

Полигенные ассоциации полиморфизма генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы при эссенциальной артериальной гипертензии

О. С. Павлова¹, С. Э. Огурцова², Т. В. Горбат¹,
М. М. Ливенцева¹, В. Ю. Афонин²,
В. И. Малюгин³, А. Г. Мрочек¹

¹ Республиканский научно-практический центр
«Кардиология», Минск, Беларусь

² Институт биоорганической химии Национальной академии
наук Беларуси, Минск, Беларусь

³ Белорусский государственный университет,
Минск, Беларусь

Контактная информация:

Павлова Ольга Степановна,
Республиканский научно-практический
центр «Кардиология», ул. Люксембург,
д. 110, Минск, Республика Беларусь,
220036.

Тел.: +(37517)227-12-06.

E-mail: ol_skorochod@yahoo.com

*Статья поступила в редакцию
03.06.16 и принята к печати 07.07.16.*

Резюме

Цель исследования — провести анализ полигенных ассоциаций полиморфизма M235 T гена ангиотензиногена (AGT), I/D гена ангиотензинпревращающего фермента (ACE), C3123A гена рецепторов 2-го типа к ангиотензину II (AGTR2) и C344T гена альдостеронсинтазы (CYP11B2) с вероятностью наличия эссенциальной артериальной гипертензии (АГ). **Материалы и методы.** Обследовано 532 неродственных индивидуума, постоянно проживающих на территории Беларуси и представляющих этнически гомогенную группу, из них 356 пациентов с АГ и 176 здоровых лиц. Проведены оценка клинических данных и молекулярно-генетическое обследование полиморфизма генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС). Поиск и анализ полигенных ассоциаций производился с использованием программного обеспечения APSampler. **Результаты.** Получены данные о наличии взаимосвязи сочетанного носительства T аллеля (M235 T) гена AGT и T аллеля (C344T) гена CYP11B2 с вероятностью наличия АГ у женщин в возрасте до 45 лет: отношение шансов (ОШ) = 4,15; 95 % доверительный интервал (ДИ) = 1,90–9,07; $p = 0,004$. Полигенные ассоциации, характерные для нормотензивных лиц, включали: I аллель (I/D) гена ACE и CC генотип (C3123A) гена AGTR2 (ОШ = 0,58; 95 % ДИ = 0,49–0,68; $p = 0,03$); I аллель (I/D) гена ACE и MM генотип (M235 T) гена AGT у женщин до 45 лет (ОШ = 0,09; 95 % ДИ = 0,01–0,63; $p = 0,005$); M аллель (M235 T) гена AGT и CC генотип (C3123A) гена AGTR2 в группе старше 45 лет (ОШ = 0,55; 95 % ДИ = 0,47–0,64; $p = 0,03$). **Выводы.** При индивидуальном анализе не было найдено отличий в распределении частот аллелей и генотипов изучаемых генов РААС в группах пациентов с АГ и здоровых лиц. Обнаружены полигенные сочетания полиморфизма генов РААС, частота встречаемости которых значимо различалась в группах пациентов и контроля, что свидетельствует о преимуществах изучения влияния сочетаний генотипов и/или аллелей различных полиморфных локусов на риск развития эссенциальной АГ перед анализом ассоциаций с заболеванием каждого локуса в отдельности.

Ключевые слова: эссенциальная артериальная гипертензия, ренин-ангиотензин-альдостероновая система, ген ангиотензиногена, ген ангиотензинпревращающего фермента, ген рецепторов 2-го типа к ангиотензину II, ген альдостеронсинтазы

Для цитирования: Павлова О. С., Огурцова С. Э., Горбат Т. В., Ливенцева М. М., Афонин В. Ю., Малюгин В. И., Мрочек А. Г. Полигенные ассоциации полиморфизма генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы при эссенциальной артериальной гипертензии. Артериальная гипертензия. 2016;22(3):253–262. doi: 10.18705/1607-419X-2016-22-3-253-262.

Polygenic association of the renin-angiotensin-aldosterone system polymorphisms in essential arterial hypertension

O. S. Pavlova¹, S. E. Ogurtsova², T. V. Gorbat¹,
M. M. Liventseva¹, V. Yu. Afonin²,
V. I. Malugin³, A. G. Mrochek¹

Corresponding author:

Olga S. Pavlova,
Republican Scientific and Practical Centre
«Cardiology», 110 Luxemburg street,
Minsk, 220036 Belarus.
Phone: +(37517)227–12–06.
E-mail: ol_skorochod@yahoo.com

¹ Republican Scientific and Practical Centre «Cardiology»,
Minsk, Belarus

² Institute of Bioorganic Chemistry of National Academy
of Sciences Republic of Belarus, Minsk, Belarus

³ Belarussian State University, Minsk, Belarus

Received 3 June 2016;
accepted 7 July 2016.

Abstract

Objective. To determine the polygenic association of polymorphisms of M235T angiotensinogen (AGT) gene, I/D angiotensin-converting enzyme (ACE) gene, C3123A of angiotensin II type 2 receptor gene (AGTR2), C344T aldosterone synthase gene (CYP11B2) with essential arterial hypertension (HTN). **Design and methods.** A total of 532 subjects are examined, representing the Belarussian ethnic homogeneous group (356 hypertensive patients and 176 normotensives). Clinical and molecular genetic examinations of the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) polymorphisms were performed. The search and analysis of polygenic associations are implemented using APSampler software. **Results.** We found an association of the combined polymorphisms of T allele of gene AGT (M235T) and T allele of gene CYP11B2 (C344T) with essential HTN in women under 45 years (odds ratio, OR = 4,15, 95 % confidence interval, CI = 1,90–9,07; p = 0,004). Polygenic associations among normotensives included: I allele (I/D) ACE gene and CC genotype (C3123A) AGTR₂ gene (OR = 0,58; 95 % CI = 0,49–0,68; p = 0,03); I allele (I/D) ACE genes and MM genotype (M235 T) of AGT gene in women under 45 years (OR = 0,09; 95 % CI = 0,01–0,63; p = 0,005); M allele (M235 T) of AGT gene and CC genotype (C3123A) of AGTR₂ gene in all subjects over 45 years (OR = 0,55; 95 % CI = 0,47–0,64; p = 0,03). **Conclusions.** There was no difference in distribution of the studied alleles and genotypes of RAAS genes in patients with HTN and healthy subjects. At the same time the polygenic combinations of RAAS genetic polymorphisms significantly differ between hypertensive and normotensive subjects. This indicates the advantages of studying the effect of combinations of genotypes and/or alleles of different polymorphic loci on the risk of essential HTN before analyzing the impact of each single locus.

Key words: essential arterial hypertension, renin-angiotensin-aldosterone system, gene angiotensinogen, angiotensin-converting enzyme gene, angiotensin II type 2 receptor gene, aldosterone synthase gene

For citation: Pavlova OS, Ogurtsova SE, Gorbat TV, Liventseva MM, Afonin VYu, Malugin VI, Mrochek AG. Polygenic association of the renin-angiotensin-aldosterone system polymorphisms in essential arterial hypertension. Arterial'naya Gipertenziya = Arterial Hypertension. 2016;22(3):253–262. doi: 10.18705/1607-419X-2016-22-3-253-262.

Введение

Распространенность первичной, или эссенциальной, артериальной гипертензии (АГ) в мире достаточно велика, и по данным Всемирной организации здравоохранения среди взрослого населения составляет в среднем 22% [1]. Важное медико-социальное значение этого заболевания обусловлено не только высокой распространенностью в общей популяции, но и большим количеством сердечно-сосудистых осложнений, в том числе со смертельным исходом — ежегодно в мире причиной смерти 9,4 миллионов человек является повышенное артериальное давление (АД) [2].

Эссенциальная АГ принадлежит к наиболее многочисленной группе мультифакториальных заболеваний, на развитие которых оказывают влияние как генетические, так и экзогенные факторы. Генетическая предрасположенность к развитию эссенциальной АГ признана одним из доказанных факторов риска развития данного заболевания, при котором потомству передается не болезнь, а признаки, определяющие предрасположенность к ней [3]. Один из наиболее перспективных подходов к оценке генетической предрасположенности к АГ — изучение генов, определяющих функционирование систем, влияющих на развитие и прогрессирование АГ [4]. Для многих генов, задействованных в процессах повышения АД, выявлены генетические полиморфизмы, влияющие на функциональную активность их аллелей. Составляют генетическую детерминацию АГ прежде всего полиморфные гены, кодирующие компоненты основных физиологических нейрогуморальных систем, участвующих в регуляции АД. Наиболее изученными являются гены, кодирующие компоненты ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) и симпатoadреналовой системы, внутриклеточного ионного гомеостаза, регуляции эндотелиальной функции [5]. Патологическая активация РААС является одной из главных причин развития эссенциальной АГ, и гены, кодирующие основные белки и ферменты РААС, рассматриваются как основные гены, ассоциированные с повышением АД и поражением органов-мишеней [6, 7].

При полигенных заболеваниях, таких как эссенциальная АГ, аллельное сочетание генов, значимо влияющее на развитие признака, может возникать в результате суммирования малых подпороговых вкладов аллелей, входящих в сочетание [8]. В основном большинство исследований посвящено изучению влияния известных полиморфизмов отдельных генов-кандидатов, и в меньшей степени присутствуют научные работы по нахождению генетических паттернов, которые могут включать

различные сочетания патологических аллелей или генотипов различных локусов, ассоциированные с АГ. Помимо того, многие исследователи пришли к выводу, что существуют также определенные различия в распределении аллельного полиморфизма генов РААС в зависимости от популяционных и этнических особенностей [9–12]. Таким образом, изучение ген-генных взаимодействий и ассоциаций, характерных для определенных этнических групп при первичной АГ, остается актуальным и недостаточно разработанным научным направлением.

Целью исследования являлись поиск и проведение анализа полигенных ассоциаций полиморфизма M235 T гена ангиотензиногена (AGT), I/D гена ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) (ACE), C3123A гена рецепторов 2-го типа к ангиотензину II (AGTR2) и C344T гена альдостеронсинтазы (CYP11B2) с вероятностью наличия эссенциальной АГ.

Материалы и методы

Обследование было проведено в 5 областных кардиологических центрах Республики Беларусь и в Республиканском научно-практическом центре «Кардиология» в Минске. Выполнение программы исследования было одобрено Комитетом по этике Республиканского научно-практического центра «Кардиология». В исследование были включены пациенты с эссенциальной АГ в возрасте от 18 до 70 лет и здоровые лица, добровольно согласившиеся принять в нем участие. Критериями исключения являлись вторичная АГ, перенесенные инфаркт миокарда или инсульт, сахарный диабет 1 и 2 типов, морбидное ожирение (индекс массы тела, ИМТ > 40 кг/м²), ревматизм или диффузные болезни соединительной ткани. Группу контроля составили лица с нормальным или оптимальным уровнем АД (АД < 129/84 мм рт. ст.). На основании критериев включения и после получения информированного согласия было отобрано 532 неродственных индивидуума, постоянно проживающих на территории Беларуси и представляющих этнически гомогенную группу, из них 356 пациентов с первичной АГ и 176 здоровых лиц.

У всех участников исследования была проведена оценка клинических и антропометрических данных, генотипирование для определения частот генотипов и аллелей анализируемых генетических полиморфизмов M235 T (AGT), I/D (ACE), C3123A (AGTR2) и C344T (CYP11B2). По результатам клинического осмотра и данным медицинских карт амбулаторных больных проводилось включение пациентов в исследование. Антропометрическое

обследование включало измерение роста, массы тела с определением ИМТ, окружности талии (ОТ). Всем обследуемым проводилось клиническое измерение АД и пульса с использованием стандартных манжет трех размеров, соответствующих окружности плеча, трехкратно с интервалом в 1 минуту, с автоматической оценкой средних значений полученных данных, с помощью сфигмоманометра «WatchBP Office».

Дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК) выделяли из 8–9 мл цельной венозной крови методом экстракции с помощью набора «NucleoSpin®Blood» (MACHEREY-NAGEL, Германия), согласно прилагаемому протоколу. Генотипирование по изучаемым полиморфным маркерам генов РААС проводили методом полимеразной цепной реакции и полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ) с аллель-специфичными праймерами, синтезированные «Праймтех» (Беларусь) (табл. 1). Полученные фрагменты разделяли в двухпроцентном агарозном геле и идентифицировали с помощью гель-документирующей системы «ChemIDoc™ MP System» (BIO-RAD, США).

Статистический анализ, в том числе отклонения наблюдаемых частот генотипов от теоретически ожидаемого равновесного распределения Харди-Вайнберга, осуществлялся с использованием программы «Statistica 6.0». Результаты статистического анализа клинической характеристики обследуемых групп представлены в виде средних значений $\bar{X}$ и среднего квадратичного (стандартного) отклонения $SD = \bar{X} \pm SD$. Для сравнения групп по распределению аллелей и генотипов использовался непараметрический метод исследования — критерий χ^2 Пирсона. Поиск полигенных ассоциаций для определения генетического паттерна, то есть сочетания

аллелей или генотипов, проводился с использованием программного обеспечения «APSampler», в котором реализован метод Монте-Карло на основе цепей Маркова (Markov Chain Monte-Carlo — MCMC method) с помощью специально адаптированного алгоритма Метрополиса-Хастингса (Metropolis-Hastings algorithm), позволяющего выявить потенциальные комбинации аллелей, положительно или отрицательно ассоциированные с заболеванием [13, 14]. Поиск информативных паттернов производился путем построения цепи Маркова и выбора на каждом шаге набора потенциальных паттернов по схеме алгоритма Метрополиса-Хастингса и осуществлялся, исходя из предположения, что все паттерны независимо друг от друга и одновременно ассоциированы с АГ. Для решения проблемы множественного сравнения использовались поправка Бонферрони и алгоритм контроля FDR (first discovery rate) Бенджамини-Хохберга [15].

Результаты

Средний возраст пациентов с эссенциальной АГ составил $49,0 \pm 11,4$ года (164 женщины и 192 мужчин). Согласно классификации АГ на основании Национальных рекомендаций по диагностике, лечению и профилактике артериальной гипертензии у большей части пациентов диагностировалась АГ 2-й степени — 200 человек (56,2%), у 100 человек — АГ 1-й степени (28,1%) и у 56 — АГ 3-й степени (15,7%) [16]. Обследованные пациенты в основном имели высокий дополнительный риск развития сердечно-сосудистых осложнений (риск 3) — 41% и очень высокий риск (риск 4) — 31,7%, реже риск 2—26,4% и риск 1—0,84%. У 76 (21,3%) пациентов была сопутствующая ишемическая болезнь сердца — стенокардия напряжения I или II функцио-

Таблица 1

НОМЕНКЛАТУРА ИССЛЕДУЕМЫХ ЛОКУСОВ, ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ПРАЙМЕРОВ, РАЗМЕРЫ АМПЛИФИЦИРУЕМЫХ ФРАГМЕНТОВ

Ген	SNP	Последовательности праймеров, рестриктаза	Аллели, длина фрагментов (п. н.)
ACE	rs4646994 Alu I/D	F: CCCTGCAGGTGTCTGCAGCATGT R: GGATGGCTCTCCCCGCCTTGTCTC	I 597 D 319
AGT	rs699 Met235Thr	F: GATGCGCACAAGGTCTCTG R: CAGGGTGCTGTCCACACTGGCTCGC <i>SfaNI</i>	M 303 T 266
CYP11B2	rs1799998 C-344T	F: GAGGAGGAGACCCCATGTGAC R: CCTCCACCCTGTTTCAGCCC <i>HaeIII</i>	C 203+138+126+71 T 274+138+126
AGTR2	rs11091046 C3123A	F: GGATTCAGATTTCTCTTGAA R: GCATAGGAGTATGATTTAATC <i>AluI</i>	C 321 A 214+107

Таблица 2

**КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ
С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ И ЗДОРОВЫХ ЛИЦ**

Показатель	Пациенты с АГ	Здоровые	p
Возраст, годы	49,0 ± 11,4	43,0 ± 10,5	0,001
Пол, м/ж	192/164	78/98	0,040
САД, мм рт. ст.	141,3 ± 18,9	120,8 ± 8,7	0,001
ДАД, мм рт. ст.	90,6 ± 12,3	77,0 ± 7,4	0,001
ЧСС, уд/мин	73,7 ± 13,0	72,3 ± 10,6	0,001
ИМТ, кг/м ²	30,0 ± 4,7	25,5 ± 4,2	0,001
ОТ, см	98,1 ± 12,9	86,3 ± 12,4	0,001
Отягощенный анамнез по АГ, n (%)	272 (76,4%)	113 (64,2%)	0,001
Количество курильщиков, n (%)	47 (13,2%)	32 (18,2%)	0,010
Количество человек с ожирением, n (%)	165 (46,3%)	21 (11,9%)	0,001

Примечание: АГ — артериальная гипертензия; САД — систолическое артериальное давление; ДАД — диастолическое артериальное давление; ЧСС — частота сердечных сокращений; ИМТ — индекс массы тела; ОТ — окружность талии; n — количество; p — уровень значимости.

нального класса. Антигипертензивные препараты регулярно принимали 177 (49,7%) пациентов. Сравнительная клиническая характеристика 356 пациентов с АГ и 176 здоровых лиц приведена в таблице 2. Указанные группы значительно отличались по возрасту, полу, отягощенному анамнезу по наличию АГ у родителей, уровню АД, ОТ, ИМТ и наличию ожирения (ИМТ > 30 кг/м²).

Результаты молекулярно-генетического обследования показали, что распределение частот генотипов анализируемых полиморфизмов I/D гена ACE, C344T гена CYP11B2 в группах пациентов и здоровых лиц соответствовало теоретически ожидаемому равновесию Харди-Вайнберга в отличие от распределения полиморфизма M235 T гена AGT в указанных группах ($\chi^2 = 7,4$; $p < 0,002$ и $\chi^2 = 7,67$; $p < 0,002$ соответственно) и полиморфизма C3123A гена AGTR2 ($\chi^2 = 78,7$; $p < 0,001$ и $\chi^2 = 31,7$; $p < 0,001$ соответственно). Статистически значимых отличий в распределении аллелей и генотипов изучаемых генетических полиморфизмов генов РААС в группах пациентов и нормотензивных обследуемых не наблюдалось (табл. 3).

С помощью программы APSampler первоначально был проведен анализ комбинаций аллелей и генотипов исследуемых генов РААС в общей выборке участников исследования и с учетом гендерных различий. Далее, поскольку сравниваемые группы пациентов и здоровых лиц отличались по возрасту и полу, были проведены поиски генетических паттернов отдельно в возрастных группах до 45 лет и старше 45 лет, а затем — в зависимости от пола в каждой из этих групп. После вычисления

статистически значимых отличий был получен список наиболее значимых генетических паттернов, характерных для обследованных групп пациентов с АГ и здоровых лиц (табл. 4).

Полученные результаты свидетельствуют о наличии ассоциативной взаимосвязи между сочетанным носительством T аллели (M235 T) гена AGT, T аллели (C344T) гена CYP11B2 и вероятностью наличия эссенциальной АГ у женщин в возрасте до 45 лет. Сочетание I аллеля (I/D) гена ACE и CC генотипа (C3123A) гена AGTR2 было характерно для нормотензивных индивидуумов как в общей группе, так и в возрастной группе старше 45 лет, и в большей степени у мужчин. В группе здоровых женщин до 45 лет наиболее часто встречалось сочетание I аллеля (I/D) гена ACE и MM генотипа (M235 T) гена AGT. Для группы здоровых лиц старше 45 лет генетический паттерн включал сочетание M аллеля (M235 T) гена AGT и CC генотипа (C3123A) гена AGTR2.

Обсуждение

В настоящем исследовании с помощью метода полигенного анализа был проведен поиск ассоциаций ген-генных взаимодействий с заболеванием, что позволило определить наиболее часто встречающийся генетический паттерн — сочетание T-аллеля (M235 T) гена AGT с T-аллелем (C344T) гена CYP11B2 в группе женщин с развившейся эссенциальной АГ в возрасте до 45 лет. В группе нормотензивных лиц в отличие от пациентов с АГ наиболее часто встречались генетические сочетания, включающие аллели и генотипы генов РААС,

Таблица 3

**РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНОТИПОВ И АЛЛЕЛЕЙ ПОЛИМОРФНЫХ
УЧАСТКОВ ГЕНОВ У ПАЦИЕНТОВ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ И ЗДОРОВЫХ ЛИЦ**

Генотип/ аллель	Пациенты		Здоровые		χ^2
	п	частота, %	п	частота, %	
AGT M235 T					
MM	89	25	44	25	0,01
MT	199	55,9	103	58,5	0,3
TT	68	19,1	29	16,5	0,5
M	377	52,9	191	54,3	0,2
T	335	47,1	161	45,7	
ACE I/D					
II	88	24,7	45	25,6	0,01
ID	175	49,2	93	52,8	0,6
DD	93	26,1	38	21,6	1,3
I	351	49,3	183	52,0	0,7
D	361	50,7	169	48,0	
CYP11B2 (C344T)					
CC	93	26,1	44	25,0	0,1
CT	166	46,6	86	48,9	0,2
TT	97	27,2	46	26,1	0,1
C	352	49,4	174	49,4	0,01
T	360	50,6	178	50,6	
AGTR2 (C3123A)					
CC	138	38,8	69	39,2	0,01
CA	95	26,7	52	29,5	0,5
AA	123	34,5	55	31,3	0,6
C	371	52,1	190	54,0	0,3
A	341	47,9	162	46,0	

Примечание: п — количество; χ^2 — критерий хи-квадрат Пирсона.

в которых отсутствовали замены нуклеотидов в изучаемых полиморфных участках.

Ген ангиотензиноген кодирует выработку первого белка РААС каскада, в результате которого образуется наиболее активный вазопресорный пептид ангиотензин II. Многочисленные экспериментальные (на трансгенных животных) и клинические исследования на сибсах и методом «случай — контроль» продемонстрировали участие гена AGT в предрасположенности к развитию АГ и преэклампсии [17–21]. При полиморфизме (M235 T) гена AGT происходит аминокислотная замена метионина на треонин в 235 кодоне, и получены доказательства о взаимосвязи повышения уровня ангиотензиногена в плазме у носителей одного или двух патологических T аллелей [22]. По результатам обширного метаанализа с включением 127 исследований и представителей основных трех рас было получено, что относительный риск развития АГ увеличивался при наличии МТ генотипа на 8 % и ТТ-генотипа — на 19 % среди индивидуумов европейской расы и значительно был выше

у лиц азиатского происхождения — на 29 % и 60 % при МТ и ТТ генотипах соответственно [22]. Доказано влияние носительства ТТ генотипа (M235 T) гена AGT на риск развития преэклампсии, который увеличивался на 61 % в сравнении с носительством ММ генотипа и в большей степени у женщин европейского и азиатского происхождения в отличие от афроамериканского [23].

Среди нескольких полиморфизмов гена CYP11B2, являющегося ключевым ферментом синтеза альдостерона, наиболее изученным оказывается C-344T, при котором происходит замена цитозина на тимин в 344-й позиции в его промоторной области. По результатам многоцентрового исследования нескольких этнических популяций наличие ТТ генотипа гена CYP11B2 (C-344T) ассоциировано с увеличением содержания альдостерона в плазме крови на 14 % и повышением уровня систолического/диастолического АД на 3,7 и 2,1 мм рт. ст. соответственно, в отличие от CC генотипа [24]. В опубликованном в 2007 году метаанализе, включающем 11 225 обследуемых,

было выявлено, что у носителей С аллеля наблюдался более низкий риск развития АГ, в среднем на 17% ниже в сравнении с ТТ генотипом [25]. Сравнение суточного ритма АД в зависимости от полиморфизма (С-344Т) гена CYP11B2 было проведено в японском популяционном исследовании среди жителей города Охасамы в возрасте старше 40 лет. Показано, что СС генотип статистически значимо ассоциирован с более низким уровнем АД в ночное время суток [26].

Ассоциация инсерции (I)/делеции (D) полиморфизма гена АПФ (ACE, ID) с концентрацией АПФ в плазме доказана в многочисленных наблюдениях, и по данным метаанализа 46 исследований было получено, что у пациентов с DD генотипом в среднем на 56% повышен уровень АПФ в крови в отличие от носителей II генотипа [27, 28]. В популяционных исследованиях, в частности, в американском Фрамингемском исследовании и японском исследовании Suita, была выявлена ассоциация между ID полиморфизмом гена АПФ и эссенциальной АГ, но только у мужчин [29, 30]. В другом японском исследовании также была доказана взаимосвязь DD генотипа гена ACE с увеличением АД у мужчин, но в возрасте старше 50 лет [31]. В двух проспективных наблюдениях длительностью от 6 до 12 лет

было получено относительное увеличение случаев развития АГ на 23–31% при наличии DD генотипа в сравнении с другими генотипами полиморфизма I/D гена ACE, а в одном исследовании эта взаимосвязь была более тесной в старших возрастных группах (36–45 и 46–55 лет) [32, 33].

Взаимосвязь развития эссенциальной АГ с полиморфизмом С3123А гена рецепторов 2-го типа к ангиотензину II изучена недостаточно, и существует лишь несколько исследований, подтверждающих эту взаимосвязь. Ген рецепторов 2-го типа ангиотензина II (AGTR2) расположен на X хромосоме (q22–23), и несколько наблюдений указывают на взаимосвязь между полиморфизмом С3123А гена AGTR2 и кардиометаболическими заболеваниями [34]. По данным Aoki S. (2005), количество носителей А-аллеля чаще встречалось в группе пациентов с АГ в отличие от группы контроля; в свою очередь, у нормотензивных пациентов его наличие ассоциировано с увеличением случаев инфарктов миокарда [35]. С другой стороны, существуют сведения, что наличие А-аллеля связано с лучшим контролем гликемии и ожирения [36]. В исследовании, посвященном изучению взаимосвязи полиморфизма С3123А гена AGTR2 и сольчувствительности, было показано, что среди здоровых японских мужчин

Таблица 4

**МНОГОЛОКУСНЫЕ ВАРИАНТЫ СОЧЕТАНИЙ АЛЛЕЛЕЙ
И ГЕНОТИПОВ У ПАЦИЕНТОВ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ И ЗДОРОВЫХ ЛИЦ**

Гены (полиморфные локусы)	Сочетание	Здоровые n (%)	Пациенты n (%)	ОШ (95% ДИ)	p
Общая группа: мужчины и женщины					
ACE (I/D) + AGTR2 (C3123A)	I аллель ACE + СС генотип AGTR2	37 (48)	67 (34,9)	0,58 (0,49–0,68)	0,03
Группа до 45 лет: женщины					
AGT (M235 T) + CYP11B2 (C344T)	T аллель AGT + T аллель CYP11B2	27 (49,1)	24 (80,0)	4,15 (1,90–9,07)	0,004
ACE (I/D) + AGT (M235 T)	I аллель ACE + ММ генотип AGT	15 (27,3)	1 (3,3)	0,09 (0,01–0,63)	0,005
Группа после 45 лет: мужчины и женщины					
ACE (I/D) + AGTR2 (C3123A)	I аллель ACE + СС генотип AGTR2	24 (35,3)	50 (20,7)	0,48 (0,41–0,57)	0,01
AGT (M235 T) + AGTR2 (C3123A)	M аллель AGT + СС генотип AGTR2	26 (38,2)	61 (25,4)	0,55 (0,47–0,64)	0,03
Группа после 45 лет: мужчины					
ACE (I/D) + AGTR2 (C3123A)	I аллель ACE + СС генотип AGTR2	13 (54,2)	31 (29)	0,35 (0,28–0,42)	0,02

Примечание: n — количество; ОШ — отношение шансов; ДИ — доверительный интервал; p — уровень значимости.

с повышенным потреблением поваренной соли при наличии патологического А-аллеля наблюдались более высокие уровни АД в сравнении с носителями С-аллеля [37].

Проведенное нами исследование было сосредоточено на изучении ген-генных взаимодействий, влияющих на фенотипическое проявление заболевания. К настоящему времени количество исследований по изучению аллельных взаимодействий генов-кандидатов при эссенциальной АГ немногочисленно. Помимо того, по мнению ряда авторов, наблюдающаяся низкая воспроизводимость полученных результатов происходит по причине межэтнических различий и зависит от обследуемой популяции [38].

В генетическом исследовании Ge D. и соавторов (2007) на ди- и монозиготных близнецах также было показано отсутствие значимого эффекта каждого локуса в отдельности на уровень АД в отличие от генетического взаимодействия нескольких локусов [39]. Проведенный анализ полиморфизмов M235T гена ангиотензиногена и A-239T гена АПФ показал их незначительное влияние на систолическое АД, вклад каждого из которых составлял около 1 % от общей дисперсии систолического АД в покое и во время стресса у молодых нормотензивных лиц. При построении мультилокусных моделей, включающих эти полиморфизмы, установлено значительно большее влияние на уровень систолического АД, составившее 2,5 % и 7,3 % от общей дисперсии для систолического АД в покое и при стрессе соответственно.

В проспективном наблюдении за здоровыми лицами в течение 9 лет было продемонстрировано преимущество изучения совместного вклада нескольких полиморфных локусов генов-кандидатов на развитие АГ [33]. Носительство гомозиготного DD генотипа гена ACE (I/D) в сравнении с другими генотипами (II/ID) ассоциировано с увеличением относительного риска АГ на 31 %, а в сочетании с Trp аллелем гена альфа-аддуцина (ADD, Gly460Trp) — на 59 % или с CC генотипом гена CYP11B2 (C344T) — на 122 %. При наличии сочетания всех трех генотипов и аллелей вышеуказанных генетических полиморфизмов у первоначально нормотензивных участников исследования относительный риск манифестации заболевания увеличивался на 252 % ($p = 0,001$).

В сравнительном китайском исследовании, проведенном методом «случай-контроль», по изучению влияния каждого из шести генов-кандидатов при АГ была получена значимая взаимосвязь только одного гена с заболеванием — гена рецептора к натрийуретическому пептиду (NPRC, A-55C),

при носительстве CC генотипа отношение шансов составило 3,78. Однако последующий анализ ген-генного взаимодействия показал, что при наличии вышеуказанного генотипа в присутствии другого патологического генотипа GG гена эндотелина 2 (ET-2, A985G) отношение шансов увеличивалось до 4,67, а при дополнительной комбинации с MT генотипом гена AGT (M235T) и EE генотипом эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS, Glu298Asp) — до 5,3 [40].

Взаимодействие между генами-кандидатами РААС может оказывать влияние на пенетрантность этих генов в отдельности, тем самым увеличивая предрасположенность к развитию АГ и ее осложнений. При проведении анализа генетических факторов, связанных с тяжелой почечной недостаточностью, в том числе по причине АГ, авторы пришли к выводу, что наибольшее значение оказывают сочетания патологических генотипов генов РААС — ACE (I/D, G2350A), CYP11B2 (C344T) в сравнении с влиянием каждого из них [41].

В результате нашей работы были получены данные о том, что отличий по распределению частот аллелей и генотипов отдельно изучаемых полиморфизмов генов РААС в группах пациентов с АГ и здоровых лиц не наблюдалось. Однако при поиске полигенных ассоциаций были найдены значимо отличающиеся генетические паттерны, характерные для каждой из групп.

Таким образом, результаты настоящего исследования продемонстрировали, что изучение комбинаций различных генетических локусов при эссенциальной АГ более актуально в отличие от проведения ассоциативного анализа с заболеванием каждого локуса в отдельности.

Выводы

1. Сочетанное носительство Т-аллеля полиморфизма M235 Т гена ангиотензиногена и Т-аллеля полиморфизма C344Т гена альдостеронсинтазы ассоциировано с эссенциальной АГ у женщин в возрасте до 45 лет.

2. Получены протективные генетические паттерны, снижающие вероятность развития эссенциальной АГ: I аллель полиморфизма I/D гена АПФ с CC генотипом полиморфизма C3123A гена рецепторов 2-го типа к ангиотензину II; I аллель полиморфизма I/D гена АПФ с MM генотипом полиморфизма M235 Т гена ангиотензиногена у женщин до 45 лет; M аллель полиморфизма M235 Т гена ангиотензиногена с CC генотипом полиморфизма C3123A гена рецепторов 2-го типа к ангиотензину II в возрасте старше 45 лет.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflicts of interest.

Список литературы / References

1. World Health Organization. Global status report on noncommunicable diseases 2014. Geneva, World Health Organization, 2014.
2. Lim SS, Vos T, Flaxman AD, Danaei G, Shibuya K, Adair-Rohani H et al. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2012;380(9859):2224–2260.
3. Бебихов Д. В., Никоненко Т. А., Постнов А. Ю., Постнов Ю. В. Неменделевское наследование артериальной гипертензии: повторяющиеся последовательности ДНК как кандидаты на роль геномных детерминант. *Кардиология*. 2001;6:10–15. [Bebihov DV, Nikonenko TA, Postnov AY, Postnov YuV. Non-Mendelian inheritance of arterial hypertension: repetitive DNA sequences as candidates for the role of genomic determinants. *Kardiologiya*. 2001;6:10–15. In Russian].
4. Lifton RP, Gharavia G, Geller DS. Molecular mechanisms of human hypertension. *Cell*. 2001;104(4):545–556.
5. Abbate R, Sticchi E, Fatini C. Genetics of cardiovascular disease. *Clin Cases Miner Bone Metab*. 2008;5(1):63–66.
6. Corvol P, Soubrier F, Jeunemaitre X. Molecular genetics of the renin-angiotensin-aldosterone system in human hypertension. *Pathol Biol (Paris)*. 1997;45(3):229–239.
7. Matsubara M, Tohoku J. Genetic determination of human essential hypertension. *Exp Med*. 2000;192(1):19–33.
8. Lvovs D, Фаворова О. О., Фаворов А. В. Полигенный подход к исследованиям полигенных заболеваний. *Acta Naturae*. 2012;14(3):62–75. [Lvovs D, Favorova OO, Favorov AV. Polygenic approach to research polygenic diseases. *Acta Naturae*. 2012;14(3):62–75. In Russian].
9. Norton GR, Brooksbank R, Woodiwiss AJ. Gene variants of the renin-angiotensin system and hypertension: from a trough of disillusionment to a welcome phase of enlightenment? *Clin Sci (Lond)*. 2010;118(8):487–506.
10. Roskopf D, Schürks M, Rimmbach C, Schäfers R. Genetics of arterial hypertension and hypotension. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol*. 2007;374(5–6):429–469.
11. Hu DC, Zhao XL, Shao JC, Wang W, Qian J, Chen AH et al. Interaction of six candidate genes in essential hypertension. *Genet Mol Res*. 2014;13(4):8385–8395.
12. Staessen JA, Ginocchio G, Wang JG, Saavedra AP, Soubrier F, Vlietinck R et al. Genetic variability in the renin-angiotensin system: prevalence of alleles and genotypes. *J Cardiovasc Risk*. 1997;4(5–6):401–422.
13. Favorov AV, Andreewski TV, Sudomoina MA, Favorova OO, Parmigiani G, Ochs MF. A Markov Chain Monte Carlo technique for identification of combinations of allelic variants underlying complex diseases in Humans. *Genetics*. 2005;171(4):2113–2121.
14. Markov Chain Monte Carlo in Practice. Eds: Gilks WR, Richardson S and Spiegelhalter DJ. Chapman & Hall, 1996. 486 p.
15. Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J R Stat Soc*. 1995;57:289–300.
16. Мрочек А. Г., Нечесова Т. А., Коробко И. Ю., Ливенцева М. М., Павлова О. С., Пристром А. С. Национальные рекомендации: диагностика, лечение и профилактика артериальной гипертензии. Минск: Приложение к журналу «Кардиология в Беларуси»; 2010. 52 с. [Mrochek AG, Nechesova TA, Korobko IYu, Liventseva MM, Pavlova OS, Pristrom AM. National guidelines: diagnosis, treatment and prevention of arterial hypertension. Minsk, 2010. 52 p. In Russian].
17. Sethi AA, Nordestgaard BG, Gronholdt ML, Steffensen R, Jensen G, Tybjaerg-Hansen A. Angiotensinogen single nucleotide polymorphisms, elevated blood pressure, and risk of cardiovascular disease. *Hypertension*. 2003;41(6):1202–1211.
18. Ortlepp R, Metrikat J, Mevissen V, Schmitz F, Albrecht M, Maya-Pelzer P et al. Relation between the angiotensinogen (AGT) M235T gene polymorphism and blood pressure in a large, homogeneous study population. *J Hum Hypertens*. 2003;17(8):555–559.
19. Pereira TV, Nunes AC, Rudnicki M, Yamada Y, Pereira AC, Krieger JE. Meta-analysis of the association of 4 angiotensinogen polymorphisms with essential hypertension: a role beyond M235T? *Hypertension*. 2008;51(3):778–783.
20. Martinez E, Puras A, Escribano J, Sanchis C, Carrión L, Artigao M et al. Threonines at position 174 and 235 of the angiotensinogen polypeptide chain are related to familial history of hypertension in a Spanish-Mediterranean population. *Br J Biomed Sci*. 2002;59(2):95–100.
21. Shahvaisizadeh F, Movafagh A, Omrani MD, Vaisi-Raygani A, Rahimi Z, Rahimi Z. Synergistic effects of angiotensinogen –217 G→A and T704C (M235T) variants on the risk of severe preeclampsia. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2014;15(2):156–161.
22. Sethi AA, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A. Angiotensinogen gene polymorphism, plasma angiotensinogen, and risk of hypertension and ischemic heart disease: a meta-analysis. *Arterioscler. Thromb. Vasc Biol*. 2003;23(7):1269–1275.
23. Ann Hum Genet, Lin R, Lei Y, Yuan Z, Ju H, Li D. Angiotensinogen gene M235T and T174M polymorphisms and susceptibility of pre-eclampsia: a meta-analysis. 2012;76(5):377–386.
24. Barbato A, Russo P, Siani A, Folkard EJ, Miller MA, Venezia A et al. Aldosterone synthase gene (CYP11B2) C-344T polymorphism, plasma aldosterone, renin activity and blood pressure in a multi-ethnic population. *J Hypertens*. 2004;22(10):1895–1901.
25. Sookoian S, Gianotti TF, González CD, Pirola CJ. Association of the C-344T aldosterone synthase gene variant with essential hypertension: a meta-analysis. *J Hypertens*. 2007;25(1):5–13.
26. Matsubara M, Kikuya M, Ohkubo T, Metoki H, Omori F, Fujiwara T et al. Aldosterone synthase gene (CYP11B2) C-334T polymorphism, ambulatory blood pressure and nocturnal decline in blood pressure in the general Japanese population: the Ohasama Study. *J Hypertens*. 2001;19(12):2179–2184.
27. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest*. 1990;86(4):1343–1346.
28. Agerholm-Larsen B, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A. ACE gene polymorphism in cardiovascular disease: meta-analyses of small and large studies in whites. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20(2):484–492.
29. O'Donnell CJ, Lindpaintner K, Larson MG, Rao VS, Ordovas JM, Schaefer EJ et al. Evidence for association and genetic linkage of the angiotensin-converting enzyme locus with hypertension and blood pressure in men but not women in the Framingham Heart Study. *Circulation*. 1998;97(18):1766–1772.
30. Higaki J, Baba S, Katsuya T, Sato N, Ishikawa K, Mannami T et al. Deletion allele of angiotensin-converting enzyme gene increases risk of essential hypertension in Japanese men: the Suita Study. *Circulation*. 2000;101(17):2060–2065.

31. Todoroki M, Minami J, Ishimitsu T, Ohnri M, Matsuoka H. Relation between the angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and blood pressure in Japanese male subjects. *J Hum Hypertens*. 2003;17(10):713–718.
32. Di Pasquale P, Cannizzaro S, Paterna S. Does angiotensin-converting enzyme gene polymorphism affect blood pressure? Findings after 6 years of follow-up in healthy subjects. *Eur J Heart Fail*. 2004;6(1):11–16.
33. Staessen JA, Wang JG, Brand E, Barlassina C, Birkenhäger WH, Herrmann SM et al. Effects of three candidate genes on prevalence and incidence of hypertension in a Caucasian population. *J Hypertens*. 2001;19(8):1349–1358.
34. Jones A, Dhamrait SS, Payne JR, Hawe E, Li P, Toor IS et al. Genetic variants of angiotensin II receptors and cardiovascular risk in hypertension. *Hypertension*. 2003;42(4):500–506.
35. Aoki S, Mukae S, Itoh S, Sato R, Nishio K, Ueda H et al. Genetic background in patients with acute myocardial infarction. *Jpn Heart J*. 2001;42(1):15–28.
36. Kotani K, Fujiwara S, Tsuzaki K, Sano Y, Matsuoka Y, Hamada T et al. An association between angiotensin II type 2 receptor gene A/C3123 polymorphism and glycemic control marker in a general Japanese population. *Mol Biol Rep*. 2009;36(5):917–920.
37. Miyaki K, Hara A, Araki J, Zhang L, Song Y, Kimura T et al. C3123A polymorphism of the angiotensin II type 2 receptor gene and salt sensitivity in healthy Japanese men. *J Hum Hypertens*. 2006;20(6):467–469.
38. Williams SM, Addy JH, Phillips JA, Dai M, Kpodonu J, Afful J et al. Combinations of variations in multiple genes are associated with hypertension. *Hypertension*. 2000;36(1):2–6.
39. Ge D, Zhu H, Huang Y, Treiber FA, Harshfield GA, Snieder H et al. Multilocus analyses of Renin-Angiotensin-aldosterone system gene variants on blood pressure at rest and during behavioral stress in young normotensive subjects. *Hypertension*. 2007;49(1):107–112.
40. Hu DC, Zhao XL, Shao JC, Wang W, Qian J, Chen AH et al. Interaction of six candidate genes in essential hypertension. *Genet Mol Res*. 2014;13(4):8385–8395.
41. Su SL, Yang HY, Wu CC, Lee HS, Lin YF, Hsu CA et al. Gene-gene interactions in renin-angiotensin-aldosterone system contributes to end stage renal disease susceptibility in a Han Chinese population. *Scientific World Journal*. 2014; 2014:169798. doi: 10.1155/2014/169798

Информация об авторах

Павлова Ольга Степановна — кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией артериальной гипертензии Республиканского научно-практического центра «Кардиология»;

Огурцова Светлана Эдуардовна — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории фармакогенетики Института биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси;

Ливенцева Мария Михайловна — кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории артериальной гипертензии Республиканского научно-практического центра «Кардиология»;

Горбат Татьяна Владимировна — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории артериальной гипертензии Республиканского научно-практического центра «Кардиология»;

Афонин Виктор Юрьевич — кандидат биологических наук, заведующий лабораторией фармакогенетики Института биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси;

Малюгин Владимир Ильич — кандидат физико-математических наук, доцент кафедры математического моделирования и анализа данных факультета прикладной математики и информатики Белорусского государственного университета;

Мрочек Александр Геннадьевич — академик Национальной академии наук Беларуси, доктор медицинских наук, профессор, директор Республиканского научно-практического центра «Кардиология».

Author information

Olga S. Pavlova, MD, PhD, Head, Laboratory of Arterial Hypertension, Republican Scientific and Practical Centre “Cardiology”;

Svetlana E. Ogurtsova, PhD, Principal Researcher, Institute of Bioorganic Chemistry of National Academy of Sciences Republic of Belarus;

Tatyana V. Gorbat, MD, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Arterial Hypertension, Republican Scientific and Practical Centre “Cardiology”;

Maria M. Liventseva, MD, PhD, Principal researcher, Laboratory of Arterial Hypertension, Republican Scientific and Practical Centre “Cardiology”;

Victor Yu. Afonin, PhD, Head, Laboratory of Pharmacogenetics, Institute of Bioorganic Chemistry of National Academy of Sciences Republic of Belarus;

Vladimir I. Malugin, PhD, Faculty of Applied Mathematics and Computer Science, Belarussian State University;

Alexander G. Mrochek, MD, PhD, Academician of the Belarussian National Academy of Science, Professor, Director, Republican Scientific and Practical Centre “Cardiology”.