

Сенцова Т. Б.^{1,2}, Ворожко И. В.¹, Черняк О. О.¹, Богданов А. Р.^{1,2},
Залетова Т. С.¹, Гюева З. М.¹, Богданова А. А.³, Донников А. Е.⁴

¹ ФГБУН «ФИЦ питания, биотехнологии и безопасности пищи», Москва

² ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Минздрава России, Москва

³ «ГКБ № 1 им. Н. И. Пирогова» Департамента здравоохранения г. Москвы

⁴ ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В. И. Кулакова» Минздрава России, Москва

ХАРАКТЕРИСТИКА РЕНИН-АНГИОТЕНЗИН-АЛЬДОСТЕРОНОВОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТАХ ГЕНА VDR У БОЛЬНЫХ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ И ОЖИРЕНИЕМ

Ключевые слова: полиморфизм, ген VDR, артериальная гипертензия, ренин-ангиотензин-альдостероновая система.

Ссылка для цитирования: Сенцова Т. Б., Ворожко И. В., Черняк О. О., Богданов А. Р., Залетова Т. С., Гюева З. М., Богданова А. А., Донников А. Е. Характеристика ренин-ангиотензин-альдостероновой системы при полиморфных вариантах гена VDR у больных артериальной гипертензией и ожирением. Кардиология. 2018;58(8):45–49.

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Изучение ренин-альдостерон-ангиотензиновой системы (РААС) при полиморфных вариантах гена рецептора витамина D (VDR) у больных артериальной гипертензией (АГ) и ожирением. *Материалы и методы.* В исследование были включены 98 больных АГ 2–3-й степени и ожирением (33 мужчины, 65 женщин, средний возраст 61,1±9,9 года, индекс массы тела 43,3±5,0 кг/м²). Исследование полиморфных маркеров гена VDR включало изучение генотипов TaqI, BsmI, FokI. У больных АГ и ожирением изучалось содержание компонентов РААС при идентификации сайтов TaqI, BsmI, FokI гена VDR. *Результаты.* Установлена ассоциативная взаимосвязь наличия аллеля G сайта BsmI и гомозиготного C/C сайта FokI гена VDR с наличием АГ у больных ожирением. У больных АГ увеличение содержания ренина отмечено только при гомозиготном T/T генотипе FokI, различий по содержанию альдостерона и ангиотензина между изученными генотипами не выявлено. *Заключение.* Полиморфные аллели и генотипы гена VDR могут использоваться в качестве предикторов развития АГ у больных ожирением с последующей характеристикой состояния РААС.

Sentsova T. B.^{1,2}, Vorozhko I. V.¹, Chernyak O. O.¹, Bogdanov A. R.^{1,2},
Zaletova T. S.¹, Gioeva Z. M.¹, Bogdanova A. A.³, Donnikov A. E.⁴

¹ Federal Research Centre of Nutrition and Biotechnology, Moscow, Russia

² Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

³ N. I. Pirogov City Clinical Hospital № 1, Moscow, Russia

⁴ V. I. Kulakov Obstetrics, Gynecology and Perinatology Research Center, Moscow, Russia

CHARACTERISTICS OF THE RENIN-ANGIOTENSIN-ALDOSTERONE SYSTEM IN CARRIERS OF POLYMORPHIC VARIANTS OF THE VDR GENE WITH ARTERIAL HYPERTENSION AND OBESITY

Keywords: polymorphism; VDR gene; arterial hypertension; renin-angiotensin-aldosterone system.

For citation: Sentsova T. B., Vorozhko I. V., Chernyak O. O., Bogdanov A. R., Zaletova T. S., Gioeva Z. M., Bogdanova A. A., Donnikov A. E. Characteristics of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System in Carriers of Polymorphic Variants of the VDR Gene With Arterial Hypertension and Obesity. Kardiologiia. 2018;58(8):45–49.

SUMMARY

Aim: to study the renin-angiotensin-aldosterone-system (RAAS) in patients with polymorphic variants of the vitamin D receptor gene (VDR), arterial hypertension (AH) and obesity. *Materials and methods.* We included in this study 98 patients with stage II–III AH and obesity (33 men, 65 women, mean age 61.1±9.9 years and BMI 43.3±5.0 kg/m²). The VDR gene study included genotypes TaqI, BsmI, FokI. After identification of TaqI, BsmI, FokI VDR gene sites we carried out measurements of levels of RAAS markers. *Results.* We revealed an associative relationship between the presence of allele G of the BsmI site, C/C homozygosity of FokI site of VDR gene and presence of AH in patients with obesity. An increase of renin level was noted only in the homozygous T/T genotype of FokI, no differences in the concentration of aldosterone and angiotensin were detected between any of the studied genotypes. *Conclusion.* Polymorphic alleles and genotypes of the VDR gene can be used as predictors of AH development in obese patients with subsequent characterization of the state of the RAAS system.

В настоящее время общепризнан мультифакторный характер развития артериальной гипертензии (АГ), при котором генетическая составляющая играет не только важную, но иногда и определяющую роль в реализации биохимических и нейрогормональных изменений [1]. Выявление генетических маркеров предрасположенности к АГ в основном сводилось к исследованию генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС), ответственных за поддержание долгосрочного уровня артериального давления (АД) [2]. Получены убедительные данные, свидетельствующие о наличии полиморфизма генов этой системы, и оценена роль каждого аллеля в формировании патогенетического варианта АГ [3].

Исходя из полигенного характера предрасположенности к развитию АГ, были предприняты попытки выявления и других так называемых генов-кандидатов. В основном они сводились к исследованию генов NO-синтазы, гомоцистеина, эндотелина, простаглицлина, иммунных маркеров воспаления и др. [4]. В связи с этим в последние годы обсуждается роль гена рецептора витамина D (VDR) в развитии АГ [5]. Установлено, что ген VDR кодирует внутриклеточный рецептор, способный, в частности, связывать активные формы витамина D, опосредованно влияя на уровни систолического и диастолического АД [6]. Поскольку рецептор витамина D широко представлен во многих клетках и тканях организма, то основное внимание исследователей было направлено на изучение ассоциации полиморфизма гена VDR с развитием хронической обструктивной болезни легких, псориаза, раковых опухолей, сахарного диабета 2-го типа, болезни Паркинсона и др. [7]. Однако работы, посвященные определению ассоциативной взаимосвязи полиморфных вариантов гена VDR и развития АГ, немногочисленны, а их результаты порой противоречат друг другу [8].

Нутригеномные исследования последних лет свидетельствуют о том, что ряд нутриентов опосредованно могут влиять на экспрессию генов [9]. Поэтому представляется актуальным поиск генетических маркеров в условиях формирования алиментарно-зависимых заболеваний, к которым относится ожирение. В настоящее время рассматриваются как минимум 2 механизма взаимодействия жировой ткани с РААС. Во-первых, возможность жировой ткани самостоятельно секретировать ангиотензиноген, во-вторых, стимуляция неэстерифицированными жирными кислотами синтеза альдостерона, независимо от ренина [10]. Кроме того, дефицит полиненасыщенных жирных кислот, который наблюдается у больных с ожирением, способствует снижению экспрессии генов, вовлеченных в синтез холестерина и жирных кислот, что отражается как на биохимических процессах, так и на процессах нейрогормональной регуляции [11].

Целью исследования явилось изучение РААС при полиморфных вариантах гена VDR у больных АГ и ожирением.

Материал и методы

Сравнивали две группы больных ожирением III степени: 1-я группа (основная) – больные с АГ 2–3-й степени, 2-я группа (контрольная) – больные без АГ. В основную группу были включены 98 больных (33 мужчины, 65 женщин, средний возраст $61,1 \pm 9,9$ года, средний индекс массы тела – ИМТ $43,3 \pm 5,0$ кг/м²), русской национальности, проживавших на территории Москвы. Группу контроля составили 36 больных ожирением без АГ, русской национальности, проживающие на территории Москвы, проходившие диспансерное обследование в клинике ФИЦ питания и биотехнологии.

В соответствии с критериями включения были обследованы больные, обратившиеся в отделение сердечно-сосудистой патологии ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии». Процедура скрининга включала клиническое, в том числе физическое, обследование больных, антропометрические исследования, исследование композиционного состава тела, суточное мониторирование АД, эхокардиографию, электрокардиографию, взятие образцов крови для лабораторных исследований.

Критерии включения в исследование: возраст 18–70 лет; наличие АГ 2–3-й степени (систолическое АД более 160 мм рт. ст., диастолическое АД более 100 мм рт. ст.); нормальная систолическая функция левого желудочка (ЛЖ) по данным эхокардиографии (фракция выброса ЛЖ >50%, индекс конечного диастолического объема ЛЖ <102 мл/м²); окружность талии более 90 см; ИМТ >30 и <50 кг/м²; наличие информированного согласия на проведение исследований.

Критерии отказа от включения: беременность, кормление грудью; анемия; лихорадка; обострение хронического заболевания; хроническая почечная недостаточность; острая и/или декомпенсированная хроническая сердечно-сосудистая патология; инсулинзависимый сахарный диабет, ишемическая болезнь сердца.

Исследование являлось открытым, проспективным, одобрено этическим комитетом ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии».

Характеристика и клинический статус больных представлены в табл. 1.

Геномную ДНК пациентов использовали для амплификации фрагментов ДНК, содержащих полиморфные маркеры генов-кандидатов. Анализировали следующие гены-кандидаты: генотипы TagI VDR, генотипы BsmI VDR, генотипы FokI VDR. Для выделения ДНК использовали набор Проба-Рapid-Генетика. Анализ полиморфных маркеров FokI (rs2228570; с. 2T>C), BsmI (rs1544410; с. 1024+283G>A) и TaqI (rs731236; с. 1056T>C) гена VDR проводили методом полимеразной цепной реакции в реальном времени при использовании детектирующего амплификатора ДТ-96 и наборами для ДНК-диагностики.

Таблица 1. Характеристика больных, включенных в исследование

| Показатель | Основная группа | Контрольная группа |
|---------------------------------------|-----------------|--------------------|
| Число больных | 98 | 36 |
| Средний возраст, годы | 61,1±9,9 | 58,1±6,1 |
| Среднее систолическое АД, мм рт. ст. | 172±23,4 | 122±20,4 |
| Среднее диастолическое АД, мм рт. ст. | 94±6,9 | 66±10,1 |
| ИМТ, кг/м ² | 43,3±5,0* | 22,3±4,2 |
| ММАЖ, г | 270,0±13,3* | 120,3±25,3 |
| ИММАЖ, г/м ² | 117,4±4,6 | 105,9±6,7 |
| ФВ ЛЖ, % | 57,5±6,1 | 62,5±4,2 |
| ФУ ЛЖ, % | 24,1±3,9 | 28,8±5,4 |
| СрДЛА, мм рт. ст. | 36,8±9,5* | 16,1±3,5 |
| СисДЛА, мм рт. ст. | 41,4±2,7* | 21,4±3,3 |

* – различия достоверны (p<0,05) по сравнению с контрольной группой. АД – артериальное давление; ИМТ – индекс массы тела; ММАЖ – масса миокарда левого желудочка; ИММАЖ – индекс массы миокарда левого желудочка; ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка; ФУ ЛЖ – фракция укорочения левого желудочка; СрДЛА – среднее давление в легочной артерии; СисДЛА – систолическое давление в легочной артерии.

Содержание ренина, альдостерона, ангиотензина II определяли методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов.

Статистическая обработка результатов исследования выполнена с помощью пакета прикладных программ Statistica версия 6.0. Различия по частотам аллелей или генотипов выявляли с помощью критерия χ^2

с поправкой Йетса. Оценку доверительных интервалов (ДИ) для расчетных значений отношения шансов (ОШ) проводили методом максимального правдоподобия Вальда. Различия в концентрации ренина, альдостерона, ангиотензина II при различных полиморфных вариантах гена VDR оценивали с помощью t-теста Аспина–Уэлча. Данные представлены как среднее (М) и ошибка среднего (m). Различия считали статистически значимыми при p<0,05.

Результаты и обсуждение

При изучении частоты генотипов TagI, BsmI, FokI VDR у больных АГ и ожирением и в контрольной группе получены следующие результаты (табл. 2).

У пациентов с АГ и ожирением выявлялась достоверно повышенная частота аллеля G в сайте BsmI гена VDR (ОШ 2,12; p=0,01) как при гомозиготном G/G, так и при гетерозиготном G/A носительстве генотипа, что дает основание рассматривать его в качестве прогностического маркера, ассоциированного с риском развития АГ у больных ожирением.

Обращает внимание то, что у больных без АГ чаще обнаруживалось носительство мутантного гомозиготного генотипа A/A полиморфного сайта BsmI гена VDR (ОШ 0,27; p=0,005), чем у пациентов с АГ. Можно предположить, что носительство данного генотипа является протективным в отношении развития АГ у больных ожирением.

Таблица 2. Распределение частот полиморфизмов гена VDR у больных АГ и ожирением

| Генотипы и аллели гена VDR | АГ (+) | | АГ (-) | | χ^2 | p | ОШ (95% ДИ) |
|-----------------------------------|--------|-------|--------|-------|----------|--------|------------------------|
| | Абс. | % | Абс. | % | | | |
| T1206C [rs731236] гена VDR | | | | | | | |
| T/T | 56 | 0,571 | 19 | 0,528 | 2,62 | 0,27 | 1,19 (от 0,55 до 2,57) |
| T/C | 26 | 0,265 | 14 | 0,389 | | | 0,57 (от 0,25 до 1,27) |
| C/C | 16 | 0,163 | 3 | 0,083 | | | 2,15 (от 0,59 до 7,86) |
| | n=98 | | n=36 | | | | |
| T | | 0,704 | | 0,722 | 0,08 | 0,78 | 0,90 (от 0,42 до 1,91) |
| C | | 0,296 | | 0,278 | | | 1,11 (от 0,52 до 2,37) |
| A283G [rs1544410] гена VDR | | | | | | | |
| GG | 13 | 0,133 | 3 | 0,083 | 10,51 | 0,005 | 1,68 (от 0,45 до 6,29) |
| GA | 62 | 0,633 | 14 | 0,389 | | | 2,71 (от 1,23 до 5,94) |
| AA | 23 | 0,235 | 19 | 0,528 | | | 0,27 (от 0,12 до 0,61) |
| | n=98 | | n=36 | | | | |
| G | | 0,449 | | 0,278 | 6,41 | 0,01 | 2,12 (от 1,18 до 3,81) |
| A | | 0,551 | | 0,722 | | | 0,47 (от 0,26 до 0,85) |
| A2G [rs2228570] гена VDR | | | | | | | |
| TT | 19 | 0,194 | 4 | 0,111 | 16,77 | 0,0002 | 1,92 (от 0,61 до 6,10) |
| TC | 23 | 0,235 | 22 | 0,611 | | | 0,20 (от 0,09 до 0,44) |
| CC | 56 | 0,571 | 10 | 0,278 | | | 3,47 (от 1,51 до 7,96) |
| | n=98 | | n=36 | | | | |
| T | | 0,311 | | 0,417 | 2,61 | 0,11 | 0,63 (от 0,36 до 1,10) |
| C | | 0,689 | | 0,583 | | | 1,58 (от 0,91 до 2,76) |

ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал. Здесь и в табл. 3: АГ – артериальная гипертензия.

Таблица 3. Содержание ренина, ангиотензина II и альдостерона при полиморфных вариантах гена VDR у больных с АГ и ожирением (пг/мл)

| Показатель | Генотип | | | P ₁₋₂ | P ₁₋₃ | P ₂₋₃ |
|----------------|------------------------|-------------|-------------|------------------|------------------|------------------|
| | Генотип FokI rs2228570 | | | | | |
| | T/T | T/C | C/C | | | |
| Ангиотензин II | 85,87±9,224 | 109,9±51,75 | 77,25±6,312 | 0,6631 | 0,4581 | 0,5536 |
| Альдостерон | 542,0±286,8 | 486,6±129,3 | 365,8±88,58 | 0,8660 | 0,5827 | 0,4570 |
| Ренин | 13,82±6,532 | 3,234±0,984 | 3,359±0,520 | 0,1699 | 0,1712 | 0,9127 |
| | Генотип TakI | | | | | |
| | T/T | T/C | C/C | | | |
| Ангиотензин II | 92,72±7,56 | 99,64±45,73 | 78,66±6,14 | 0,0932 | 0,0864 | 0,0912 |
| Альдостерон | 589±346 | 426±114 | 383±89 | 0,8561 | 0,8432 | 0,8630 |
| Ренин | 15,07±5,95 | 7,23±0,92 | 3,15±0,53 | <0,05 | <0,05 | 0,5300 |
| | Генотип BsmI rs1544410 | | | | | |
| | G/G | G/A | A/A | | | |
| Ангиотензин II | 84,39±12,55 | 96,25±18,86 | 61,88±5,897 | 0,6074 | 0,1766 | 0,0948 |
| Альдостерон | 513,7±211,6 | 464,4±116,7 | 286,3±44,74 | 0,8454 | 0,3704 | 0,1690 |
| Ренин | 1,682±0,865 | 4,449±1,025 | 10,20±5,609 | 0,0598 | 0,1840 | 0,3519 |

При анализе частоты полиморфного маркера TakI гена VDR у больных из основной и контрольной групп не выявлено различий в отношении как распределения аллелей, так и гомо- и гетерозиготных генотипов.

Неоднозначные результаты получены при исследовании частоты полиморфного локуса FokI гена VDR у больных АГ и ожирением. Как свидетельствуют полученные данные, носительство аллелей T и C у больных с АГ не отличались от носительства их у пациентов контрольной группы (ОШ 0,63 и 1,58 соответственно; p=0,11). Однако частота гомозиготного генотипа C/C локуса FokI у пациентов с АГ и ожирением была выше, чем в контрольной группе (ОШ 3,47; p=0,0002).

Таким образом, результаты статистического анализа продемонстрировали, что наиболее информативным маркером наследования у больных АГ и ожирением является аллель G в сайте BsmI и гомозиготный генотип C/C в сайте FokI гена VDR.

В многочисленных экспериментальных работах, проведенных в последние годы, показано, что компоненты РААС могут синтезироваться не только в юктагломерулярном аппарате почек, печени и надпочечниках, но и в других органах-мишенях [12]. Последующие клинические данные позволили обнаружить компоненты РААС в жировой ткани, особенно при развитии висцерального ожирения [13]. В связи с этим представлялось целесообразным проанализировать содержание ренина, ангиотензина и альдостерона при различных вариантах полиморфизма гена VDR у больных АГ и ожирением.

По данным исследования (табл. 3), не обнаружено статистически значимых различий в содержании ренина, альдостерона и ангиотензина II при гомо- и гетерозиготных вариантах генотипов FokI и BsmI гена VDR.

Напротив, при гомозиготном варианте T/T генотипа TakI VDR уровни ренина значительно превышали (p<0,05) полученные в других группах. Поскольку ренин является инициатором запуска и преобразования ангиотензина II, а затем и альдостерона, полученные результаты у больных АГ и ожирением имеют принципиальное значение, позволяющее выделить эту группу для проведения целевой фармакотерапии с использованием препаратов – ингибиторов этого гормона.

Кроме того, установлено, что носительство T/T генотипа TakI VDR наблюдалось у больных с ИМТ >35,0 кг/м², что, по-видимому, является следствием формирования у них метаболического синдрома.

Оценивая полученные результаты, следует отметить, что дизайн исследования сформирован в соответствии с клинической реализацией принципов персонализированной медицины, согласно которым, использование геномных данных позволяет прогнозировать вероятность развития заболевания и эффективность проводимой фармако- и диетотерапии [14]. Поэтому была сформирована группа больных АГ и ожирением, у которых данные генетического исследования сопоставлялись с данными пациентов с ожирением без АГ. В результате сравнительного анализа установлена ассоциативная взаимосвязь наличия аллеля G сайта BsmI и гомозиготного генотипа C/C сайта FokI гена VDR с развитием АГ у больных ожирением. Однако исследование полиморфных вариантов гена VDR у больных АГ показало увеличенные концентрации ренина у пациентов только при гомозиготном T/T генотипе FokI, в то время как изменения содержания альдостерона и ангиотензина не фиксировались ни при одном из изученных генотипов.

Таким образом, полученные результаты позволяют расширить представления о полигенном характере АГ у больных ожирением и создают предпосылки для про-

ведения адекватных профилактических, фармакологических, а также диетологических мероприятий при данном заболевании.

Information about the author:

Federal Research Centre of Nutrition and Biotechnology, Moscow, Russia

Иля V. Vorozhko – PhD.

E-mail: bio45@inbox.ru

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Puzyrev V.I. Genetics of arterial hypertension (current research paradigms). *Clinical Medicine* 2003;1:12–18. Russian (Пузырев В.П. Генетика артериальной гипертензии (современные исследовательские парадигмы). *Клиническая медицина* 2003;1:12–18.)
2. Sun J., Zhao M., Miao S., Xi B. Polymorphisms of three genes (ACE, AGT and CYP11B2) in the renin-angiotensin-aldosterone system are not associated with blood pressure salt sensitivity: A systematic meta-analysis. *Blood Press* 2016; 25:117–122. DOI: 10.3109/08037051.2015.1110923
3. Kohli S., Kumar R., Gupta M. et al. Impact of interactions between risk alleles on clinical endpoints in hypertension. *Heart Asia* 2016;9:83–89. DOI: 10.1136/heartasia-2016-010723.
4. Ozaki K. Genetic background of heart failure: SNP association study for heart failure and the underlying diseases. *Rinsho Byori* 2013;2:167–175. PMID:23672095
5. Jhun M.A., Hu H., Schwartz J. et al. Effect modification by vitamin D receptor genetic polymorphisms in the association between cumulative lead exposure and puls pressure: a longitudinal study. *Environ Health* 2015;13:14–15. DOI: 10.1186/1476-069X-14-5
6. Wang L., Chu A., Buring J.E. et al. Common genetic variations in the vitamin D pathway in relation to blood pressure. *Am J Hypertens* 2014;11:1387–1395. DOI: 10.1093/ajh/hpu049
7. Basit S. Vitamin D in health and disease: a literature review. *Br J Biomed Sci* 2013;4:161–172. PMID: 24400428
8. Wang L., Ma J., Manson J.E. et al. A prospective study of plasma vitamin D metabolites, vitamin D receptor gene polymorphisms, and risk of hypertension in men. *Eur J Nutr* 2013;7:1771–1779. DOI: 10.1007/s00394-012-0480-8
9. Pavlidis C., Patrinos G.P., Katsila T. Nutrigenomics: a controversy. *Appl Transl Genom* 2015;4:50–53. DOI: 10.1016/j.atg.2015.02.003
10. Jiang S.Z., Jiang S.Z., Lu W. et al. Obesity and hypertension. *Exp Ther Med* 2016;4:2395–2399. DOI: 10.3892/etm.2016.3667
11. Cooke A.A., Connaughton R.M., Lyons C.L. et al. Fatty acids and chronic low grade inflammation associated with obesity and the metabolic syndrome. *Eur J Pharmacol* 2016;5:207–214. DOI: 10.1016/j.ejphar.2016.04.021
12. Favre G.A., Esnault V.L., Van Obberghen E. Modulation of glucose metabolism by the renin-angiotensin-aldosterone system. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2015;6:435–449. DOI: 10.1152/ajpendo.00391.2014
13. Kang Y.S. Obesity associated hypertension: new insights into mechanism. *Electrolyte Blood Press* 2013;2:46–52. DOI: 10.5049/EBP.2013.11.2.46
14. Dedov I.I., Tyul'pakov A. I., Chekhonin V.P. et al. Personalized medicine: current state and prospects. *Herald of the Russian Academy of Medical sciences* 2012;12:4–12. Russian (Дедов И.И., Тюльпаков А.Н., Чехонин В.П. и др. Персонализированная медицина: современное состояние и перспективы. *Вестник Российской академии медицинских наук* 2012; 12:4–12). DOI:10.15690/vramn.v67i12.474

Поступила 16.02.17 (Received 16.02.17)