

Г.И. Бишарова, В.В. Долгих, Т.А. Чупрова, Ф.Ф. Антоненко

ОЦЕНКА РАСПРОСТРАНЕННОСТИ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ГЕНОТИПОВ И ПОЛИМОРФНЫХ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У ДЕТЕЙ С ЭНДЕМИЧЕСКИМ ЗОБОМ В ЗАБАЙКАЛЬСКОМ КРАЕ

Читинский филиал ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН (Чита)

Работа посвящена изучению распространенности генотипов и полиморфных аллелей генов-кандидатов артериальной гипертензии у детей с эндемическим зобом (ЭЗ) в Забайкальском крае. Для выявления частоты встречаемости неблагоприятных генотипов и аллелей полиморфизмов Gly16Arg ADRB2, Gln27Glu ADRB2 и Thr174Met гена AGT, как факторов риска развития артериальной гипертензии, было обследовано 194 ребенка в возрасте 7–11 лет с установленным диагнозом эндемический зоб. Контрольную группу составили 102 здоровых ребенка. Частота мутантного аллеля 16Gly генотипа Gly16Arg, связанного с повышенным агонист-индуцированным подавлением β 2-адренорецепторов, не была выше (63,2 %), чем в группе здоровых детей (60,3 %) ($p(\chi^2) > 0,05$). Частота встречаемости аллеля Arg16, определяющего большей степенью сосудорасширяющий эффект, составила 39,7 % и 36,8 % соответственно ($p(\chi^2) > 0,05$). Частотные характеристики аллелей генотипа Gln27Glu в I группе были следующие: дикий тип 27Glu – 41 %, мутантный аллель Gln27 – 59 %, в группе контроля 42,2 % ($p(\chi^2) > 0,05$) и 57,8 % ($p(\chi^2) > 0,05$) соответственно. Частота дикого типа Thr174 генотипа Thr174Met составила 85,3 % в I группе и 86,2 % в группе контроля ($p(\chi^2) > 0,05$) частота встречаемости мутантного аллеля 174Met 14,7 % в группе детей с диффузным нетоксическим зобом и 13,8 % у здоровых детей соответственно ($p(\chi^2) > 0,05$). Значимых различий по распределению генотипов и аллелей между группами не выявлено, а частотные характеристики были сопоставимы с распространенностью в популяции и данными других авторов. Распределение генотипов и частот аллелей гена Gly16Arg и Gln27Glu ADRB2, Thr174Met гена AGT в обеих группах соответствовало ожидаемому согласно равновесию Харди-Вайнберга в популяционной выборке. Результаты, полученные в ходе молекулярно-генетического исследования, позволили сделать вывод, что полиморфизмы Gly16Arg ADRB2, Gln27Glu ADRB2 и Thr174Met гена AGT не являются факторами риска развития артериальной гипертензии у детей с эндемическим зобом.

Ключевые слова: дети, генетический полиморфизм, артериальная гипертензия

ESTIMATION OF PREVALENCE OF ADVERSE GENOTYPES AND POLYMORPHIC ALLELES OF GENES-CANDIDATES OF ARTERIAL HYPERTENSION IN CHILDREN WITH ENDEMIC GOITER IN ZABAYKALSKY KRAI

G.I. Bisharova, V.V. Dolgikh, T.A. Chuprova

Chita Branch of Scientific Center of Family Health and Human Reproduction Problems SB RAMS, Chita

This study is devoted to study the prevalence of genotypes and polymorphic alleles of genes-candidates of arterial hypertension in children with endemic goiter (EZ) in the Zabaykalsky Krai. To identify the frequency of occurrence of adverse genotypes and alleles polymorphisms Gly16Arg ADRB2, Gln27Glu ADRB2 and Thr174Met gene AGT, as factors of risk of development of arterial hypertension, were examined 194 children aged 7–11 years with a diagnosis of endemic goiter. The frequency of mutant allele 16Gly genotype Gly16Arg associated with increased agonist-induced suppression of beta-2 adrenergic receptors has not been above (63,2 %) than in the group of healthy children (60,3 %) ($p(\chi^2) > 0.05$). The frequency of allele Arg16 defining a greater degree of vasodilating effect, was 39.7 % and 36.8 %, respectively ($p(\chi^2) > 0.05$). The frequency characteristics of alleles genotype Gln27Glu in group I were the following: wild type 27Glu – 41 %, the mutant allele Gln27 – 59 %, in the control group 42,2 % ($p(\chi^2) > 0.05$) and 57.8 % ($p(\chi^2) > 0.05$) respectively. The frequency of wild-type Thr174 genotype Thr174Met accounted for 85.3 % in group I and 86.2 % in the control group ($p(\chi^2) > 0.05$) and the frequency of occurrence of the mutated allele 174Met 14.7 % in the group of children with diffuse nontoxic goiter and 13.8 % in healthy children, respectively ($p(\chi^2) > 0.05$). Significant differences in the distribution of genotypes and alleles between groups are not identified, and the frequency characteristics were comparable with the prevalence in the population and the results of other authors. The distribution of genotypes and frequency of alleles of a gene Gly16Arg and Gln27Glu ADRB2, Thr174Met gene AGT in both groups corresponded to the expected according to the Hardy-Weinberg equilibrium in the population sample. The results obtained in the course of molecular-genetic study led to the conclusion that polymorphisms Gly16Arg ADRB2, Gln27Glu ADRB2 and Thr174Met gene AGT are not factors of risk of development of arterial hypertension in children with endemic goiter.

Key words: children, genetic polymorphism, arterial hypertension

Сердечно-сосудистые заболевания, в том числе эссенциальная артериальная гипертензия (ЭАГ), по-прежнему остаются основной проблемой в медицине развитых стран мира в связи с высокой заболеваемостью, инвалидизацией и смертностью. По данным массовых обследований ЭАГ у детей выявляется с частотой 2,4–18 % [1], имеет множественные факторы риска, включая и семейную историю гипертензии

[2]. Следует отметить, что последние годы у лиц молодого возраста существенно возрастает распространенность субклинических нарушений функции щитовидной железы, при которых, по данным многих исследований, повышен риск развития сердечно-сосудистой патологии и смертности от нее [7, 12]. Данная нозологическая синтропия является малоизученной по своим ключевым механизмам, которые связаны

с нарушением работы системы нейроэндокринной регуляции в организме ребенка, в основе которого лежит запуск на генетическом уровне молекулярных патологических путей в клетке.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для выявления частоты встречаемости неблагоприятных генотипов и аллелей полиморфизмов Gly16Arg ADRB2, Gln27Glu ADRB2 и Thr174Met гена AGT, как факторов риска развития артериальной гипертензии, было обследовано 194 ребенка в возрасте 7–11 лет с установленным диагнозом ЭЗ 1-й степени. Контрольную группу составили 102 здоровых ребенка. Генетическое исследование проводилось методом ПЦР на амплификаторах IQ5 (BioRad, США) и RotorGeneQ (Германия). Выделение ДНК осуществлялось при помощи набора реагентов для биологических проб ДНК-ЭКСТРАН-1 (НПФ «Синтол», Россия, Москва). Выявление мутаций проводилось методом ПЦР с аллель-специфичными праймерами «SNP-экспресс-PB» (НПФ «Синтол», Россия, Москва). С образцом выделенной ДНК параллельно проводились две реакции амплификации – с двумя парами аллельспецифичных праймеров. Результаты анализа позволили дать три типа заключений: нормальная гомозигота, гетерозигота, мутантная гомозигота.

Родители всех детей, перед включением их в данное исследование, подписывали информированное согласие на участие в исследовании в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации последнего пересмотра (Сеул, октябрь 2008).

Полученные данные статистически обработаны с помощью пакета статистических программ Excel 2007, Statistica-6 и определением статистической значимости различий при уровне достоверности $p(\chi^2) < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ

Среди генетических факторов [5], выбранных нами для изучения большое количество исследований посвящено генетическим полиморфизмам Arg16Gly и Gln27Glu симпатических β2-адренорецепторов (ADRB2) в качестве генов кандидатов артериальной гипертензии, учитывая роль β2-адренорецепторов в вазодилиатирующей физиологической регуляции АД, а их полиморфизмов – в модулировании десенситизации этих рецепторов и, соответственно, изменения вазодилатации [11]; а также ассоциированный с риском развития эссенциальной гипертензии, полиморфизм Thr174Met гена AGT, кодирующего аминокислотную последовательность белковой молекулы ангиотензиногена [9].

Однако некоторые результаты проведенных исследований на больших этнических популяциях в Европе, Америке, Японии по выявлению ассоциации достаточно противоречивы и не дают однозначного ответа о наличии ассоциации изучаемых полиморфизмов и артериальной гипертензии [10]. По мнению большинства авторов, частично это может быть объяснено этническими различиями, популяционно-специфической ролью определенной аллели, различными взаимодействиями гена с факторами окружающей среды [5].

В нашей работе при исследовании распределения частот аллелей и генотипов Arg16Gly и Gln27Glu ADRB2, Thr174Met гена AGT в группах пациентов с эндемическим зобом и здоровых детей различий получено не было. Распределение генотипов и частот аллелей гена Gly16Arg и Gln27Glu ADRB2, Thr174Met гена AGT в обеих группах соответствовало ожидаемому согласно равновесию Харди-Вайнберга в популяционной выборке.

В результате проведенного молекулярно-генетического исследования полиморфизма Arg16Gly ADRB2 генотип Arg16Arg в I и II был определен у 29 (15 %) и 15 (14,7 %) ($\chi^2 = 0,003$, $df = 1$, $p > 0,05$), генотип Arg16Gly – у 85 (43,8 %) и 51 (50 %) обследованных соответственно ($\chi^2 = 1,05$, $df = 1$, $p > 0,05$). Гомозиготный вариант Gly16Gly был обнаружен у 80 (41,2 %) детей из I группы и у 36 (35,3 %) из II группы соответственно ($\chi^2 = 0,97$, $df = 1$, $p > 0,05$). Частота мутантного аллеля 16Gly, связанного с повышенным агонистиндуцированным подавлением β2-адренорецепторов [6], не была выше (63,2 %), чем в группе здоровых детей (60,3 %) ($\chi^2 = 0,45$, $df = 1$, $p > 0,05$). Таким образом, частота встречаемости аллеля Arg16, определяющего в большей степени сосудорасширяющий эффект [6], составила 39,7 % и 36,8 % соответственно ($\chi^2 = 0,46$, $df = 1$, $p > 0,05$).

Гетерозиготная форма полиморфизма Gln27Glu ADRB2, при котором отмечается высокая частота артериальной гипертензии некоторыми авторами [8], составила 45 % в группе детей с эндемическим зобом и у 47 % здоровых детей ($\chi^2 = 0,13$, $df = 1$, $p > 0,05$). Гомозиготный тип Gln27Gln, ассоциируемый с низкой активностью β2-адренорецепторов сосудов, наблюдался у 36,4 % и 34,3 % детей соответственно ($\chi^2 = 0,15$, $df = 1$, $p > 0,05$). Гомозиготный вариант Glu27Glu был обнаружен у 18,6 % детей I группы и у 18,7 % группы контроля ($p > 0,05$). Частотные характеристики аллелей в I группе были следующие: дикий тип 27Glu – 41 %, мутантный аллель Gln27 – 59 %, в группе контроля 42,2 % ($\chi^2 = 0,07$, $df = 1$, $p > 0,05$) и 57,8 % ($\chi^2 = 0,002$, $df = 1$, $p > 0,05$) соответственно.

Частотные характеристики распространенности в группах не превышали распространенность в популяции и были сопоставимы с результатами других исследований. Среди здоровых молодых кавказцев было выявлено распределение аллелей гена ADRB2 вариантов Arg16Gly и Glu27Gln как 60 %/40 % и 45 %/55 % соответственно [6]. В турецкой популяции распределение вариантов рассматриваемых генов у здоровых лиц составило 59,6 %/40,4 % по варианту Arg16Gly, но значительно отличалось маркером Glu27Gln – 31,7 %/68,3 % соответственно [4].

Вариант Thr174Thr в I и II группе был зарегистрирован у 140 (72,2 %) и 76 (74,5 %) детей ($\chi^2 = 0,19$, $df = 1$, $p > 0,05$), генотип Thr174Met у 51 (26,3 %) и 24 (23, % %) обследованных ($\chi^2 = 0,26$, $df = 1$, $p > 0,05$) соответственно. Необходимо отметить, что распространенность гетерозиготного варианта полиморфизма Thr174Met, указывающего на высокую частоту артериальной гипертензии, встречалась у четверти детей обеих групп и была выше в 1,8 раза, чем его распространенность в российской популяции.

Гомозиготный генотип Met174Met, ассоциированный с артериальной гипертензией, был определен у 3 (1,5 %) детей в группе пациентов с ЭЗ и у 2 (2 %) детей контрольной группы ($\chi^2 = 0,069$, $df = 1$, $p > 0,05$). Частота дикого типа Thr174 составила 85,3 % в I группе и 86,2 % в группе контроля ($\chi^2 = 0,1$, $df = 1$, $p > 0,05$), частота встречаемости мутантного аллеля 174Met 14,7 % в группе детей с ЭЗ и 13,8 % у здоровых детей соответственно ($\chi^2 = 0,1$, $df = 1$, $p > 0,05$).

В результате типирования по полиморфизму Thr174Met гена AGT у людей в разных популяциях было выявлено, что мутационный аллель Thr174 встречается редко в европейских популяциях, при этом часто встречается в африканских и азиатских популяциях. Частота мутантного аллеля 174 Met гена AGT в различных популяциях варьирует от 12,2 % у европейцев до 98,4 % у африканцев [3].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, отсутствие различий в частоте встречаемости неблагоприятных генотипов и аллелей между исследуемыми группами свидетельствуют о том, что полиморфизмы Gly16Arg ADRB2, Gln27Glu ADRB2 и Thr174Met гена AGT не являются факторами риска развития артериальной гипертензии у детей с диффузным нетоксическим зобом. Однако распространенность гетерозиготного варианта полиморфизма Thr174Met, указывающего на высокую частоту артериальной гипертензии, встречалась у четверти детей обеих групп и была выше в 1,8 раза, чем его распространенность в российской популяции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Леонтьева И.В. Проблема артериальной гипертензии у детей и подростков // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2006. – № 5. – С. 7–18.
2. Нагорная Г.Ю., Сарвилина И.В. Генетические и протеомные основы прогнозирования возникновения артериальной гипертензии у детей с дискинезиями жел-

чевыводящих путей // Молекулярная диагностика: сб. трудов. – Т. 3. – М.: Киселева Н.В., 2010. – 464 с.

3. Нгуен Тхи Чанг. Исследование ассоциации T174M и M235T гена ангиотензиногена с ишемической болезнью сердца в ростовской популяции // Медицинские науки. – 2010. – № 3. – С. 114–121.

4. Aynacioglu A.S., Cascorbi I., Güngör K. et al. Population frequency, mutation linkage and analytical methodology for the Arg16Gly, Gln27Glu and Thr164Ile polymorphisms in the β_2 -adrenergic receptor among Turks // Br. J. Clin. Pharmacol. – 1999. – Vol. 48(5). – P. 761–764.

5. Brodde O-E. Beta-1 and beta-2 adrenoceptor polymorphisms: functional importance, implication cardiovascular diseases and drug responses // Pharmacol. Ther. – 2008. – Vol. 117. – P. 1–29.

6. Gratz G., Fortin J., Labugger R., Binder A. et al. β -2 Adrenergic Receptor Variants Affect Resting Blood Pressure and Agonist-Induced Vasodilation in Young Adult Caucasians // Hypertension. – 1999. – Vol. 33. – P. 1425–1430.

7. Iqbal A., Schirmer H., Lunde P. et al. Thyroid Stimulating Hormone and Left Ventricular Function // J. Clin. Endocrin. Metabolism. – 2007. – Vol. 92, N 93. – P. 504–510.

8. Iwamoto Y., Ohishi M., Yuan M. et al. β -Adrenergic receptor gene polymorphism is a genetic risk factor for cardiovascular disease: a cohort study with hypertensive patients // Hypertens Res. – 2011. – Vol. 34(5). – P. 573–577.

9. Papp F., Friedman A.L., Bereczki C. et al. Renin-angiotensin gene polymorphism in children with uremia and essential hypertension // Pediatr. Nephrol. – 2003. – Vol. 18. – P. 150–154.

10. Pereira A.C., Floriano M.S., Mota G.F. et al. β_2 -adrenoceptor functional gene variants, obesity, and blood pressure level interactions in the general population // Hypertension. – 2003. – Vol. 42. – P. 685–692.

11. Puddu P. The genetic basis of essential hypertension // Acta Cardiol. – 2007. – Vol. 62. – P. 281.

12. Stagnaro-Green A., Abalovich M., Alexander E. et al. Guidelines of the American Thyroid Association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and postpartum // Thyroid. – 2011. – Vol. 21. – P. 1081–1125.

Сведения об авторах

Бишарова Галина Ивановна – доктор медицинских наук, профессор, главный врач Читинского филиала ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН (672038, г. Чита, ул. Ленинградская, 104; e-mail: nii_pediatri@mail.ru)

Долгих Владимир Валентинович – доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной работе ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)

Чупрова Татьяна Александровна – врач-невролог Читинского филиала ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН (672038, г. Чита, ул. Ленинградская, 104; e-mail: nii_pediatri@mail.ru)

Антоненко Федор Федорович – член-корр. РАМН, доктор медицинских наук, профессор, начальник медицинского отдела развития ЗАО «ГК «Медси» (123056, г. Москва, Грузинский переулок, д. 3-А, стр. 1; тел.: +7 (495) 737-07-22, # 137; +7 (906) 051-36-56)