

УДК: 616.12-008.331.1:616.831-005.1:612.015.1 (575.2) (04)

**ИЗУЧЕНИЕ АССОЦИИАЦИИ Gln27Glu ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА
β₂-АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ
У БОЛЬНЫХ ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ ГИПЕРТОНИЕЙ**

Н.Б. Ческидова – аспирант

О.А. Пак – соискатель

А.Г. Полуанов – канд. мед. наук

Т.А. Романова – канд. мед. наук

The researches of association Gln27Glu polymorphism of the β₂-adrenoreceptors' gene with available essential hypertension in ethnic Kyrgyz people were made. The allelic variants of β₂-adrenoreceptors gene with use of polymerase chain reaction were defined and described in the article.

Эссенциальная гипертензия (ЭГ) – одно из наиболее распространенных заболеваний. В разных популяциях частота ее составляет 20–50%. Многочисленные эпидемиологические исследования показывают, что уровень АД подвержен влиянию как генетических, так и факторов окружающей среды. Полагают, что суммарный вклад наследственных влияний, определяющих вариабельность уровня АД, колеблется от 22 до 43% [1]. О важной роли генетического компонента свидетельствуют результаты семейного и близнецового анализов. В частности, описана высокая степень совпадения уровней АД у монозиготных (до 85%) и дизиготных (до 54%) близнецов [2]. Имеются данные о накоплении случаев заболеваемости ЭГ в семьях и конкордантности уровней АД у кровных родственников [3].

Одним из наиболее перспективных подходов к оценке генетической предрасположенности к ЭГ является изучение ее ассоциации с определенными генами-кандидатами [4, 5]. Генами-кандидатами называют гены, продукты экспрессии которых (ферменты, гормоны, рецепторы, структурные или транспортные белки) могут прямо или косвенно участвовать

в развитии изучаемой болезни [6]. В качестве полиморфного маркера могут использоваться как транскрибируемые (мисенс) модификации структурной части гена, так и нетранскрибируемые (носенс) мутации регуляторной области. Наличие полиморфного генетического маркера, во-первых, может сказываться на структуре кодируемого белка и, следовательно, на его биологической активности, а во-вторых, может отражаться на уровне экспрессии соответствующего белка, что в итоге и определяет участие гена-кандидата в развитии заболевания. Известно, что важнейшая роль в регуляции АД, а также в становлении и прогрессировании ЭГ принадлежит симпатической нервной системе (СНС). В ряде экспериментальных и клинических исследований продемонстрирована важная роль СНС в регуляции сосудистого тонуса, сердечного выброса и водно-солевого обмена [6], т.е. факторов в значительной степени определяющих уровень АД.

Одним из генов-кандидатов, относящихся к СНС и участвующих в регуляции АД, является ген β₂-адренорецепторов (β₂-АР), который локализован на гладкомышечных клетках со-

судистой стенки. Стимуляция этого рецептора эндогенными катехоламинами (КА) приводит к вазодилатации и снижению АД. Соответственно, генетические вариации (полиморфизм) β_2 -АР, ответственных за вазодилатацию, могут вносить вклад в развитие и прогрессирование этого заболевания.

К настоящему времени идентифицировано 9 полиморфизмов в кодирующей части β_2 -АР, из которых 4 приводят к аминокислотным заменам в белковой последовательности [7]. Как показали работы с трансгенными клеточными линиями, один из этих полиморфизмов не влияет на функциональные особенности рецептора, поэтому в дальнейшем исследования были сосредоточены на трех остальных заменах Arg16Gly, Gln27Glu, Trp164Ile. В ряде исследований было установлено, что замена глутаминовой кислоты на глутамин в 27 позиции (Gln27Glu-полиморфизм) приводит к снижению базального кровотока и угнетению вазодилаторного ответа при стимуляции изопроterenолом [8], что в свою очередь может явиться фактором, предрасполагающим к развитию указанной гипертонии.

Целью исследования явилось изучение ассоциации Gln27Glu полиморфизма гена β_2 -адренорецепторов с наличием эссенциальной гипертонии среди этнических кыргызов.

Материал и методы. С этим заболеванием обследовано 126 мужчин (этнических кыргызов) в возрасте 30–70 лет, из них для генотипирования были отобраны 104. Диагноз ЭГ устанавливали на основании клинико-инструментальных критериев, рекомендованных ВОЗ и МОАГ (1999г). Из исследования исключали пациентов с коронарной болезнью сердца, перенесших острый инфаркт миокарда, мозговой инсульт, имеющих признаки сердечной недостаточности II-IV ФК по NYHA, мерцательную аритмию, клапанные пороки сердца, сахарный диабет, а также страдающих вторичными формами артериальной гипертонии. В контрольную группу были включены 66 сопоставимых по возрасту мужчин-кыргызов, у которых при трехкратном измерении артериальное давление было ниже 130/85 мм рт.ст.

ДНК выделяли из клеток крови с использованием набора для экстракции ДНК из венозной крови Nucleon BACC3 (Amersham Phar-

macia Biotech, Швеция). Определение Gln27Gln полиморфизма гена β_2 -адренорецептора осуществляли с помощью ПЦР и специальных праймеров 5'-CACCCAATAGAAGCCATGC-3' и 5'-ACAGCACATCAATGGAAGTCC-3' и последующей рестрикцией полученных ПЦР продуктов. Использовали фермент Fnu4HI. В результате рестрикции Fnu4HI образуются рестрикционные фрагменты: Glu-235 и 74 п.н.; Gln-196, 74 и 39 п.н, которые разделялись с помощью горизонтального электрофореза в 2%-ном агарозном геле с этидиумом бромида. Сканирование геля и анализ полученных результатов осуществляли на имидж-денситометре Fluor-S MultiImager (Bio-Rad, США).

Результаты исследования подвергали статистической обработке с использованием стандартных статистических программ. Распределение аллелей и генотипов Gln27Glu полиморфизма гена β_2 -АР в выделенных группах сравнивали при помощи таблицы сопряжения с использованием непараметрических критериев χ^2 , z-критерия. Различия между группами считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования. Как следует из данных, представленных в таблице, сравнительная оценка частоты встречаемости генотипов и аллелей Gln27Glu полиморфизма гена β_2 -АР у здоровых лиц и больных выявила существенные различия между ними. Так, частота аллелей составляла ($\chi^2=7,65$, $p<0,05$), частота Gln-аллеля у больных увеличилась 83,2% против 65,9% в контрольной группе, $p<0,001$. Напротив, встречаемость аллеля Glu у больных оказалась существенно ниже, чем в контрольной группе (16,8% против 34,1%, $p<0,001$) (см. таблицу).

Следует отметить, что патогенетическая роль Gln-аллеля проявляется только в гомозиготном состоянии. Так, частота встречаемости Gln27Gln генотипа у больных была почти в 2 раза выше, чем в контрольной группе (72,1% против 42,4%, $p<0,001$). Напротив, распространенность Gln27Glu генотипа у больных оказалась существенно ниже, чем у здоровых (22,1% против 46,9%, $p<0,001$). Анализируе-

Распространенность аллелей и генотипов Gln27Glu полиморфизма гена β_2 -адренорецепторов у здоровых лиц и больных эссенциальной гипертонией с неосложненным течением заболевания

Генотип и аллели	Здоровые (n=66)		Больные (n=104)		P
	кол-во	%	кол-во	%	
Gln27Gln	28	42,4	75	72,1	<0,001
Glu27Gln	31	46,9	23	22,1	<0,001
Glu27Glu	7	10,7	6	5,8	нд
Gln	87	65,9	173	83,2	<0,001
Glu	45	34,1	35	16,8	<0,001

P – достоверность различий между группами; нд – различия недостоверны.

мые группы не различались по встречаемости гомозигот по Glu-аллелю, видимо, в результате низкой распространенности данного генотипа в изучаемой популяции.

Обсуждение. Известно, что в развитии и прогрессировании эссенциальной гипертонии важную роль играет повышенная активность нервной системы. При этом показано, что при гипертонии гиперактивность данной системы не во всех случаях обусловлена повышенным высвобождением катехоламинов из симпатических нервных окончаний и надпочечников, последнее имеет место лишь у 30–40% больных и животных с экспериментальными моделями артериальной гипертонии (АГ) [9, 10]. Бесспорным является вклад увеличенной постсинаптической чувствительности клеток к катехоламинам и общее повышение симпато-адреналовой активности при этом заболевании.

Функциональные исследования чувствительности периферических адренорецепторов (АР) при заболевании у человека и экспериментальной артериальной гипертонии у животных свидетельствуют о том, что переход от гипертонии высокого сердечного выброса в ранних стадиях к гипертонии высокого периферического сопротивления в более поздних стадиях связан со снижением чувствительности постсинаптических β -АР и увеличением чувствительности α -АР, что приводит к уменьшению вазодилатирующих и усилению вазоконстрикторных влияний [11, 12]. При этом обнаружено, что функциональная активность АР (в том числе β_2 -АР) может быть генетически детерминирована [2]. В частности, для β_2 -АР к настоящему времени идентифици-

ровано девять полиморфизмов в кодирующей части его гена, из них три влияют на функциональные особенности рецептора: замены Arg16Gly, Gln27Glu, Trp164Ile.

Как уже отмечалось, в ряде экспериментальных и клинических исследований была установлена связь Gln27Glu и Arg16Gly полиморфизмов гена β_2 -АР со сниженным базальным кровотоком и уменьшенным вазодилаторным ответом на изопроterenол [8, 13]. Так, генотип Gln27Gln ассоциируется с низкой активностью β_2 -АР сосудов, поэтому вазодилаторный ответ у носителей этого генотипа будет понижен, т.е. больше склонность к спазму сосудов. В свою очередь это может явиться патогенетическим фактором, способствующим повышению общего периферического сосудистого сопротивления (ОПСС) и развитию данного заболевания. Поэтому нами изучено влияние Gln27Glu полиморфизма гена β_2 -АР на частоту развития и клинико-функциональные особенности эссенциальной гипертонии в этнически однородной группе – у мужчин-кыргызов.

Результаты исследования свидетельствуют о наличии ассоциации Gln27Glu полиморфизма гена β_2 -АР при этом заболевании в кыргызской популяции. При этом в изучаемой популяции носительство Gln27Gln генотипа, очевидно, можно рассматривать как фактор, предрасполагающий к развитию гипертонии.

В этом отношении результаты нашей работы совпадали с данными K. Bengtsson и соавт. [13], которые при обследовании близнецовых пар показали связь Gln27Gln генотипа с повышением систолического АД и ОПСС у лиц европейской расы. При этом авторы под-

черквивают, что возможным патогенетическим механизмом выявленной взаимосвязи может быть более быстрая десенситизация β_2 -АР и сниженный вазодилататорный ответ на катехоламины у Gln27Gln гомозигот. Сходные данные приводят и другие авторы [14, 15].

В то же время в ряде исследований получены противоположные результаты. Так, Н. Snieder и соавт. [16] при обследовании 395 европейцев и 275 негров выявили связь Gln-аллеля с уровнем диастолического АД у здоровых лиц европейской расы. М. Tomaszewsky и соавт. [17] вообще не обнаружили ассоциации Gln27Glu и Arg16Gly полиморфизмов гена β_2 -АР с развитием заболевания.

Таким образом, к настоящему времени результаты исследований, посвященных изучению взаимосвязи Gln27Glu полиморфизма гена β_2 -АР с развитием ЭГ, остаются довольно противоречивыми. Для окончательного решения вопроса о роли указанного полиморфизма в развитии гипертензии, по-видимому, необходимо проведение крупномасштабных популяционных исследований.

Литература

1. Бубнов Ю.И., Арабидзе Г.Г., Максимова Н.В. // *Терап. арх.* – 1993. – №12. – С. 16–19.
2. Lathrop M., Soubrier F. Genetic basis of hypertension // *Current Opinion in Nephrology and Hypertension.* – 1994. – V. 3. – P. 200–206.
3. Лильин Е.Т., Богомазов Е.А., Гофман-Кадочников П.Б. *Генетика для врачей* // *Медицина.* – 1983. – №2. – С. 256.
4. Kotevisev Y.V., Clauser E., Corvol P., Soubrier F. Dinucleotide Repeat Polymorphism in the Human Angiotensinogen gene // *Nucleic Acids Res.* – 1991. – V. 19. – P. 6978.
5. Tarnow L., Cambien F., Rossing P. et al. // *Diabetes.* – 1996. – V. 45. – P. 367–369.
6. Mao C., Soubrier F. The vascular wall as target for association studies by candidate gene approach // *Blood Pressure.* – 1996. – V. 5. – Suppl. 4. – P. 6–12.
7. Svetkey L.P., Timmons P.Z., Emovon O., et al. Association of Hypertension with β_2 - and α_{2c10} -Adrenergic Receptor Genotype // *Hypertension.* – 1996. – V. 27 – P. 1210–1215.
8. Cockcroft J.R., Gazis A.G., Cross D.J., et al. Beta-2 adrenoceptor polymorphism determines vascular reactivity in humans // *Hypertension.* – 2000. – V. 36. – P. 371–375.
9. Goldstein D.S. Plasma catecholamines and essential hypertension: an analytical review // *Hypertension.* – 1983. – V. 5. – P. 86–99.
10. Чазов Е.И., Парфенова Е.В., Красникова Т.Л., и др. Периферические β -адренорецепторы при артериальной гипертензии // *Терап. арх.* – 1999. – № 11. – С. 71–76.
11. Folkow B. Physiological aspects of primary hypertension // *Physiol Rev.* – 1982. Apr. – V. 62 (2). – P. 347–504.
12. De Champlain J. Pre- and postsynaptic adrenergic dysfunction in hypertension // *J Hypertens Suppl.* – 1990. – V. 8 (7). – S. 77–85.
13. Dishy V., Sofowora G.G., Xie H., et al. The effect of common polymorphism of the β_2 -adrenergic receptor on agonist-mediated vascular desensitization // *N Engl J Med.* – 2001. – V. 345. – P. 1030–1035.
14. Heckbert, S.R., Hindorff, L.A., Edwards, K.L., et al. β_2 -adrenergic receptor polymorphisms and risk of incident cardiovascular events in the elderly // *Circulation.* – 2003. – V. 107. – P. 2021–2024.
15. Snieder H., Dong Y., Barbeau P., et al. Beta2-adrenergic receptor gene and resting hemodynamics in European and African American youth // *Am J Hypertens.* – 2002. – V. 5 (11). – P. 73–79.
16. Tomaszewski M., Brain N. Charchar J., et al. Essential Hypertension and β_2 -adrenergic receptor polymorphism gene: linkage and association analysis // *Hypertension.* – 2002. – V. 40. – P. 286–291.
17. Kato N., Sugiyama T., Morita H., et al. Association analysis of β_2 -adrenergic receptor polymorphisms with hypertension in Japanese // *Hypertension.* – 2001. – V. 37. – P. 286–292.