ГЕНЕТИКА И ПРОТЕОМИКА

УДК 575.17(571.53)

Л.И. Колесникова, О.В. Калюжная, Л.В. Рычкова, А.С. Косовцева, О.А. Ершова, Т.В. Мандзяк, Т.А. Баирова

ГЕН АПОЛИПОПРОТЕИНА-В И ЕГО РОЛЬ В ФОРМИРОВАНИИ ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», Иркутск, Россия

В работе изучена распространенность генотипов и аллелей инсерционно-делеционного полимофизма гена ApoB (Ins/Del, rs17240441*) в группе русских подростков с эссенциальной артериальной гипертензией, в сравнении с группой здоровых подростков. В обеих группах наиболее частым генотипом был гетерозиготный генотип Ins/Del, в группе с ЭАГ он составил 67,1 %, в группе контроля – 52,1%. Доля аллеля Del в группе с ЭАГ составила 47,9 %, что было статистически значимо выше, чем в группе сравнения – 30,1 % (p = 0,003).*

Ключевые слова: *аполипопротеин-В, генотип, русские, липиды, подростки*

APOLIPOPROTEIN-B GEN AND ITS ROLE IN FORMATION OF ESSENTIAL HYPERTENSION

L.N. Kolesnikova, O.V. Kalyuzhnaya, L.V. Rychkova, A.S. Kosovtseva, O.A. Yershova, T.V. Mandzyak, T.A. Bairova

Scientific Centre for the Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russia

For two groups of Russian teenagers the proportion of deletion (Del) allele of the apolipoprotein-B gene polymorphism (ApoB, Ins/Del, rs17240441) was studied. One group of 70 teenagers with essential hypertension, and the comparison group – 73 healthy teenagers. In both groups, the most common genotype was heterozygous genotype Ins/Del, in the group with essential hypertension it was 67,1 %, in the control group – 52,1 %. The frequency of Del allele in the group with essential hypertension was 47,9 %, which was significantly higher than in the comparison group – 30,1 % (p = 0,003). Thus, the high frequency of deletion allele in the studied group with hypertension indicates an increased risk of cardiovascular disease in this group in the future and has prognostic significance.

Key words: *apolipoprotein-B, genotype, the Russians, lipids, teenagers*

Эссенциальная артериальная гипертензия (ЭАГ) – это наиболее частое хроническое заболевание у взрослых, встречающееся у 20–30 % трудоспособного взрослого населения (ВОЗ). Истоки формирования АГ заложены в детском и подростковом возрасте [1]. Популяционные исследования показывают, что в России распространенность ЭАГ в детско-подростковом возрасте составляет от 2,4 до 18 %. Такой разброс обусловлен разницей в критериях исследовании и наблюдаемого возраста.

При формировании ЭАГ в подростковом возрасте высока значимость прогноза значимость риска дальнейшего прогрессирования заболевания и реализации хронической сердечно-сосудистой патологии [8, 18]. Так, согласно концепции сердечно-сосудистого континуума, основными факторами риска развития прогрессирования заболевания, приводящими к ремоделированию сердца являются артериальная гипертензия, диабет и дислипидемия. Несмотря на то, что развитие заболеваний может проходить по разным сценариям, их патогенетическая связь очевидна, а их сочетание имеет синтропный характер [4, 5].

Дислипидемия – это нарушение соотношения или повышение уровня липидов или липопротеинов крови. Самостоятельно дислипидемия не является заболеванием, но как основной фактор риска возникновения атеросклероза, хронического заболевания сосудов и нарушения кровообращения является предиктором возникновения ожирения и таких заболеваний сердечно-сосудистой системы, как ИБС, инфаркты и инсульты [7]. Полиморфные варианты генов белков липопротеинов крови приводят к увеличению общего холестерина и проатерогенных липопротеинов, непосредственно влияя на формирование дислипидемии [2, 3].

Аполипопротеин В-100 является основным компонентом атерогенных пептидов: липопротеинов низкой и очень низкой плотности (ЛПНП и ЛПОНП), а также хиломикронов, синтезируется в клетках печени. Ген, кодирующий белок длиной 43 тыс. оснований, расположен во второй хромосоме в районе 2p23-24 и включает в себя 29 экзонов и 28 интронов [9]. Изучен ряд полиморфизмов гена *ApoB*, связанных с дислипидемией и сердечно-сосудистыми заболеваниями. Одним из наиболее изученных и прогностически значимых полиморфизмов гена является инсерционно-делеционный полиморфизм (*Ins/Del*) гена ApoB (rs17240441). Это отсутствие или вставка 3 кодонов (Лей-Ала-Лей), 9 нуклеотидов в 5-концевой области сигнального пептида. Показана

ассоциация делеционного аллеля (*Del*) с уровнем ОХ, ТГ и ЛПНП [11, 14, 20] и с развитием коронарной болезни сердца и ишемической болезни сердца [14, 15].

Целью данного исследования являлось проведение сравнительного анализа распространенности аллелей инсерционно-делеционного полиморфизма гена *ApoB* в группе подростков с ЭАГ, в сравнении с группой здоровых подростков русской национальности, проживающих на территории Восточной Сибири.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 142 подростка возраста 12–17 лет русской национальности, проживающие на территории Восточной Сибири. В группу с диагнозом ЭАГ вошли 70 человек (42 мальчика и 28 девочек), контрольную группу (КГ) исследования составляли подростки I–II групп здоровья – 73 человека (44 мальчика и 29 девочек). Этническую принадлежность каждого подростка определяли методом анкетирования с учетом указаний на национальную принадлежность предков до третьего поколения. Все участники исследования, их родители (или опекуны) были информированы о научной направленности исследований и дали свое согласие на участие в совместной работе. В работе соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki 1964, ред. 2000).

Сопоставление подростков двух изучаемых групп представлено в таблице 1. Группы не имели статистически значимых отличий по полу и возрасту.

Для молекулярно-генетического исследования у каждого подростка из локтевой вены отбирали венозную кровь в вакуумные пробирки с 3%-й ЭДТА. Из полученных образцов крови выделяли геномную ДНК сорбентным методом при помощи набора «АмплиПрайм ДНК-сорб-В» производства ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора (Москва), согласно методике, прилагаемой к набору. Полученные образцы ДНК хранили при –20 °С. Генотипирование инсерционно-делеционного полиморфизма гена *ApoB* (I/D) проводили по методике, предложенной Peterlin (2006) [14]. Прямой и обратный праймеры имели следующие последовательности: 5'-CTCCTCAG-CCCCTCCATC-3' и 5'-GAGTGCCCTTCTCGGTTG-3'. ПЦР-продукт, содержащий инсерцию, имел длину 375 п. н., делецию 366 п. н. Электрофоретический анализ проводили в 3%-м агарозном геле с последующей окраской геля бромистым этидием.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программного обеспечения Microsoft Excel 2007, пакета прикладных программ Statistica 6.0. Распределение генотипов исследованных аллельных полиморфизмов генов проверяли на соответствие равновесию Харди – Вайнберга. Отклонение наблюдаемой гетерозиготности от ожидаемой (D) рассчитывали по формуле: D = (Но–Не) / Не, где Но – это наблюдаемая, а Не – ожидаемая гетерозиготность. Сравнения частот аллелей и генотипов между исследуемыми группами проводили с использованием критерия χ^2 Пирсона с поправкой Йетса на непрерывность, если значение хотя бы в одной ячейке таблицы сопряженности было меньше 5. Степень ассоциации (величину риска) аллеля с заболеванием оценивали по величине отношения шансов (OR), которая показывает, во сколько раз выше вероятность заболеть для носителей рискового аллеля.

$$OR = (A / B) / (C / D),$$

где: A – число носителей рискового аллеля в группе больных; B – число больных, не имеющих данного аллеля; C – число носителей рискового аллеля в контрольной группе; D – число не имеющих данного аллеля в контрольной группе. Величину OR оценивали следующим образом: OR > 1 – положительная ассоциация; OR < 1 – отрицательная ассоциация; OR = 1 – отсутствие ассоциации.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В двух группах подростков проведено генотипирование инсерционно-делеционного полиморфизма гена ApoB, частоты генотипов и аллелей представлены в таблице 1. В обеих выборках обнаружены все три из возможных генотипов гена: *Ins/Ins*, *Ins/Del* и *Del/Del*. В группе с ЭАГ наиболее частым являлся гетерозиготный генотип *Ins/Del*, обнаруженный у 47 человек (67,1 %), Ins/Ins генотип выявлен у 13 человек (18,6 %), гомозиготный по делеции *Del/Del* – у 10 человек (14,3 %). В группе контроля также чаще встречался гетерозиготный генотип *Ins/Del* – у 38 человек (52,1 %), гомозиготные генотипы *Ins/Ins* – у 32 человек (43,8 %), *Del/Del* – у 3 человек (4,1 %). При оценке соответствия распределения генотипов закону Харди – Вайнберга в группе с ЭАГ обнаружено статистически значимое увеличение доли гетерозиготных *Ins/Del* и генотипов гомозиготных по делеции *Del/Del* (p = 0,0039). Частота генотипов в контрольной группе соответствовала равновесию Харди – Вайнберга (p = 0,0830). При сравнении частоты генотипов между исследуемыми группами выявлены статистически значимые различия (p = 0,002).

Доля делеционной аллеля в группе с ЭАГ составила 47,9 %, что значимо выше, чем в группе контроля –

Таблица 1

Частота генотипов и аллелей Ins/Del гена ApoB в исследуемых группах

Группа	Генотипы			Аллели		*Соответствие закону Харди – Вайнберга*		
	Ins/Ins (%)	*Ins/Del* (%)	*Del/Del* (%)	*Ins* (%)	*Del* (%)	*p*	Не (%)	D
КГ (n = 73)	32 (43,8)	38 (52,1)	3 (4,1)	102 (69,9)	44 (30,1)	0,0830	41,42	0,207
ЭАГ (n = 70)	13 (18,6)	47 (67,1)	10 (14,3)	73 (52,1)	67 (47,9)	0,0039	49,91	0,345
	χ^2 = 12,687; df = 2; p = 0,002			χ^2 = 8,718; df = 1; p = 0,003				

Таблица 2

Распространенность аллеля Del полиморфного маркера Ins/Del гена ApoB в популяциях мира

Популяция	Выборка	Доля аллеля Del в %	Ссылка
Русские (КГ)	73	30,1	–
Американцы (европеоиды)	1112	32,0	[19]
Болгары	147	20,7*	[13]
Чехи	282	32,0	[14]
Немцы	509	28,0	[10]
Англичане	147	59,0*	[20]
Сербы	245	43,7*	[17]
Корейцы	216	38,0	[12]
Китайцы	288	20,7*	[16]
Нигерийцы	795	22,6*	[6]

Примечание: * – отмечены значимые отличия ($p < 0,05$), в сравнении с нашими данными.

30,1 % ($p = 0,003$). Величина отношения шансов OR для аллеля Del составила 2,13 (95% CI: 1,274–3,56; $p = 0,002$).

При сравнении распространенности аллеля *Del* в контрольной группе (таблица 2) с изученными ранее популяционными выборками показано, что доля аллеля *Del* в контрольной группе значимо ниже, чем в выборках из Англии (59,0 %), Сербии (43,67 %), но значимо выше, чем в выборках популяций Китая (20,7 %), Нигерии (22,6 %) и Болгарии (20,7 %).

Данные о высокой частоте встречаемости генотипа *Del/Del* и аллеля *Del* в группе пациентов с ЭАГ, по сравнению с контрольной группой, согласуется с полученными ранее данными Gardemann et al., где показано увеличение частоты аллеля *Del* в группе с инфарктом миокарда, а также увеличение содержание аполипопротеина-В в крови у носителей генотипа *Del/Del,* по сравнению с носителями генотипа *Ins/Ins* [10]. В работе Hansen показана ассоциация делеционной аллели с индексом массы тела, уровнем ОХ и аполипопротеина-В в выборке мужчин из Дании [11]. Также при исследовании выборки и 154 женщин из Чехии [14] обнаружено, что уровень ОХ, ЛПНП и аполипопротеина-В статистически значимо увеличивается у носителей генотипа *Del/Del*, по сравнению с носителями генотипов *Ins/Ins* и *Ins/Del.* Turner et al. на выборке европеоидов, включающей в себя группу с ранним инфарктом миокарда ($n = 682$) и контрольную группу ($n = 1312$), показали повышение уровня ОХ, ЛПНП и аполипопротеина-В у носителей аллеля *Del*, по сравнению с *Ins*, но не обнаружили ассоциацию с заболеванием [19].

Таким образом, высокая частота встречаемости аллеля *Del* гена *ApoB* у подростков с ЭАГ позволяет рассматривать ее как рисковую с возможной реализацией дислипидемии и нарушений проатерогенного характера с дальнейшим возникновением сердечно-сосудистых заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА
REFERENCES

1. Александров А.А. Повышенное артериальное давление в детском и подростковом возрасте (ювенильная артериальная гипертония) // Российский медицинский журнал. – 1997. – № 9. – С. 559–565.

Aleksandrov AA (1997). High blood pressure in childhood and adolescence (juvenile hypertension) [Povyshennoe arterial'noe davlenie v detskom i podrostkovom vozraste (juvenil'naja arterial'naja gipertonija)]. *Rosijskij medicinskij zhurnal*, 9, 559-565.

2. Баирова Т.А., Долгих В.В., Колесникова Л.И., Мункоева Д.М. Ген аполипопротеина А1 и его роль в развитии дислипидемии у пациентов разных этнических групп с эссенциальной артериальной гипертензией // Российский кардиологический журнал. – 2012. – № 6. – С. 19–23.

Bairova TA, Dolgikh VV, Kolesnikova LI, Munkoeva DM (2012). Apolipoprotein A1 gene and its role in the development of dyslipidemia in patients of different ethnic groups with essential hypertension [Gen apolipoproteina A1 i ego rol' v razvitii dislipidemii u pacientov raznyh jetnicheskih grupp s jessencial'noj arterial'noj gipertenziej]. *Rossijskij kardiologicheskij zhurnal*, 6, 19-23.

3. Баирова Т.А., Калюжная О.В., Долгих В.В., Трухин А.А., Первушина О.А., Даренская М.А. Ассоциация полиморфных вариантов гена аполипопротеина А1 с показателями липидного спектра сыворотки крови у подростков Восточной Сибири // Бюл. экспериментальной биологии и медицины. – 2015. – № 2. – С. 267–272.

Bairova TA, Kalyuzhnaya OV, Dolgikh VV, Trukhin AA, Pervushina OA, Darenskaya MA, Kolesnikova LI, Kolesnikov SI (2015). Association of apolipoprotein A1 gene polymorphisms with serum lipid spectrum in adolescents in East Siberia [Associacija polimorfnyh variantov gena apolipoproteina A1 s pokazateljami lipidnogo spektra syvorotki krovi u podrostkov Vostochnoj Sibiri]. *Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny*, 2, 267-270.

4. Беленков Ю.Н., Мареев В.Ю. Сердечно-сосудистый континуум // Сердечная недостаточность. – 2002. – Т. 3, № 1. – С. 7–11.

Belenkov YN, Mareev VY (2002). Cardiovascular continuum [Serdechno-sosudistyj kontinuum]. *Serdechnaja nedostatochnost'*, 3 (1), 7-11.

5. Пузырев В.П., Макеева О.А., Голубенко М.В. Гены синтропий и сердечно-сосудистый континуум // Вестник ВОГиС. – 2006. – Т. 10, № 3. – С. 479–490.

Puzyrev VP, Makeyeva OA, Golubenko MV (2006). Genes of syntropias and cardiovascular continuum [Geny sintropij i serdechno-sosudistyj kontinuum]. *Vestnik VOGiS*, 10 (3), 479-490.

6. Anderson JL, Bunker CH, Aston CE, Kamboh MI (1997). Relationship of two apolipoprotein B polymorphisms with serum lipoprotein and lipid levels in African blacks. *Hum. Biol.*, 7 (6), 793-807.

7. Boudewijn K, Elte JWF, Cabezas MC (2013). Dyslipidemia in obesity: mechanisms and potential targets. *Nutrients*, 5, 1218-1240.

8. Dekkers JC, Treiber FA, Kapuku G, Snieder H (2003). Differential influence of family history of hypertension and premature myocardial infarction on systolic blood pressure and left ventricular mass trajectories in youth. *Pediatrics*, 6, 1387-1393.

9. Futterman LG, Lemberg L (1998). Fifty percent of patients with coronary artery disease do not have any of the conventional risk factors. *Am. J. Crit. Care*, 3, 240-244.

10. Gardemann A, Ohly D, Fink M, Katz N, Tillmanns H, Hehrlein FW, Haberbosch W (1998). Association of the insertion/deletion gene polymorphism of the apolipoprotein B signal peptide with myocardial infarction. *Atherosclerosis*, 141, 167-175.

11. Hansen PS, Gerdes LU, Klausen IC, Gregersen N, Faergeman O (1993). Polymorphisms in the apolipoprotein B-100 gene contributes to normal variation in plasma lipids in 464 Danish men born in 1948. *Hum. Genet.*, 91, 45-50.

12. Hong SH, Song J, Kim JK (2001). The haplotype analyses using multiple markers of the apolipoprotein B gene in patients with coronary artery disease. *J. Korean Med. Sci.*, 16, 719-724.

13. Horvath A, Chorbov V, Zaharova B, Ganev V (2003). Five polymorphisms of the Apolipoprotein B gene in healthy Bulgarians. *Hum. Biol.*, 1, 69-80.

14. Hubacek JA, Waterworth DM, Poledne R, Pitha J, Skodová Z, Humphries SE, Talmud PJ (2001). Genetic determination of plasma lipids and insulin in the Czech population. *Clinical Biochemistry*, 34, 113-118.

15. Peacock R, Dunning A, Hamsten A, Tornvall P, Humphries S, Talmud P (1992). Apolipoprotein B gene polymorphisms, lipoproteins and coronary atherosclerosis: a study of young myocardial infarction survivors and healthy population-based individuals. *Atherosclerosis*, 2-3, 151-164.

16. Saha N, Tong MC, Tay JSH, Jeyaseelan K, Humphries SE (1992). DNA polymorphisms of the apolipoprotein B gene in the Chinese coronary artery disease patients. *Clin. Genet.*, 42, 164-170.

17. Stankovic A, Stankovic S, Jovanovic-Markovic Z, Zivkovic M., Djuric T, Glisic- Milosavljevic S, Alavantic D (2007). Apolipoprotein B gene polymorphisms in patients from Serbia with ischemic cerebrovascular disease. *Arch. Biol. Sci.*, 4, 303-309.

18. Sun SS, Grave GD, Siervogel RM, Pickoff AA, Arslanian SS, Daniels SR (2007). Systolic blood pressure in childhood predicts hypertension and metabolic syndrome later in life. *Pediatrics*, 2, 237-246.

19. Turner PR, Turner PJ, Talmudb S, Visvikis S, Ehnholm C, Tiret L (1995). DNA polymorphisms of the apoprotein B gene are associated with altered plasma lipoprotein concentrations but not with perceived risk of cardiovascular disease: European atherosclerosis research study. *Atherosclerosis*, 116, 221-234.

20. Vimaleswaran KS, Minihane AM, Li Y, Gill R, Lovegrove JA, Williams CM, Jackson KG (2015). The APOB insertion/deletion polymorphism (rs17240441) influences postprandial lipaemia in healthy adults. *Nutrition & Metabolism*, 7, 1-6.

Сведения об авторах
Information about the authors

Колесникова Любовь Ильинична – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, научный руководитель ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664000, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: 8 (3952) 20-76-36)
Kolesnikova Lyubov Ilinichna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Corresponding Member of RAS, Scientific Supervisor of Scientific Centre for the Family Health and Human Reproduction Problems (664000, Irkutsk, ul. Timiryazeva, 16; tel: +7 (3952) 20-76-36)

Калюжная Ольга Викторовна – младший научный сотрудник лаборатории персонализированной медицины ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: kaluzhnayao@yandex.ru)
Kalyzhnaya Olga Viktorovna – Junior Research Officer of the Laboratory of Personalized Medicine of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: KaluzhnayaO@yandex.ru)

Рычкова Любовь Владимировна – доктор медицинских наук, врио директора ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»
Rychkova Lyubov Vladimirovna – Doctor of Medical Sciences, Acting Director of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems

Косовцева Арюна Сергеевна – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории психонейросоматической патологии детского возраста ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»
Kosovtseva Aryuna Sergeevna – Candidate of Biological Sciences, Junior Research Officer of the Laboratory Psychoneurosomatic Pathologies of Children of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems

Ершова Оксана Александровна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории персонализированной медицины ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»
Yershova Oksana Alexandrovna – Candidate of Biological Sciences, Research Officer of the Laboratory of Personalized Medicine of Scientific Centre for the Family Health and Human Reproduction Problems

Мандзяк Тамара Вальтеровна – кандидат медицинских наук, заведующая отделением педиатрии клиники ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»
Mandzyak Tamara Valterovna – Candidate of Medical Sciences, Head of the Unit of Pediatrics Clinic of Scientific Centre for the Family Health and Human Reproduction Problems

Баирова Татьяна Ананьевна – доктор медицинских наук, заместитель директора по научной работе ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»
Bairova Tatyana Ananyevna – Doctor of Medical Sciences, Deputy Director for Scientific Work of Scientific Centre for the Family Health and Human Reproduction Problems