ($\chi^2 = 27,74$, $p < 0,001$). Сравнительный анализ с аналогичной группой здоровых детей обнаружил статистически достоверное увеличение частоты встречаемости носителей гомозиготного генотипа ММ ($\chi^2 = 7,32$, $p < 0,05$). Тем не менее, анализ аллельных частот в соответствующих группах выявил лишь тенденцию преобладания мутантного аллеля в исследованной нормотензивной группе больных ХГН (0,1383 – контроль; 0,2368 – нормотензивные пациенты; $p > 0,05$).

В гипертензивной подгруппе больных ХГН пришлой этногруппы носители мутантного генотипа ММ отсутствуют. Вместе с тем, при сравнении с группой нормотензивных пациентов получены статистически значимые отличия частоты встречаемости генотипов ТТ и ТМ: ТТ – 45,45 % – гипертензивные, 73,68 – нормотензивные, $\chi^2 = 4,78$, $p < 0,05$; ТМ – 54,55 % – гипертензивные, 5,26 % – нормотензивные, $\chi^2 = 16,26$,

Частоты генотипов и аллелей гена AGT у больных ХГН и здоровых детей

		Генотип ТТ, %	Генотип ТМ, %	Генотип ММ, %	Аллель Т	Аллель М
Контроль	Русские, n = 94 (Rz)	76,59 ^{R2*}	19,15 ^{R2*}	4,26 ^{R1*}	0,8617	0,1383 ^{R2*}
	Буряты, n = 79 (Bz)	83,55 ^{B1* B2*}	13,92	2,53 ^{B2*}	0,9051	0,0949 ^{B1* B2*}
Нормотензивные	Русские, n = 38 (R1)	73,68 ^{R2*}	5,26 ^{R2*}	21,06 ^{Rz*}	0,7632	0,2368
	Буряты, n = 58 (B1)	68,97 ^{Bz*}	24,14 ^{B2*}	6,89	0,8103	0,1897 ^{Bz*}
Гипертензивные	Русские, n = 22 (R2)	45,45 ^{Rz* R1*}	54,55 ^{Rz* R1*}	–	0,72,73	0,2727 ^{Rz*}
	Буряты, n = 38 (B2)	57,89 ^{Bz*}	15,79	26,32 ^{Bz* B1*}	0,6579	0,3421 ^{Bz*}

Примечание: *p < 0,05.

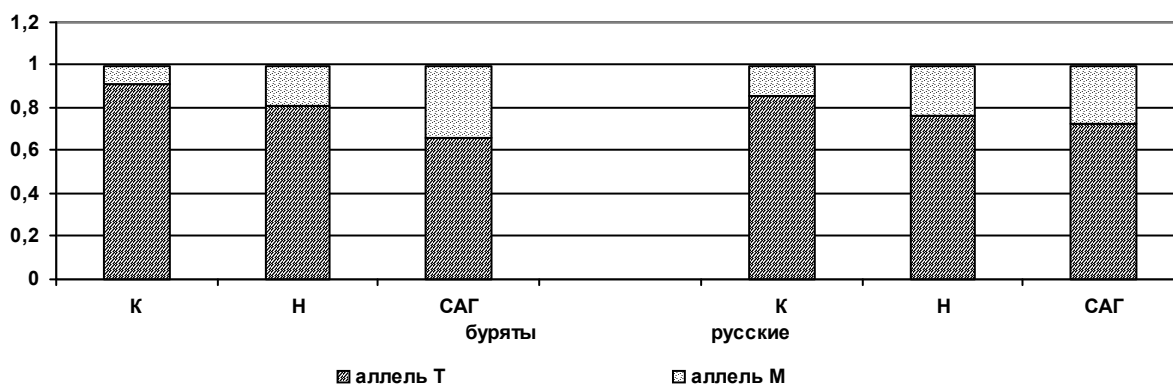


Рис. 1. Распределение аллельных частот гена AGT в исследуемых группах. К – группа контроля, Н – нормотензивные больные, САГ – гипертензивные больные.

p < 0,001. Тем не менее, сравнение аллельных частот показало лишь тенденцию увеличения частоты аллеля М у гипертензивных больных (рис. 1).

Таким образом, на основании сравнительного анализа распространенности частот генотипов и аллелей у нормо- и гипертензивных больных ХГН с группой популяционного контроля вклад полиморфизма T174M гена AGT в реализацию симптоматической артериальной гипертензии у пациентов пришедшей этногруппы нами не установлен. Вместе с тем, не исключена роль изучаемого полиморфизма в формировании хронического гломерулонефрита.

В нормотензивной подгруппе больных ХГН коренного этноса сравнительный анализ частот генотипов показал следующее их распределение: ТТ – 68,97 %, ТМ – 24,14 %, ММ – 6,89 %. Получено значимое уменьшение частоты встречаемости генотипа ТТ в анализируемой подгруппе по сравнению с группой контроля (68,97 % – больные, 83,55 % – контроль, $\chi^2 = 11,1, p < 0,05$). Распространенность мутантного генотипа ММ не имеет отличий от группы здоровых детей соответствующей этнической принадлежности (6,89 % – больные, 2,53 % – контроль; $\chi^2 = 1,52, p > 0,05$). Однако, анализ аллельных частот выявил статистически достоверное увеличение носителей М-аллеля в подгруппе нормотензивных больных ХГН (0,0949 – контроль, 0,1897 – больные; $\chi^2 = 5,14, p < 0,05$).

В гипертензивной группе больных коренного этноса обнаружено значимое увеличение доли гомозигот ММ при сравнении как с нормотензивными пациентами соответствующей этнической принадлежности, так и с группой контроля: 26,32 % – гипертензивные; 6,89 % – нормотензивные, $\chi^2 = 6,95, p < 0,05$; 2,53 % – контроль; $\chi^2 = 15,77, p < 0,001$. Сравнение аллельных частот в тех же группах выявило достоверное увеличение распространенности носителей мутантного аллеля среди гипертензивных пациентов: 0,1897 – нормотензивные, 0,3421 – гипертензивные, $\chi^2 = 5,69, p < 0,05$; 0,0949 – контроль, $\chi^2 = 21,69, p < 0,001$ (рис. 1). В гипертензивной группе бурят, так же как и в нормотензивной – русских, нами установлено достоверное отличие частот генотипов от равновесия Харди-Вайнберга ($\chi^2 = 16,0, p < 0,001$). Проведенное нами исследование позволяет предположить участие мутантного аллеля полиморфного маркера гена AGT в формировании симптоматической АГ при хроническом гломерулонефрите у детей коренной этногруппы, наряду с этим возможна его ассоциация с реализацией основного заболевания.

Синдром артериальной гипертензии на фоне хронического гломерулонефрита является одним из важнейших факторов прогрессирования основного заболевания, который определяет динамическое ухудшение функции почек. В связи с этим, был поставлен вопрос о выявлении возможной ассоци-

ации отдельных биохимических маркеров почечной функции и полиморфных вариантов изучаемого кандидатного гена. Результаты проведенного анализа представлены в таблице 2. Среди нормотензивных больных-носителей полиморфных вариантов гена AGT значимые отличия биохимических показателей функции почек нами не выявлены. В группе гипертензивных больных обеих этнических групп носители гетерозиготного генотипа ТМ и мутантного ММ имеют более высокие значения уровня мочевины сыворотки в сравнении в группой носителей гомозиготного генотипа ТТ (табл. 2). При аналогичном сравнении уровня сывороточного креатинина и клубочковой фильтрации в группе коренного этноса выявлено разнонаправлено значимое изменение данных показателей (рост креатинина с одновременным снижением клубочковой фильтрации) у носителей генотипа ТМ.

Известно, что прогрессирование почечной недостаточности в большей степени обусловлено вторичными гемодинамическими и метаболическими факторами, нежели активностью первичного патологического процесса [3]. При этом комплекс эффекторных пептидов системы РААС [ангиотензиноген → ангиотензин I → ангиотензин II] играет ключевую роль в прогрессивном снижении функции почек посредством гемодинамических и «негемодинамических» механизмов. Носители полиморфных вариантов гена AGT имеют разную экспрессию гена, связанную с наличием или отсутствием мутантного аллеля. Установленный в ряде популяций более высокий уровень ангиотензиногена в плазме крови, связанный с носительством М-аллеля [10], может являться фактором, способствующим более высокой активности компонентов РААС, и, следовательно прогрессированию почечных функциональных нарушений, маркером которых являются продукты азотистого обмена [мочевина, креатинин].

Таким образом, установленная в нашем исследовании взаимосвязь уровня мочевины сыворотки с носительством М-аллеля у гипертензивных пациентов может являться косвенным свидетельством роли изучаемого полиморфизма гена AGT в формировании как системных, так и внутривисочечных гемодинамических нарушений.

Расчет относительного риска формирования хронического гломерулонефрита с последующей реализацией артериальной гипертензии, связанный с полиморфизмом Т174М гена AGT в группе русских пациентов, выявил следующие значения: для нормотензивных больных ХГН показатель составил 4,80, что следует расценивать как высокий риск реализации ХГН у пациентов, являющихся носителями М-аллеля. Для гипертензивных больных риск составил 0,16, что свидетельствует об отрицательной ассоциации носительства мутантного аллеля с системной артериальной гипертензией. В группе больных коренного этноса выявлен высокий относительный риск развития ХГН у носителей аллеля М как для нормо-, так и для гипертензивных пациентов ($RR_1 = 2,96$ и $RR_2 = 4,2$). Таким образом, полученные значения относительного риска развития изучаемой патологии позволяют предположить наличие связи полиморфизма Т174М гена AGT с формированием хронического гломерулонефрита и реализацией симптоматической артериальной гипертензии в популяции детей коренной этногруппы.

Обнаруженное различие эффекта полиморфизма Т174М у представителей разных этнических групп республики Бурятия является отражением определенного популяционно-генетического фона. Выявленная нами генетическая детерминация изучаемой патологии для каждой отдельной этнической популяции является важной с точки зрения формирования предикторов системной артериальной гипертензии на фоне хронического гломерулонефрита.

Таблица 2
Биохимические маркеры функции почек, зависимость от генотипов гена AGT

	Генотипы	Креатинин, мкмоль/л	Мочевина, ммоль/л	Клубочковая фильтрация, мл/мин
Нормотензивные буряты / русские	ТТ	69,97 ± 18,13	3,97 ± 1,23	90,38 ± 31,07
		65,68 ± 17,74	4,14 ± 1,30	79,49 ± 22,65
	ТМ	62,77 ± 9,15	3,46 ± 0,61	69,27 ± 37,06
		57,99 ± 18,07	3,22 ± 1,02	61,15 ± 35,20
	ММ	69,30 ± 0,70	3,10 ± 0,30	94,50 ± 51,50
		81,35 ± 3,64	4,15 ± 1,11	94,75 ± 7,43
Гипертензивные, буряты / русские	ТТ (B1/ R1)	72,59 ± 12,68 *B2	4,04 ± 0,85 *B2, B3	79,91 ± 26,83 *B2
		103,70 ± 37,94	3,58 ± 0,93 *R2	54,80 ± 12,86
	ТМ (B2/ R2)	117,13 ± 49,80 *B1	7,93 ± 4,81 *B1	31,83 ± 15,59 *B1
		85,36 ± 40,51	5,78 ± 1,47 *R1	66,10 ± 18,08
	ММ (B3/ R3)	67,30 ± 11,23	5,85 ± 1,03 *B1	63,13 ± 7,73
		–	–	–

Примечание: * $p < 0,05$.

та и может позволить оценить степень индивидуального риска развития АГ в этнических группах. Полученные нами данные представляют интерес не только с позиции популяционно-генетических исследований, но и с точки зрения участия генетических маркеров РААС в реализации вторичной артериальной гипертензии.

ВЫВОДЫ

1. Полиморфный маркер T174M гена АГТ является важнейшей составляющей генетической структуры подверженности вторичной артериальной гипертензии при хроническом гломерулонефрите в бурятской популяции.

2. В русской популяции взаимосвязь полиморфизма T174M гена АГТ с реализацией симптоматической артериальной гипертензией отсутствует.

3. Носители мутантного аллеля гена ангиотензиногена имеют наивысший риск в формировании как системных, так и внутрипочечных гемодинамических нарушений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреева М.Г. Роль полиморфизма T174M гена ангиотензиногена в формировании предрасположенности к артериальной гипертензии, особенностях ее течения и выборе гипотензивного препарата в зависимости от генотипа: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.06 / Казань, КГМУ. — Казань, 2001. — 15 с.

2. Бимбаев А.Б.-Ж. Прогностические маркеры эссенциальной артериальной гипертензии у подростков разных этнических групп, проживающих на территории республики Бурятия: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.19. — Иркутск, 2004.

3. Есаян А.М. Тканевая ренин-ангиотензиновая система почки. Новая стратегия ренопротекции / А.М. Есаян // Нефрология. — 2002. — Т. 6, № 3. — С. 10–14.

4. Милосердова О.П. Полиморфные маркеры генов АГТ и АСЕ у якутов. Отсутствие ассоциации с уровнем кровяного давления / О.П. Милосердова, П.А. Сломинский, Л.А. Тарская // Генетика. — 2001. — Т. 37, № 5. — С. 712–715.

5. Мустафина О.Е. Анализ ассоциаций T174M полиморфизма гена ангиотензиногена с эссенциальной гипертензией у русских и татар / О.Е. Мустафина, Т.Р. Насибуллин, Э.К. Хуснутдинова // Молекулярная биология. — 2002. — Т. 36, № 4. — С. 648–653.

6. Насибуллин Т.Р. Исследование полиморфизма T174M гена ангиотензиногена в популяциях Волго-Уральского региона / Т.Р. Насибуллин, О.Е. Мустафина, В.В. Туктарова // Генетика. — 2004. — Т. 40, № 10. — С. 1410–1416.

7. Полиморфизм генов, участвующих в регуляции функции эндотелия и его связь с развитием гестоза / Е.В. Мозговая, О.В. Малышева, Т.Э. Иващенко и др. // Медицинская генетика. — 2003. — Т. 2, № 7. — С. 324–330.

8. Чистяков Д.А. Полиморфизм T174M гена ангиотензиногена в московской популяции связан с гипертонической болезнью / Д.А. Чистяков, Р.И. Туракулов, В.С. Моисеев // Молекулярная биология. — 1999. — Т. 33, № 4. — С. 592–594.

9. Шулутко Б.И. Артериальная гипертензия / Б.И. Шулутко. — СПб: Сотис, 2001. — С. 98–108.

10. Abstract of the 16th Scientific Meeting of the International Society of Hipertension / B.R. Lee, E.Y. Kin, G.E. Paik, S.J. Park, S.J. Cho // Abstract P0090. — Glasgow—UK, 1996.

11. Lovati E. Genetic polymorphism the renin-angiotensin-aldosterone system in end study renal disease / E. Lovati, A. Richard, B. Fray // Kidney Int. — 2001. — Vol. 60. — P. 46–54.

12. Sanderson J. Influence of gene polymorphisms of RAS on outcome in heart failure among Chinese / J. Sanderson, C. Yu, C. Sylven // Am heart J. — 1999. — Vol. 137. — P. 653–657.