

О.А. Первушина, Т.А. Байрова, Л.И. Колесникова

ПОЛИМОРФИЗМ ALA16VAL ГЕНА СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ 2 (SOD2) У ПОДРОСТКОВ-ЕВРОПЕОИДОВ С ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ, ПРОЖИВАЮЩИХ В ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ

Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАН (Иркутск)

В работе проанализировано распределение аллелей и генотипов полиморфизма Ala16Val (rs4880) гена супероксиддисмутаза 2 у подростков-европеоидов с артериальной гипертензией ($n = 102$) и в популяционной выборке европеоидов ($n = 65$), проживающих на территории Восточной Сибири. Частоты аллелей среди популяционной выборки составили: Ala = 0,492 и Val = 0,508, генотипов – Ala/Ala = 0,277; Ala/Val = 0,431 и Val/Val = 0,292. В группе подростков с артериальной гипертензией аллели встречались с частотой Ala = 0,495 и Val = 0,505, генотипы Ala/Ala = 0,245; Ala/Val = 0,500 и Val/Val = 0,255. При сравнении данных значимый различий не обнаружено.

Ключевые слова: супероксиддисмутаза, эссенциальная артериальная гипертензия, окислительный стресс, европеоиды

ALA16VAL POLYMORPHISM OF SUPEROXIDEDISMUTASE 2 (SOD2) GENE IN CAUCASOID TEENAGERS WITH HYPERTENSION, LIVING IN THE EASTERN SIBERIA

O.A. Pervushina, T.A. Bairova, L.I. Kolesnikova

Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems SB RAS, Irkutsk

The article presents the analysis of distribution of alleles and genotypes of Ala16Val polymorphism (rs4880) of superoxidizedismutase 2 (SOD2) gene in Caucasoid teenagers with hypertension ($n = 102$) and in Caucasoid population sampling ($n = 65$), living in the Eastern Siberia. Frequencies of alleles in population sampling were Ala = 0,492 and Val = 0,508, of genotypes – Ala/Ala = 0,277; Ala/Val = 0,431 and Val/Val = 0,292. In the group of teenagers with arterial hypertension the frequency of alleles was Ala = 0,495 and Val = 0,505, of genotypes – Ala/Ala = 0,245; Ala/Val = 0,500 and Val/Val = 0,255. There were no significant differences found at the comparison the data.

Key words: superoxide dismutase, essential arterial hypertension, oxidative stress, Caucasoids

ВВЕДЕНИЕ

Сердечно-сосудистые заболевания являются одной из причин заболеваемости, инвалидности и преждевременной смертности в мире. Одним из наиболее распространенных сердечно-сосудистых заболеваний является эссенциальная артериальная гипертензия, которая в России регистрируется у 40 % взрослого населения и у 2,4–18 % детей и подростков [5, 9]. Патогенетические механизмы эссенциальной артериальной гипертензии многообразны. В ряду нейрогенной, ренин-ангиотензиновой, мембранной и других концепций формирования артериальной гипертензии широкое признание получила теория окислительного стресса [8, 12]. Окислительный стресс – это нарушение в организме баланса между прооксидантами (перекисным окислением липидов) и компонентами системы антиоксидантной защиты [2, 3, 6, 7, 11, 13]. Перекисное окисление липидов носит общебиологический характер и является метаболическим звеном при формировании ряда таких патологических состояний, как артериальная гипертензия, ишемической болезни сердца, атеросклероза и других. Контроль над активностью перекисного окисления липидов осуществляет антиоксидантная система организма [2, 3, 6, 7, 11, 13]. В систему антиоксидантной защиты организма включены антиоксиданты природного (токоферол, фосфолипиды, витамин А, аскорбиновая кислота) и синтетического (ферменты: супероксиддисмутаза, каталаза, перок-

сидаза) происхождения. На структуру и функцию ферментов (белков), задействованных в регуляцию окислительного стресса, может оказывать значимое влияние генетический полиморфизм. Замены в различных доменах белка в зависимости от локализации могут изменять активность, сродство с субстратом и специфичность белка и таким образом оказывать влияние на уровень окислительного стресса организма [14].

К ферментам антиоксидантной защиты относится супероксиддисмутаза 2. В клетке супероксиддисмутаза 2 локализована в митохондриальном матриксе. Ген супероксиддисмутаза 2, кодирующий данный фермент, расположен на хромосоме 6q25.3 и состоит из 5 экзонов [15]. Установлено, что на активность супероксиддисмутаза 2 оказывает влияние полиморфизм Ala16Val (или +9T/C, rs4880). Полиморфизм Ala16Val, приводящий к замене аланина (Ala) на валин (Val), локализован в участке, отвечающем за связывание с митохондрией для транспортировки фермента в митохондриальный матрикс. В митохондриальном матриксе этот участок расщепляется, и супероксиддисмутаза переходит в активную форму [17, 18]. Отмечено, что фермент, содержащий в этой позиции Val, трансформируется в митохондриальный матрикс медленнее, чем белок, содержащий Ala. Соответственно, у носителей аллеля Val и генотипа Val/Val накапливается супероксид в матриксе, что приводит к большей выраженности окисленных повреждений мтДНК [16].

Фиксируются существенные этнические и расовые различия в частотах встречаемости аллелей и генотипов гена супероксиддисмутазы 2, что определяет актуальность исследования для каждой этнической и популяционной выборки.

Целью работы стало сравнение распространенности аллелей и генотипов полиморфизма *Ala16Val* гена супероксиддисмутазы 2 (или +9T/C, rs4880) в группе европеоидов с эссенциальной артериальной гипертензией и в популяционной выборке проживающих на территории Восточной Сибири.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Общую группу исследования составили 167 европеоидов (подростки русской национальности) из неродственных семей, возрастной диапазон – 14–17 лет (средний возраст – $15,24 \pm 0,86$ лет). При формировании выборки учитывались этничность и проживание пробаанда в конкретном географическом регионе в течение не менее трех поколений. Все подростки и их родители родились и проживали на территории Иркутской области. В работе с группами подростков соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki (1964, 2000 ред.)).

Для проведения исследования были сформированы две группы: основная – подростки с эссенциальной артериальной гипертензией и контрольная. Основную группу составили 102 подростка с эссенциальной артериальной гипертензией. Критерием включения в основную группу служило наличие артериальной гипертензии и отсутствие симптоматического характера повышения артериального давления. Эссенциальная артериальная гипертензия диагностировалась в соответствии с современной классификацией, разработанной экспертной группой Всероссийского научного общества кардиологов (ВНОК) и Ассоциацией детских кардиологов России, утвержденной ВНОК. В качестве нормальных принимались показатели САД и ДАД 10–90-го перцентиля, уровень САД и ДАД в пределах 90–94-го перцентиля оценивался как «высокое нормальное АД», высоким считались значения свыше 95-го перцентиля [1].

Контрольную группу составили 65 подростков русской национальности без наследственной отягощенности по эссенциальной артериальной гипертензии, с уровнем артериального давления, соответствующего 10–90 %, без острого или обо-

стренного хронического заболевания на момент обследования.

Образцы крови забирали из локтевой вены в пробирки с антикоагулянтом (6%-й раствор этилендиаминтетрауксусная кислота, ГОСТ 10652-73). Препараты ДНК получали с использованием наборов «ДНК-сорб-В» (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия). Полимеразная цепная реакции (ПЦР) проводилась в автоматическом термоциклере «Терцик». Амплификацию проводили наборами реагентов для идентификации полиморфных маркеров SNP-экспресс-кардиогенетика (НПФ «Литех», Россия). Детекцию продуктов амплификации осуществляли в 3%-м агарозном геле, результаты электрофореза в геле визуализировались на фильтрате трансиллюминатора и документировались фотографированием.

Для обработки полученных результатов применялись методы математической статистики, реализованные в лицензионном интегрированном статистическом пакете комплексной обработки данных STATISTICA 6.1 StatSoft Inc., США (правообладатель лицензии – ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» Сибирского отделения РАН). Для оценки соответствия распределений генотипов ожидаемым значениям при равновесии Харди – Вайнберга использовали критерий χ^2 Пирсона. Для сравнения частот аллелей и генотипов между анализируемыми группами использовали критерий χ^2 Пирсона с поправкой Йейтса. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Проведен анализ распределения частот встречаемости генотипов и аллелей полиморфизма *Ala16Val* гена супероксиддисмутазы 2 (или +9T/C, rs4880) в исследуемых выборках, результаты которого представлены в таблице 1.

В контрольной группе подростков частоты встречаемости генотипов *Ala/Ala*; *Ala/Val* и *Val/Val* составляют 0,277, 0,431 и 0,292. Частоты аллелей *Ala* – 0,492 и *Val* – 0,508. В группе исследования наблюдаемая гетерозиготность не отличалась от ожидаемой, что соответствует равновесному распределению Харди – Вайнберга.

Среди подростков с эссенциальной артериальной гипертензией частота встречаемости генотипов *Ala/Ala*; *Ala/Val* и *Val/Val* составила 0,245, 0,500 и 0,255 соответственно. Частота аллелей *Ala* – 0,495, *Val* – 0,505. Таким образом, при сравнении группы больных с контрольной группой статистически значимых различий

Таблица 1
Распределение частот аллелей и генотипов полиморфизма *Ala16Val* гена супероксиддисмутазы 2 (rs4880)

Группы	Частота генотипов			Частота аллелей	
	<i>Ala/Ala</i>	<i>Ala/Val</i>	<i>Val/Val</i>	<i>Ala</i>	<i>Val</i>
Русские, контроль ($n = 102$)	0,277 (28)	0,431 (44)	0,292 (30)	0,492	0,508
Русские, артериальная гипертензия ($n = 65$)	0,245 (16)	0,500 (32)	0,255 (17)	0,495	0,505
Критерий различий χ^2 (p)	0,595 (0,743)			0,006 (0,941)	

Примечание. p – уровень значимости; n – количество человек, носителей генотипа.

распределения аллелей и генотипов полиморфизма *Ala16Val* гена супероксиддисмутазы 2 (rs4880) не выявлено. Данное исследование указывает на отсутствие ассоциации полиморфизма *Ala16Val* гена супероксиддисмутазы 2 (rs4880) с эссенциальной артериальной гипертензией у подростков-европеоидов, проживающих в Восточной Сибири.

Данные литературы о роли изучаемого полиморфизма в реализации сердечно-сосудистых заболеваний малочисленны. Так, по данным Е.В. Майкоповой (2011), у пациентов, перенесших острый инфаркт миокарда, зарегистрировано статистически значимое увеличение частоты аллеля *Val* ($p = 0,008$), полиморфизма *Ala16Val* гена супероксиддисмутазы 2 (rs4880). При расчете показателей относительного риска выявлено, что пациенты с ишемической болезнью сердца, являющиеся носителями аллели *Val*, в 2 раза больше подвержены риску развития инфаркта миокарда (ОШ = 1,89; 95 %), чем носители аллели *Ala* [10]. Однако исследование проведено на смешанной выборке республике Татарстан, и оценить значимость данного генетического маркера в развитии индивидуального миокарда у представителей разных этнических выборок не представляется возможным.

Для расчета индивидуального прогноза необходимо учитывать особенности генетического профиля конкретной этнической выборки, определяющей спектр генов-кандидатов факторов риска заболеваний, в том числе сердечно-сосудистых [4]. В связи с этим поиск прогностической значимости генов кандидатов заболеваний является актуальной проблемой.

В целом результаты собственных исследований не показали различий частот встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма *Ala16Val* гена супероксиддисмутазы 2 (rs4880) в группе контроля и пациентов с эссенциальной артериальной гипертензией. Тем не менее, изучение связи данного полиморфизма с компонентами перекисного окисления липидов сможет определить роль данного полиморфизма в формировании эссенциальной артериальной гипертензии у подростков-европеоидов, проживающих в Восточной Сибири.

Работа выполнена при поддержке гранта президента РФ «Ведущей научной школы» НШ – 5646. 2014.7

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Автандилов А.Г. Диагностика, лечение и профилактика артериальной гипертензии у детей и подростков: Методические рекомендации. – М., 2003. – 30 с.
2. Avtandilov A.G. Diagnostics, treatment and prophylaxis of arterial hypertension in children and adolescents: Guidelines. – Moscow, 2003. – 30 p. (in Russian)
3. Андреев Ю.А., Кушнарева Ю.Е., Старков А.А. Метаболизм активных форм кислорода в митохондриях // Биохимия. – 2005. – Т. 70, Вып. 2. – С. 246–264.
4. Andreev Yu.A., Kushnareva Yu.E., Starkov A.A. Metabolism of active forms of oxygen in mitochondria

// Biohimija. – 2005. – Vol. 70, Iss. 2. – P. 246–264. (in Russian)

3. Воробьева Е.Н., Воробьев Р.И. Роль свободнорадикального окисления в патогенезе болезней системы кровообращения // Бюл. СО РАМН. – 2005. – № 4 (118). – С. 24–30.

Vorobyova E.N., Vorobyov R.I. Role of lipid peroxidation in the pathogenesis of circulatory system diseases // Bjul. SO RAMN. – 2005. – N 4 (118). – P. 24–30. (in Russian)

4. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины / Под ред. В.С. Баранова. – СПб.: Изд-во Н-Л, 2009. – 528 с.

Genetic passport – a basis of individual and predictive medicine / Ed. by V.S. Baranov. – Saint-Petersburg: Izd-vo N-L, 2009. – 528 p. (in Russian)

5. Долгих В.В., Колесникова Л.И. Патогенез эссенциальной артериальной гипертензии у детей. – Иркутск: Изд-во ВСНЦ СО РАМН, 1999. – 220 с.

Dolgikh V.V., Kolesnikova L.I. Pathogenesis of essential arterial hypertension in children. – Irkutsk: Izd-vo VSNC SO RAMN, 1999. – 220 p.

6. Колесникова Л.И., Баирова Т.А., Первушина О.А. Этногенетические маркеры антиоксидантной системы // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2013. – № 4. – С. 166–171.

Kolesnikova L.I., Bairova T.A., Pervushina O.A. Ethnogenetic markers of antioxidant system // Bjul. VSNC SO RAMN. – 2013. – N 4. – P. 166–171. (in Russian)

7. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Долгих В.В. и др. Особенности процессов перекисного окисления липидов – антиоксидантной защиты в разных этнических группах Восточной Сибири // Экология человека. – 2010. – № 2. – С. 26–29.

Kolesnikova L.I., Darenskaya M.A., Dolgikh V.V. et al. Peculiarities of lipid peroxidation processes – antioxidant system in different ethnic groups of Eastern Siberia // Jekologija cheloveka. – 2010. – N 2. – P. 26–29. (in Russian)

8. Колесникова Л.И., Курашова Н.А. и др. Особенности антиоксидантной системы у подростков Восточной Сибири в зависимости от гендерной и этнической принадлежности // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2013. – № 4 (92). – С. 136–140.

Kolesnikova L.I., Kurashova N.A. et al. Peculiarities of antioxidant system in adolescents of Eastern Siberia depending on the gender and ethnicity // Bjul. VSNC SO RAMN. – 2013. – N 4 (92). – P. 136–140. (in Russian)

9. Леонтьева И.В. Проблема артериальной гипертензии у детей и подростков // Рос. вест. перинатологии и педиатрии. – 2006. – № 5. – С. 7–18.

Leontyeva I.V. Problem of arterial hypertension in children and adolescents // Ros. vest. perinatologii i pediatrii. – 2006. – N 5. – P. 7–18. (in Russian)

10. Майкопова Е.В., Алимова Ф.К., Подольская А.А. и др. Ассоциация полиморфных вариантов генов супероксиддисмутаз с риском развития ишемической болезни сердца // Матер. VI Междунар. науч.-практ. конф. «Спецпроект: анализ научных исследований» (30–31 мая 2011).

Maykopova E.V., Alfimova F.K., Podolskaya A.A. et al. Association of polymorph variants of superoxide

dismutase genes with risk of development of ischemic heart disease // Mater. VI Mezhdunar. nauch.-prakt. konf. «Specproekt: analiz nauchnyh issledovaniy» (May 30–31, 2011). (in Russian)

11. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. Окислительный стресс. – М.: Слово, 2006. – 566 с.

Menshchikova E.B., Lankin V.Z., Zenkov N.K. Oxidative stress. – Moscow: Slovo, 2006. – 566 p. (in Russian)

12. Натяганова Л.В. Особенности окислительного стресса в патогенезе эссенциальной артериальной гипертензии у подростков: автореф. дис: ... канд. биол. наук: 14.03.03. – Иркутск, 2010. – 18 с.

Natyaganova L.V. Peculiarities of oxidative stress in pathogenesis of essential arterial hypertension in adolescents: abstract of dissertation of Candidate of Biological Sciences: 14.03.03. – Irkutsk, 2010. – 18 p. (in Russian)

13. Burton G.J., Jauniaux E. Oxidative stress // Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. – 2011. – Vol. 25 (3). – P. 287–299.

14. Halliwell B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view // Nutr. Rev. – 2012. – Vol. 70 (5). – P. 257–265.

15. Landis G.N., Lemieux I., Pascot A., Couillard C. Superoxide dismutase evolution and life span regulation // Mech. Ageing Dev. – 2005. – Vol. 126 (3). – P. 365–379.

16. Rosenblum J.S., Gilula N.B., Lerner R.A. On signal sequence polymorphisms and diseases of distribution // Proc. Nat. Acad. Sci. – 1996. – Vol. 93, N 9. – P. 4471–4473.

17. Sobkowiak A., Lianeri M., Wudarski M. et al. Manganese superoxide dismutase Ala-9Val mitochondrial targeting sequence polymorphism in systemic lupus erythematosus in Poland // Clin. Rheumatol. – 2008. – Vol. 27. – P. 827–831.

18. Sutton A., Imbert A., Igoudjil A. et al. The manganese superoxide dismutase Ala16Val dimorphism modulates both mitochondrial import and mRNA stability // Pharmacogenet. Genomics. – 2005. – Vol. 15, N 5. – P. 311–319.

Сведения об авторах

Первушина Оксана Александровна – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории клинической генетики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: 8 (3952) 20-76-36, факс: 8 (3952) 20-73-67; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)

Баирова Татьяна Ананьевна – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией клинической генетики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАН

Колесникова Любовь Ильинична – член-корр. РАН, директор Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАН

Information about the authors

Pervushina Oksana Aleksandrovna – Candidate of Biological Sciences, Junior Research Officer of the Laboratory of Clinical Genetics of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems SB RAS (664003, Irkutsk, ul. Timiryazeva, 16; tel.: +7 (3952) 20-76-36, fax: +7 (3952) 20-73-67; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)

Bairova Tatyana Ananyevna – Doctor of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Clinical Genetics of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems SB RAS

Kolesnikova Lyubov Iljinichna – Corresponding Member of RAS, Director of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems SB RAS