

Башмакова Н.В., Крысова Л.А., Третьякова Т.Б.

Распределение полиморфных аллелей генов-регуляторов артериального давления у женщин репродуктивного возраста

ФГБУ «НИИ ОММ» Минздравсоцразвития России, г.Екатеринбург

Bashmakova N.V., Krysova L.A., Tretyakova T.B.

The frequency distribution of genes polymorphisms that control blood pressure in women of reproductive age

Резюме

Целью исследования явился анализ частоты распределения полиморфизмов генов-регуляторов уровня артериального давления (АД) у женщин репродуктивного возраста с эссенциальной артериальной гипертензией (ЭАГ) и гипертензивными нарушениями в период гестации. Обследована 151 женщина, из которых у 98 человек к моменту включения в исследование выявлена ЭАГ, группу сравнения составили женщины, имеющие вне беременности нормальные значения АД. Проводили молекулярно-генетическое исследование аллельных полиморфизмов 7 генов-регуляторов уровня АД. Установлено, что в обследованной группе имеет место высокая частота определения полиморфных аллелей генов дисфункции эндотелия, ренин-ангиотензиновой системы, электролитных каналов, сигнальных пептидов. Что касается статистически достоверных различий по их встречаемости у пациенток с АГ и у пациенток с нормальным уровнем АД, такие закономерности были получены только для генов AGTR2 и ADD1. Для оценки риска формирования ЭАГ у молодых женщин необходим комплексный анализ результатов молекулярно-генетического тестирования с обязательным учетом средовых факторов.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, полиморфизм генов-регуляторов артериального давления

Summary

Purpose of our study was analysis of the frequency distribution of polymorphisms of genes that control blood pressure in women of reproductive age with essential arterial hypertension and hypertensive disorders in the period of gestation. Studying 151 women, of whom 98 people at the time of inclusion in the study identified essential hypertension, comparison group were women with normal values of blood pressure without pregnancy. Conducted molecular - genetic studies of allelic polymorphisms 7 genes-regulators of blood pressure. Found that in the studied group is a high determine the frequency of polymorphic alleles epithelial dysfunction, renin-angiotensin system, electrolyte channels. As for statistically significant differences in the occurrence of these alleles in patients with hypertension and without hypertension. Pattern was obtained only for genes AGTR2 and ADD1. To assess the risk of formation of essential hypertension in young women, a comprehensive analysis of molecular genetic testing with mandatory environmental factors into account.

Keywords: hypertension, gene polymorphism for blood pressure regulators

Введение

Артериальная гипертензия (АГ) является заболеванием, широко распространенным во всем мире. В России этот показатель один из самых высоких по сравнению с другими странами. У 39,5% взрослого населения регистрируется повышение уровня артериального давления (АД). Что касается женщин репродуктивного возраста, то в этой группе также имеет место тенденция к увеличению частоты гипертензивных нарушений, которые осложняют течение беременности и являются ведущими причинами материнской и перинатальной заболеваемости и смертности [1]. Эссенциальная артериальная гипертензия (ЭАГ) является мультифакториальным заболеванием, для реализации которого важны как наследствен-

ные, так и средовые факторы [2]. До сих пор не удалось обнаружить гены, обладающие ярко выраженным и значительным гипертензивным эффектом, несмотря на многочисленные исследования по изучению связи АГ с полиморфными вариантами соответствующих генов-кандидатов [3].

Целью настоящего исследования явилось проведение анализа частоты распределения генотипов и аллелей полиморфных маркеров генов, регулирующих уровень артериального давления, у женщин репродуктивного возраста с отягощенным акушерским анамнезом, в том числе имевших гипертензивные расстройства в период гестации, и анализ их возможных ассоциаций с формированием эссенциальной артериальной гипертензии.

Материалы и методы

Обследована 151 женщина, проживающая на территории Свердловской области. В группу вошли пациентки репродуктивного возраста, обратившиеся для прегравидарной подготовки на специализированный прием в женскую консультацию ФГБУ «УНИИ ОММ» и беременные, получающие лечение в отделениях патологии института. У обследованных женщин имели место гипертензивные нарушения в виде ЭАГ (в Российской Федерации – гипертоническая болезнь) или индуцированной беременностью АГ (изолированной или в рамках гестоза). У 98 пациенток к моменту включения в исследование диагностирована гипертоническая болезнь. Из них 62 (63,27%) пациентки имели АГ I степени, 31 (31,6%) – II степени и 5 (5,1%) – III степени по уровню АД. Группу сравнения составили 53 женщины без повышенного АД вне беременности. Возраст обследованных от 21 до 43 лет (средний возраст 31,6 года). Из специальных методов исследования было проведено генотипирование методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием детектирующего амплификатора ДТ-96 с автоматическим программным обеспечением (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, регистрационное удостоверение № ФСР 2007/01250). Образцы ДНК получали из клеток букального эпителия, используя набор реагентов для определения генетических полиморфизмов, ассоциированных с риском развития артериальной гипертензии и протоколы для выделения ДНК «Проба РАПИД-ГЕНЕТИКА» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, регистрационное удостоверение МЗ СР РФ ФСР № 2010/08412). Для оценки количества выделенной ДНК использовался набор реагентов для контроля забора материала методом ПЦР (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Регистрация и учет результатов проводится автоматическим программным обеспечением для детектирующего амплификатора ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Изучались полиморфизмы следующих генов: G460T в гене ADD1; 704T>C и 521T>C в гене AGT; A1166C в гене AGTR1; G1675A в гене AGTR2; -344C>T в гене CYP11B2; 825C>T в гене GNB3; -786T>C и 894G>T в гене NOS3. Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью программы Statistica 6.0. Наличие ассоциации между категориальными переменными оценивалось при помощи χ^2 теста. Силу ассоциаций оценивали в значениях показателя соотношения шансов Odds Ratio (OR). При анализе также использовался непараметрический U- критерий Манна-Уитни. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При анализе полученных результатов была установлена достаточно высокая частота распространения полиморфизмов генов-регуляторов уровня АД в обследованной нами группе женщин (рис. 1.).

Так, оказалось, что у женщин репродуктивного возраста, проживающих на территории Свердловской об-

ласти и относящихся к группе высокого риска по развитию гипертензивных гестационных осложнений, наиболее часто выявлялся полиморфизм промоторной области гена NOS3:-786T>C (136 чел., 89,47%). С одной стороны, это еще раз говорит о связи аллеля-786C с предрасположенностью к развитию ЭАГ (практически две трети обследованных уже имеют повышенное АД) и к гипертензивным нарушениям, индуцированным беременностью. С другой стороны, у второй части пациенток, не имеющих пока повышенного АД, также обнаружен этот полиморфизм, что еще раз доказывает мультифакториальный генез ЭАГ, и то, что для ее формирования недостаточно только наследственной предрасположенности. Огромное значение имеют и средовые факторы, анализ которых в нашем исследовании не проводился. Представляет интерес тот факт, что другой достаточно изученный полиморфизм 894T в этом же гене встречался практически у половины обследованных (75 чел., 49,34%), при этом в виде гаплотипа «T894 – 786C» только у 18 (11,92%). Полученные нами данные совпадают с результатами других исследований и еще раз подтверждают данные о том, что в основе повышения уровня АД лежит дисфункция эндотелия [2].

Что касается генов ренин-ангиотензиновой системы, из них первым по частоте встречаемости оказалась полиморфизм 704T>C в гене AGT (124 чел., 81,58%), что подтверждает данные других исследователей о связи C-аллеля с развитием ЭАГ. Другой полиморфизм гена AGT:521T>C обнаруживался практически в 3 раза реже – у 18 (25,83%) женщин. С достаточно высокой частотой был выявлен полиморфизм G1675A в гене AGTR2 (104 чел., 68,8%). Патологический аллель гена AGTR1 1166C при этом встречался реже (64 чел., 42,115). Данные полиморфизмы обеспечивают усиление вазоконстрикции и ассоциированы с формированием АГ [4].

Полученные данные согласуются с данными литературы о роли генов ренин-ангиотензиновой системы, в частности полиморфизмов 704T>C в гене AGT, G1675A в гене AGTR2 в развитии АГ [3,5].

Полиморфизм GNB3:825T имел место в 88 (57,89%) случаях. Данный полиморфизм играет важную роль в передаче сигналов внутрь клетки, что у больных с АГ повышает пролиферативную активность и вазоконстрикцию. Также происходит увеличение активности обмена натрия. К дополнительным факторам риска относятся гипертрофия миокарда левого желудочка сердца, ожирение. У больных, являющихся носителями ТС-генотипа эффективны диуретики и нитраты. Для женщин с ТТ-генотипом характерна большая прибавка в весе во время беременности [12].

Носительство полиморфизма G460T в гене α -аддуцина встречалось практически у половины обследованных – в 47,37% случаев. Данный полиморфизм предрасполагает к феномену чувствительности к NaCl и формированию солезависимой АГ и гипертоническому нефроангиосклерозу [3].

У 117 (76,97%) обследованных было выявлено носительство полиморфизма 344T в гене CYP11B2. Нали-

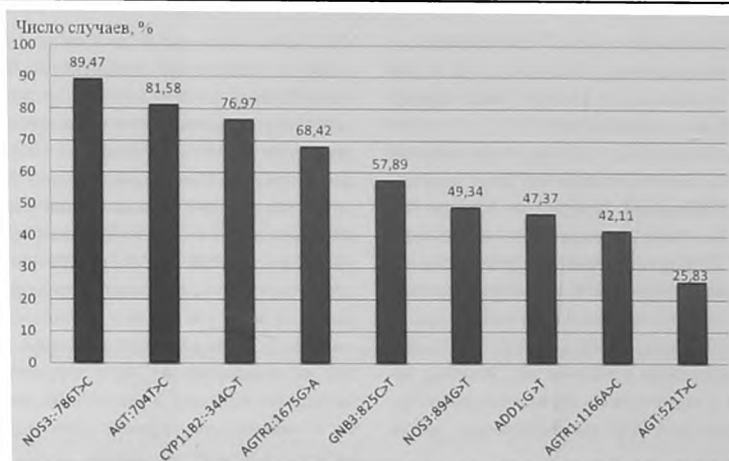


Рис.1. Частота выявления полиморфизмов генов-регуляторов уровня артериального давления у пациенток обследованной группы

Таблица 1. Распределение полиморфизмов генов-кандидатов, регулирующих уровень артериального давления, у женщин обследованных групп

Полиморфизм	Генотип	Женщины с эссенциальной артериальной гипертензией (n=98)		Женщины без эссенциальной артериальной гипертензии (n=53)	
		абс.	%	абс.	%
AGT:704T/C	TT	18	18,37	9	16,98
	TC	52	53,06	28	52,83
	CC	28	28,57	16	30,19
AGT:521C/T	CC	68	69,39	39	73,58
	CT	27	27,55	10	18,87
	TT	3	3,06	4	7,55
AGTR1:1166A/C	AA	52	53,06	35	66,04
	AC	38	38,78	15	28,36
	CC	8	8,16	3	5,06
AGTR2:1675G/A	GG	28	28,57	19	35,85
	GA	38	38,78	26	49,06
	AA	32	32,65	8	15,09
NOS3:-786T/C	TT	11	11,22	4	7,55
	TC	47	47,96	23	43,40
	CC	40	40,82	26	49,06
NOS3:894G/T	GG	45	45,92	31	58,49
	GT	46	46,94	20	37,74
	TT	7	7,14	2	3,77
CYP11B2:-344C/T	CC	26	26,53	8	15,09
	CT	48	49,98	31	58,49
	TT	24	24,49	14	26,42
ADD1:G/T	GG	44	44,90	35	66,04
	GT	45	45,92	15	28,30
	TT	9	9,18	3	5,66
GNB3:825C/T	CC	38	38,78	25	47,17
	CT	50	51,02	21	39,62
	TT	10	10,20	7	13,21

Примечание: * - OR 2,73; CI: 1,15; 6,46; p = 0,02; ** - OR 0,42; CI: 0,21; 0,84; p = 0,01; ^ - OR 2,15; CI: 1,05; 4,41; p = 0,02.

чие T-аллеля в промоторной области гена альдостерон-синтетазы сопровождается повышением базальной продукции альдостерона и ассоциируется с АГ, инфарктом миокарда. Что касается молодых женщин с ЭАГ и беременных с гипертензивными нарушениями, в доступной нам литературе, данных, касающихся изучения роли этого гена, нам практически не встретилось.

Таким образом, у обследованных нами женщин репродуктивного возраста, жительниц Свердловской обла-

сти, обнаружена достаточно высокая частота носительства генетических полиморфизмов, ассоциированных с предрасположенностью к заболеванию ЭАГ и гипертензией, индуцированной беременностью (изолированной или в рамках гестоза). И только 15 (10,53%) пациенток имели «дикие» аллели изученных генов-регуляторов уровня АД.

Выявленная достаточно высокая частота встречаемости полиморфных маркеров в генах-регуляторах АД

характеризует в целом группу женщин репродуктивного возраста с гипертензивными нарушениями, но не позволяет пока сделать однозначных выводов о связи данных полиморфизмов с формированием ЭАГ.

Далее для изучения вклада генотипа в формирование ХАГ все обследованные пациентки были разделены на 2 подгруппы: женщины, страдающие ЭАГ ($n=98$), и женщины, имеющие вне беременности нормальные цифры АД ($n=53$). Пациентки обеих подгрупп были сопоставимы по возрасту: 32,5 и 30,8 лет, соответственно ($p=0,11$). Распределение частот генотипов полиморфных вариантов генов ADD1, AGT, AGTR1, AGTR2, CYP11B2, GNB3 и NOS3 представлено в таблице №1. Распределение частот аллелей и генотипов по изучаемым полиморфизмам в группе женщин с ХАГ соответствовало закону Харди-Вайнберга.

При анализе распределения полиморфизмов генов ренин-ангиотензиновой системы оказалось, что в группе женщин с ЭАГ в 2 раза чаще встречался генотип 1675AA гена AGTR2 ($p=0,02$). Полученные нами результаты однозначно согласуются с данными других исследователей, в которых показана ассоциация этого полиморфизма с АГ у взрослых женщин и у мальчиков, имеющих повышенное АД [3,6].

Частоты генотипов по исследуемым полиморфизмам в генах AGT и AGTR1 в группе женщин с ЭАГ и в группе сравнения достоверно не отличались. В группе женщин с ЭАГ наблюдалась тенденция к повышению частоты генотипов 1166AC + CC в гене AGTR1 (46 чел., 46,94%), но различия не были статистически достоверными.

Исследования, посвященные ассоциации полиморфных вариантов генов AGT и AGTR1 с развитием ХАГ, достаточно противоречивы. Так, во многих доступных литературных источниках демонстрируется ассоциация генотипа AGT:704CC с АГ [7,8,9]. Есть исследования, показывающие, что данный полиморфизм влияет преимущественно на диастолическое, а не на систолическое АД [10,11]. В работах А. Mondry и соавт. (2005) выявлено, что женщины со «слабым» генотипом 704CC достоверно реже заболевают АГ, чем мужчины с таким же генотипом [10]. Согласно нашим данным, при анализе полиморфизмов 704T>C и 521T>C в гене AGT, ассоциации с ЭАГ у женщин репродуктивного возраста только при наличии в генотипе аллелей 704C и 521C выявить не удалось.

Что касается полиморфизма 1166C в гене AGTR1, то выявленная в наших исследованиях тенденция к увеличению частоты встречаемости генотипа AGTR1:1166AC+CC, у женщин с ЭАГ, согласуется с данными других исследований об ассоциации данных генотипов с АГ [4]. Хотя не все работы подтверждают такую зависимость [4].

Частоты генотипов генов CYP11B2, GNB3 и NOS3 в группе женщин с ХАГ и группе оказались сравнения практически одинаковы. Хотя в группе женщин с ХАГ имеется тенденция к увеличению частоты встречаемости генотипов-344CT+TT в гене CYP11B2, но эта раз-

ница не является статистически достоверной. CYP11B2 является геном альдостеронсинтетазы, его 344-аллель ассоциирован с повышением альдостерон-рениновой активности в плазме. При повышении активности альдостерона за счет нарушения регуляции гомеостаза калия, натрия и объема внеклеточной жидкости происходит формирование солезависимой формы АГ. Данные о его корреляции с АГ, поражением органов-мишеней и уровнем альдостерона противоречивы [3]. Необходимо продолжить изучение вклада полиморфизма этого гена в развитие АГ, в том числе и у молодых женщин. Это позволит не только расширить знания о механизмах развития эссенциальной АГ, но и скорректировать антигипертензивную терапию, в тех случаях, когда она необходима, с обязательным применением диуретиков в комбинации с препаратами других групп, контролирующими уровень АД.

Достоверной оказалась разница в частоте встречаемости полиморфизма G460T в гене ADD1. В группе женщин с ЭАГ распределение генотипов 460TT +GT оказалось значительно выше, чем в группе сравнения. При этом «дикий» аллель этого гена 460G достоверно чаще имел место у пациенток с нормальным АД и было доказано его протективное влияние на формирование АГ ($p=0,01$; OR=0,42; 95%CI:0,21-0,84).

Таким образом, проведенные исследования позволили выявить достоверную ассоциацию генотипа AGTR2: 1675AA ($p=0,02$; OR=2,73; 95%CI 1,15-6,46) и генотипа 460GT в гене ADD1 ($p=0,02$; OR=2,15; 95% CI:1,05-4,41) с развитием ХАГ у молодых женщин, имеющих отягощенный акушерский анамнез в виде гипертензивных нарушений, вызванных беременностью. Полученные нами данные еще раз подтверждают наличие сложных механизмов формирования ЭАГ, в том числе важнейшую роль в их осуществлении ренин-ангиотензиновой системы, эндотелиальной дисфункции. Отсутствие в нашем исследовании достоверного отличия в распределении полиморфизмов в других генах-регуляторах уровня АД между двумя обследованными группами может быть связано как с недостаточной выборкой, так и с существованием межпопуляционных и межрасовых различий частот аллелей данных генов. Очевидно, что для дальнейшего изучения вклада данных полиморфных аллелей необходимо не только увеличивать объем исследований, но и подходить к их анализу с позиций комплексной межгенной оценки. Возможно существование группы полиморфных генов, ответственных за функционирование многих факторов и межклеточных взаимодействий, определенной комбинация аллельных вариантов которых в одном генотипе может быть причиной формирования данной патологии. Наследственная предрасположенность, несомненно, играет значительную роль в развитии АГ. Выделение генетических маркеров, позволяющих прогнозировать развитие сердечно-сосудистых заболеваний, в частности ЭАГ, имеет большое значение для выделения групп риска и осуществления лечения этих заболеваний и профилактики их осложнений.

Выводы

Таким образом, генетическое тестирование, направленное на выявление наследственной предрасположенности к АГ, необходимо проводить у молодых женщин, имеющих повышенное АД как вне беременности, так и в период гестации. Полученные результаты позволяют не только отнести пациентку в группу высокого риска по развитию гестационных осложнений, связанных с АГ, но и спрогнозировать уровень АД в последующие периоды ее жизни. ■

Башимакова Н.В. – д.м.н., проф., заместитель директора по НИР ФГБУ «НИИ ОММ» Минздрава России, г. Екатеринбург; *Крысова Л.А.* – к.м.н., старший научный сотрудник отделения антенатальной охраны плода ФГБУ «НИИ ОММ» Минздрава России, г. Екатеринбург; *Третьякова Т.Б.* – к.м.н., старший научный сотрудник отделения биохимических методов исследования ФГБУ «НИИ ОММ» Минздрава России, г. Екатеринбург; Автор, ответственный за переписку - *Крысова Л.А.*, 620049, г. Екатеринбург, переулок Курьинский д.5, кв. 9., lydmilak@gmail.com

Литература:

1. Ткачева О.Н., Барабашкина А.В. Актуальные вопросы патогенеза, диагностики и фармакотерапии артериальной гипертензии у беременных. М: ПАГРИ; 2006.
2. Генетический паспорт-основа индивидуальной и предиктивной медицины. Под ред. В.С. Баранова. СПб: Н-Л; 2009.
3. Шевченко О.В., Свистунов А.А., Бородулин В.Б., Рута А.В., Бычков Е.Г. Генетические основы эссенциальной артериальной гипертензии (обзор). Саратовский научно-медицинский журнал. 2011; 7 (1): 83-7.
4. Huthon D.J.R. Calculator for confidence intervals for odds ratio unmatched case control study; <http://www.huthon.net/ConfidOR.htm>.
5. Глотов А.С., Иващенко Т.Э., Образцова Г.И. (и соавт.). Зависимость между возникновением стабильной артериальной гипертензией у детей и полиморфизмом генов ренин-ангиотензиновой и кинин-брадикининовой систем. Молекулярная биология. 2007; 41 (1): 18-5.
6. A.C.Pereira, Mota G.F, Cunha R.S.(et al). Angiotensinogen 235 allele "dosage" is associated with blood pressure phenotypes. Hypertension. 2003; 41 (1): 25-5.
7. Mondry A., Loh M., Lui P. (et al). Polymorphism of the insertion/deletion ACE and M235T AGT genes and hypertension: surprising neo findings and metaanalysis of data. BMC. Nephrol. 2005; 6: 11.
8. Fox C.S., Heart-Costa N.L., Vasan R.S. (et al). Genomewide Linkage Analysis of Weight Change in the Framingham Heart Study. J. Clin. Endocrinol. Metab. 2005; 15: 3197-1.
9. Чистяков Д.А. Полиморфизм гена сосудистого рецептора ангиотензина II и сердечно-сосудистые заболевания. Тер. архив. 2001; 1: 27-0.
10. Kikuya M., Sugimoto K., Katsuya T. (et al). A/C1166 gene polymorphism of the angiotensin II type I receptor (ATI) and ambulatory blood pressure: the Ohasama Study. Hypertens. 2003; 26 (2): 141-5.
11. Papp F., Friedman A.L., Bereczki C. (et al). Renin-angiotensin gene polymorphism in children with uremia and essential hypertension. Pediatr. Nefrol. 2003; 18 (2): 150-4.
12. Giner V., Poch E., Bragulat E. (et al). Renin-angiotensin system genetic polymorphisms and salt sensitivity in essential hypertension Hypertension. 2000; 35 (1): 512-17