

Л.И. Колесникова¹, В.В. Долгих¹, Е.В. Беляева¹, Т.А. Астахова¹, В.В. Альбот²**ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА РЕЦЕПТОРА 1-ГО ТИПА К АНГИОТЕНЗИНУ II У ДЕТЕЙ С СИМПТОМАТИЧЕСКОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ**¹ ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН (Иркутск)² ГБУЗ «Иркутская государственная областная детская клиническая больница» (Иркутск)

В статье представлены результаты генотипирования образцов крови детей с гломерулонефритом и врожденными аномалиями развития мочевыделительной системы, имеющих различный уровень артериального давления, на носительство генотипов и аллелей по A1166C-полиморфизму гена AGTR1 методом полимеразной цепной реакции. Сравнительный частотный анализ не выявил статистически значимых различий ни по частоте встречаемости генотипов ($\chi^2 = 3,74$; $df = 5$; $p = 0,39$), ни по частоте встречаемости аллелей ($\chi^2 = 4,28$; $df = 5$; $p = 0,31$). Таким образом, ассоциации данного полиморфизма с симптоматической артериальной гипертензией не обнаружено.

Ключевые слова: симптоматическая артериальная гипертензия, ген рецептора 1-го типа к ангиотензину II (AGTR1)

POLYMORPHISM OF ANGIOTENSIN II ALFA-GENE OF THE 1ST TYPE IN CHILDREN WITH SECONDARY HYPERTENSIONL.I. Kolesnikova¹, V.V. Dolgikh¹, E.V. Belyaeva¹, T.A. Astakhova¹, V.V. Albot²¹ Scientific Center of Family Health Problems and Human Reproduction SB RAMS, Irkutsk)² Irkutsk State Regional Children's Clinical Hospital, Irkutsk)

The article presents the results of genetic typing of blood samples of children with glomerulonephritis and congenital abnormalities of the urinary system with different levels of blood pressure by A1166C-polymorphism of gene AGTR1 by the method of polymerase chain reaction. Comparative frequency analysis of genotypes ($\chi^2 = 3,74$; $df = 5$; $p = 0,39$) and alleles degrees of incidence ($\chi^2 = 4,28$; $df = 5$; $p = 0,31$) did not reveal statistically significant differences. Consequently, association of this polymorphism with secondary hypertension wasn't detected.

Key words: secondary hypertension, AGTR1 gene

В структуре вторичной артериальной гипертензии у детей на долю ренальной артериальной гипертензии приходится 70–80 % [2]. Чем младше ребенок, тем вероятнее, что причиной артериальной гипертензии является патология органов мочевыделительной системы [4]. В свою очередь заболевания почек являются наиболее частой причиной формирования вторичной артериальной гипертензии, которая определяет неблагоприятный прогноз основного заболевания [7].

В настоящее время артериальную гипертензию относят к мультифакториальным заболеваниям с участием большого числа генов, взаимодействующих с большим количеством внешних средовых факторов [8]. Известно, что главным регулятором сосудистого тонуса и уровня артериального давления является ренин-ангиотензиновая система, ферменты которой связаны последовательными реакциями [3]. В настоящее время структурные полиморфизмы генов ренин-ангиотензиновой системы активно изучаются [9, 11, 14]. Одним из таких генов является ген рецептора 1-го типа к ангиотензиногену II AGTR1.

Ген AGTR1 локализуется на длинном плече 3-й хромосомы (3g21-25). Известно около 20 полиморфизмов гена AGTR1. Наиболее изученным является A1166C полиморфизм. При изучении структурного состояния этого гена было обнаружено, что в 3'-нетранслируемой области в 1166-м положении возможна точечная замена азотистого основания аденина (аллель A) на цитозин (аллель C). Данный

полиморфизм связан с функциональной активностью ангиотензиногена. Наличие C-аллеля приводит к повышенной экспрессии гена и образованию большего количества рецепторов. Продуктом AGTR1 гена является соответствующий фермент, который связывает ангиотензин II и передает сигналы вазоконстрикции и пролиферации гладкомышечным клеткам, а именно: стимулирует синтез и секрецию альдостерона, снижает почечный кровоток, стимулирует высвобождение вазопрессина и тормозит образование ренина. В исследованиях, которые проводились в Англии, Голландии и Польши, была обнаружена ассоциация C/C генотипа гена AGTR1 с предрасположенностью к артериальной гипертензии [10, 12, 13]. Показано, что у носителей функционально ослабленного аллеля C повышен риск формирования эссенциальной артериальной гипертензии, однако данные о вкладе A1166C полиморфизма гена AGTR1 в формирование вторичной артериальной гипертензии малочисленны, что явилось основанием для проведения нашего исследования [5].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Группу исследования составил 131 ребенок с болезнями почек и различным уровнем артериального давления, пациент отделения нефрологии Иркутской государственной областной детской клинической больницы. В группе детей с гломерулонефритом 35 детей имели симптоматическую артериальную гипертензию и 26 были без гипертензии. В группе детей

с врожденными аномалиями развития мочевыделительной системы 40 детей имели симптоматическую артериальную гипертензию и 30 были без гипертензии. Для подтверждения артериальной гипертензии детям проводился суточный мониторинг артериального давления с помощью монитора суточного автоматического измерения артериального давления BPLab (ООО «Петр Телегин», Россия). Контрольную группу составили 48 практически здоровых детей без артериальной гипертензии и без патологии почек. Сравнимые группы детей сопоставимы по полу и возрасту.

Материалом для исследования *A1166C* полиморфизма гена рецептора 1-го типа к ангиотензину II служила ДНК, выделенная из образцов венозной крови, смешанной с антикоагулянтном. Для выделения ДНК использовали наборы реагентов «ДНК-сорб-В» (изготовитель – ФГУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии», Россия). Для исследования *A1166C* полиморфизма гена *AGTR1* амплификацию участков ДНК с последующей рестрикцией проводили методом полимеразной цепной реакции в автоматическом программируемом термоциклере («Терцик», Россия) с использованием диагностических наборов ООО «Центр молекулярной генетики» (Россия). Детекцию результатов ПЦР/ПДРФ-анализа проводили в 7% акриламидном геле (сток-раствор акриламид/бисакриламид 29 : 1). Результаты электрофореза анализировали в проходящем УФ-свете на приборе для визуализации и фотодокументирования электрофоретических гелей «GelDoc» («BioRad», USA).

Статистическая обработка полученных в ходе исследования данных проводилась на персональном компьютере с помощью программы Excel и пакета прикладных программ Biostat и STATISTICA, версия 6.1 (StatSoft Inc., США) (правообладатель лицензии ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН). При анализе частотного распределения полиморфизмов генов все группы детей проверяли на соответствие фактического распреде-

ления генотипов частотам аллелей, исходя из закона генетического равновесия Харди – Вайнберга. При анализе различий между группами по качественным признакам использовали критерий χ^2 . Для оценки разницы долей использовали z-критерий. Различия между группами считали статистически значимыми при уровне значимости 5 % ($p < 0,05$).

В работе с группами детей и подростков соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki (1964, 2000, ред.)). Работу проводили с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности в соответствии с «Основами законодательства РФ об охране здоровья граждан» (Указ Президента РФ от 24.12.1993 № 2288).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нами были исследованы частоты аллелей и генотипов *A1166C* полиморфизма гена рецептора 1-го типа к ангиотензину II *AGTR1* в группах детей с гломерулонефритом и врожденными аномалиями развития мочевыделительной системы, имеющих различный уровень артериального давления (рис. 1). Проверка на соответствие фактического распределения генотипов ожидаемому распределению выявила, что равновесие Харди – Вайнберга соблюдается во всех исследованных группах, за исключением группы детей с врожденными аномалиями развития мочевыделительной системы без гипертензии ($\chi^2 = 4,28$; $df = 1$; $p < 0,05$).

Отклонение частот генотипов от равновесия Харди – Вайнберга в этой группе детей вызвано избытком носителей гомозиготных генотипов. Так, наблюдаемая и ожидаемая частота носителей *AA*-генотипа составляет 63,3 % и 56,2 % соответственно, наблюдаемая и ожидаемая частота носителей *CC*-генотипа – 13,3 % и 6,2 % соответственно. Уровень наблюдаемой гетерозиготности (23,3 %) ниже ожидаемой (37,5 %).

Частота встречаемости трех возможных генотипов – двух гомозиготных и гетерозиготного – распре-

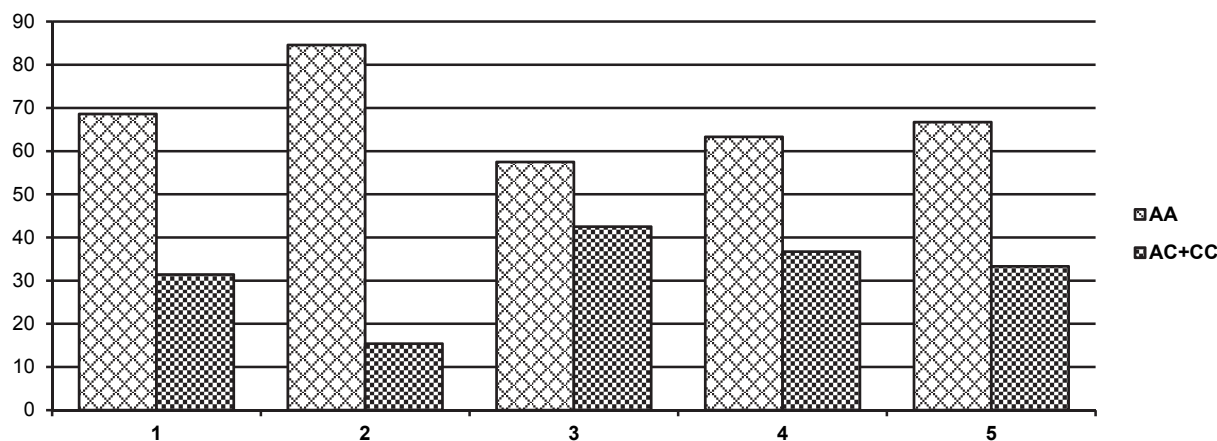


Рис. 1. Частота встречаемости генотипов *AGTR1*-гена в группах детей: 1 – группа с гломерулонефритом и артериальной гипертензией; 2 – группа с гломерулонефритом без артериальной гипертензии; 3 – группа с врожденными аномалиями развития мочевыделительной системы и артериальной гипертензией; 4 – группа с врожденными аномалиями развития мочевыделительной системы без артериальной гипертензии; 5 – группа контроля.

делилась таким образом, что во всех группах детей преобладают носители гомозиготного АА-генотипа. Носители другого гомозиготного СС-генотипа в трех выборках детей наблюдались в единичных случаях, а в группе детей с гломерулонефритом без гипертензии и в группе детей с врожденными аномалиями развития мочевыделительной системы и артериальной гипертензией отсутствовали. Поэтому носители гетерозиготного АС- и гомозиготного СС-генотипов были объединены в общую группу, т.к. и в том, и в другом присутствует функционально ослабленный С-аллель.

Сравнительный частотный анализ по А1166С-полиморфизму *AGTR1*-гена в исследованных группах детей не выявил статистически значимых различий ни по частоте встречаемости генотипов ($\chi^2 = 3,74$; $df = 5$; $p = 0,39$), ни по частоте встречаемости аллелей ($\chi^2 = 4,28$; $df = 5$; $p = 0,31$). Так, совокупная частота генотипов, содержащих функционально ослабленный С-аллель в группах детей с гломерулонефритом: с артериальной гипертензией и без неё – 31,4 %, и 15,4 %; в группах детей с врожденными аномалиями развития мочевыделительной системы: с артериальной гипертензией и без неё – 42,5 % и 36,7 %. Частота С-аллеля в группах детей с гломерулонефритом: с артериальной гипертензией и без неё – 17,1 % и 7,7 %; в группах детей с врожденными аномалиями развития мочевыделительной системы: с артериальной гипертензией и без неё – 21,2 % и 25 %. В сравниваемых группах детей наибольшие различия по частоте генотипов и аллелей получены между группами детей с гломерулонефритом. В группе с артериальной гипертензией частота носителей генотипов содержащих функционально ослабленный С-аллель более чем в 2 раза выше, а частота С-аллеля в 2,5 раза выше, по сравнению с группой детей без артериальной гипертензии. Тем не менее, различия между группами статистически не значимы как по частоте генотипов ($\chi^2 = 0,557$; $df = 1$; $p = 0,456$), так и по частоте аллелей ($\chi^2 = 0,132$; $df = 1$; $p = 0,716$).

Таким образом, согласно результатам нашего исследования, А1166С-полиморфизм гена рецептора 1-го типа к ангиотензину II *AGTR1* не имеет ассоциации с симптоматической артериальной гипертензией у детей с гломерулонефритом и врожденными аномалиями развития мочевыделительной системы. Наши результаты согласуются с данными других исследователей, которые при изучении А1166С-полиморфизма гена *AGTR1* у детей и подростков, проживающих в Санкт-Петербурге, не выявили ассоциации этого полиморфизма с первичной артериальной гипертензией [6]. При этом в исследованиях проведенных среди взрослых пациентов была показана ассоциация А1166С-полиморфизма гена *AGTR1* с артериальной гипертензией. Так, при изучении частоты встречаемости различных вариантов *AGTR1* гена у молодых мужчин с артериальной гипертензией, проживающих в Северо-Западном регионе России, обнаружено статистически значимое увеличение частоты генотипа СС и уменьшение доли лиц с генотипом АА, по сравнению с группой здоровых лиц. Кроме этого, распространенность С-аллеля среди пациентов с гипертензией была значимо выше. Это

позволило авторам исследования предположить, что генотип СС, как и носительство аллеля С, может рассматриваться в качестве независимого фактора риска формирования артериальной гипертензии у молодых мужчин [1]. Это находит подтверждение в зарубежных работах [15]. Возможно, отличие результатов об ассоциированности А1166С-полиморфизма гена *AGTR1* с артериальной гипертензией объясняется различной частотой функционально ослабленного С-аллеля в разных возрастных группах пациентов с артериальной гипертензией, т.к. значение данного полиморфизма в формировании артериальной гипертензии подтверждается только в исследованиях, которые проводились среди взрослого населения.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCE

1. Бойцов С.А. Молекулярная организация генов ангиотензин-превращающего фермента и рецепторов 1-го типа ангиотензина II и состояние региональной гемодинамики при артериальной гипертензии 1-й степени у молодых мужчин // Кардиология. – 2003. – № 5. – С. 37–41.
2. Boitsov S.A. Molecular organization of the genes of angiotensin-converting enzyme inhibitors and type 1 receptors of angiotensin II and state of regional hemodynamics at arterial hypertension of the 1st degree in young men // Cardiology. – 2003. – N 5. – P. 37–41. (in Russian)
3. Брызгунов И.П. Симптоматические артериальные гипертензии в практике педиатра. – М.: Медпрактика. – 2003. – 112 с.
4. Bryazgunov I.P. Secondary hypertension in pediatric practice. – M.: Medical Practice. – 2003. – 112 p. (in Russian)
5. Глотов А.С., Иващенко Т.Э., Образцова Г.И. и др. Зависимость между возникновением стабильной артериальной гипертензии у детей и полиморфизм генов ренин-ангиотензиновой и кинин-брадикининовой систем // Молекулярная биология. – 2007. – Т. 41, № 1. – С. 18–25.
6. Glotov A.S., Ivashchenko T.E., Obratsova G.I. et al. Dependence between the contraction of persistent hypertension in children and polymorphism of genes of the renin-angiotensin and kinin-bradykinin systems // Molecular Biology. – 2007. – Vol. 41, N 1. – P. 18–25. (in Russian)
7. Длин В.В., Игнатова М.С. Артериальная гипертензия ренального генеза у детей и подростков. Патогенез, диагностика и лечение. – М.: Оверлей, 2004. – 124 с.
8. Dlin V.V., Ignatova M.S. Arterial hypertension of renal genesis in children and adolescents. Pathogenesis, diagnostics and treatment. – M.: Overlay, 2004. – 124 p. (in Russian)
9. Колесникова Л.И., Долгих В.В., Беляева Е.В., Шенин В.А. и др. Роль А1166С полиморфизма гена *AGTR1* в реализации артериальной гипертензии у детей с гломерулонефритом // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2011. – № 3 (79), Ч. 2. – С. 21–23.
10. Kolesnikova L.I., Dolgikh V.V., Belyaeva E.V., Shenin V.A. et al. Role of A1166C polymorphism of

AGTR1 gene in realization of hypertension in children with glomerulonephritis // *Bul. ESSC SB RAMS*. – 2011. – Vol. 3 (79), P. 2. – P. 21–23. (in Russian)

6. Колобова О.Л. О гетерогенности маркеров риска развития первичной артериальной гипертензии у детей и подростков: дис. ... канд. мед. наук. – СПб., 2006. – 112 с.

Kolobova O.L. On the heterogeneity of markers of risk of primary hypertension development in children and adolescents: candidate's of medical sciences thesis. – Saint-Petersburg, 2006. – 112 p. (in Russian)

7. Мартынов А.И. Многофакторность артериальной гипертонии // *Клинич. геронтология*. – 2002. – № 2. – С. 3–6.

Martynov A.I. Multifactorial arterial hypertension // *Clinical Gerontology*. – 2002. – Vol. 2. – P. 3–6. (in Russian)

8. Пузырев В.П. Генетика артериальной гипертензии // *Клинич. медицина*. – 2003. – № 1. – С. 8–12.

Puzyrev V.P. Genetics of arterial hypertension // *Clinical Medicine*. – 2003. – Vol. 1. – P. 8–12. (in Russian)

9. Barbalic M., Sraric-Juric T., Cambien F. et al. Gene polymorphisms of the renin-angiotensin system and early development of hypertension // *Am. J. Hypertens.* – 2006. – Vol. 19. – P. 837–842.

10. Henskens L.H., Spiering W., Stoffers H.E. et al. Effects of ACE I/D and AT1R-A1166C polymorphisms

on blood pressure in a healthy normotensive primary care population: first results of the Hippocrates study // *J. Hypertens.* – 2003. – Vol. 21. – P. 81–86.

11. Jiang X., Sheng H., Li J. et al. Association between renin-angiotensin system gene polymorphism and essential hypertension: a community-based study // *J. Hum. Hypertens.* – 2009. – Vol. 23. – P. 176–181.

12. Jones A., Dhamrait S.S., Payne J.R. et al. Genetic variants of angiotensin II receptors and cardiovascular risk in hypertension // *Hypertension*. – 2003. – Vol. 42. – P. 500–506.

13. Nalogowska-Glosnicka K., Lacka B.I., Zychma M.J. et al. Angiotensin II type 1 receptor gene A1166C polymorphism is associated with the increased risk of pregnancy-induced hypertension // *Med. Sci. Monit.* – 2000. – Vol. 6. – P. 523–529.

14. Nishirino M., Matsunaga T., Yasuda K. et al. Genetic variation in the renin-angiotensin system and autonomic nervous system function in young healthy Japanese subjects // *J. Clin. Endocrin. Metabol.* – 2006. – Vol. 91. – P. 4676–4681.

15. Palatini P., Ceolotto G., Dorigatti F. et al. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism predicts development of hypertension and metabolic syndrome // *Am. J. Hypertens.* – 2009. – Vol. 22. – P. 208–214.

Сведения об авторах

Колесникова Любовь Ильинична – член-корреспондент РАМН, профессор, директор ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и здоровья человека» СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, тел./факс: 8 (3952) 20-76-36, 8 (3952) 20-73-67; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)

Долгих Владимир Валентинович – доктор медицинских наук, профессор, главный врач клиники ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и здоровья человека» СО РАМН (664047, г. Иркутск, ул. Дальневосточная, 67А; тел./факс: 8 (3952) 24-68-21; e-mail: clinica@irk.ru)

Беляева Елена Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории клинической генетики ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и здоровья человека» СО РАМН (e-mail: belyeva_irk@mail.ru)

Астахова Татьяна Александровна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории педиатрии и кардиоваскулярной патологии ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и здоровья человека» СО РАМН (e-mail: tatjana_astahova@mail.ru)

Альбот Вадим Владимирович – кандидат медицинских наук, заведующий отделением нефрологии ГБУЗ «Иркутская государственная областная детская клиническая больница» (664022, г. Иркутск, б-р Гагарина, 4; тел: 8 (3952) 24-32-52; e-mail: sekretari@godkb.ru)

Information about the authors

Kolesnikova Lyubov Ilinichna – corresponding member of RAMS, professor, director of Scientific Center of Family Health and Human Reproduction Problems SB RAMS (Timiryazev str., 16, Irkutsk, 664003; tel./fax: +7 (3952) 20-76-36, +7 (3952) 20-73-67; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)

Dolgikh Vladimir Valentinovich – M.D., professor, chief physician of Clinic of Scientific Center of Family Health and Human Reproduction Problems SB RAMS (tel.: +7 (3952) 24-68-21; e-mail: clinica@irk.ru)

Belyaeva Elena Vladimirovna – junior research officer of the laboratory of clinical genetics of Scientific Center of Family Health and Human Reproduction Problems SB RAMS

Astakhova Tatyana Aleksandrovna – candidate of medical science, senior research officer of the laboratory of pediatrics and cardiovascular pathology Scientific Center of Family Health and Human Reproduction Problems SB RAMS

Albot Vadim Vladimirovich – candidate of medical science, head of the department of nephrology of Irkutsk State Regional Children's Clinical Hospital (Gagarin bd., 4, Irkutsk, 664022; tel.: +7 (3952) 24-32-52; e-mail: sekretari@godkb.ru)