

## Современные методы анализа полиморфизма гена рецептора АТ-II 1-го типа при фармакотерапии артериальной гипертензии

О.В.Шевченко\*, А.А.Свистунов\*\*, В.Б.Бородулин\*\*\*

\* Саратовский Государственный медицинский университет им. В.И.Разумовского, Саратов

\*\* Московская медицинская академия им. И.М.Сеченова, Москва

\*\*\* ООО «Геночип», Саратов

Блокаторы рецепторов ангиотензина II (БРА) стали применяться в клинической практике позднее других классов препаратов, но в настоящее время хорошо зарекомендовали себя в лечении артериальной гипертензии (АГ). Общеизвестно, что ведущим звеном в патогенезе развития АГ является чрезмерная активация ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС). Основным механизмом действия БРА на РААС обусловлен ослаблением эффектов ангиотензина II, которые опосредуются АТ1-рецепторами, локализованными в сосудистой стенке, надпочечниках, печени. Это, в первую очередь, вазоконстрикция, стимуляция образования вазоактивных веществ (вазопрессина, эндотелина, катехоламинов, альдостерона) и ренина, ремоделирование сердца и сосудов вследствие пролиферации гладкомышечных клеток сосудов, гипертрофия миокарда. У БРА благоприятный метаболический профиль и профиль безопасности. Лосартан был синтезирован в начале 90-х гг. XX века, уже в 1995 г. был одобрен FDA для клинического применения и сейчас является изученным и широко применяемым для лечения АГ препаратом. Лосартан является пролекарством и его фармаколо-

гические эффекты в значительной степени связаны с его активным 5-карбоксильным метаболитом EXP-3174, который образуется в результате метаболической трансформации лосартана в печени CYP2C9 – основным ферментом метаболизма БРА. Генетический полиморфизм CYP2C9 может приводить к синтезу ферментов с повышенной или сниженной активностью, что может быть причиной изменения скорости биотрансформации БРА. Важную информацию об изменении активности CYP2C9 у больных АГ дает изучение концентрации EXP-3174 на фоне терапии лосартаном. Так, доказано, что «медленные» аллельные варианты P4502C9\*2 и P4502C9\*3 (изменения в ДНК 430С→Т и 1075А→С соответственно) могут приводить к снижению активности фермента и худшему метаболизму препарата. Необходимо учесть, что данные о константе скорости биохимической реакции для этого процесса в литературных данных отсутствуют, поэтому мы оперируем понятием полиморфизма цитохрома P450 на качественном уровне, утверждая о наличии фермента с измененной активностью.

Ген АТ1-рецептора к ангиотензину II (AGTR1) локализован на длинном пле-

че 3-й хромосомы, содержит 5 экзонов. Существует более 20-ти полиморфных вариантов гена AGTR1. Наиболее изученный полиморфизм представляет собой замену аденина на цитозин в позиции 1166 (1166A>C). Существуют работы, показывающие ассоциацию С-аллеля и генотипа С/С гена AGTR1 с предрасположенностью к АГ [1], однако есть исследования не подтверждающие такую зависимость [2].

**Цель.** Проанализировать выраженность полиморфного варианта гена AGTR1 (A1166C) и аллелей гена изофермента цитохрома P4502C9\*2 и P4502C9\*3 с использованием методики гидрогелевых биочипов у больных эссенциальной артериальной гипертензией.

### Материалы и методы

Изучены образцы ДНК 10 больных эссенциальной АГ (1-3 стадий) в возрасте от 20 до 60 лет, проходящих клинико-инструментальное обследование и лечение в кардиологическом стационаре г. Саратова. Для изучения полиморфизма генов в данной работе использовался новый эффективный метод генетического анализа – исследование на биологических микрочипах. Методика разработана в Институте молекулярной биологии им. В.А.Энгельгардта РАН и предполагает предварительную мультиплексную амплификацию фрагментов ДНК с использованием флуоресцентно меченых праймеров. Полученный продукт добавляется на биочип, где происходит его гибридизация с иммобилизованными в геле зондами. Данный метод позволяет визуализировать флуоресцентное свечение на матрице биочипа с помощью универсального аппаратно-программного комплекса.

(Возможность изучения полиморфизмов на чипах в ходе исследования предоставлена ООО «Геночип» г.Саратов).

### Результаты и их обсуждение

Нами были проанализированы отчеты исследований образцов ДНК больных АГ на двух видах биочипов: «фармакогенетический» биочип, позволяющий изучать метаболизм и чувствительность к фармпрепаратам, и «Кардио» биочип, дающий информацию о выраженности полиморфизмов генов, вовлеченных в регуляцию артериального давления.

На рис.1 изображены примеры гибридизационных картин, полученных на «Кардио» биочипе. Из 10 изученных образцов ДНК по полиморфизму A1166C гена AGTR1 только в одном обнаружен генотип С/С; генотип А/С имел место в четырех образцах, а генотип А/А – в остальных пяти образцах. На рис.1а видны сигналы с ячеек, в которых образовались комплементарные комплексы. Интенсивность свечения гидрогелевых ячеек биочипа отражается в виде информационного окна (рис.1б), в котором величина «столбцов» прямо пропорциональна интенсивности свечения. По полиморфизму P4502C9 получены следующие данные: генотип Т/Т по аллелю P4502C9\*2 имели 2 человека из обследованных больных, генотип С/Т – 3 человека, генотип С/С – 5 человек. По аллелю P4502C9\*3: генотип А/С – 3 человека, генотип А/А – 7 человек, генотипа С/С – не обнаружено. На рис.2 представлен пример гибридизационных картин, полученных на «фармакогенетическом» биочипе. Интенсивность свечения ячеек в одном из образцов («столбец» 4) показывает генотип Т/Т по аллелю P4502C9\*2, что по данным ряда авторов может сви-

детельствовать о значимом замедлении метаболизма БРА.

### Выводы

Использование биологических микрочипов, как метода изучения гена рецептора АТ-II 1-го типа и активности

ферментов метаболизма БРА, имеет существенные преимущества по сравнению с общепризнанными методами, так как позволяет анализировать большое число изменений в одном образце ДНК, а также является информативным, надежным, экономически выгодным методом.

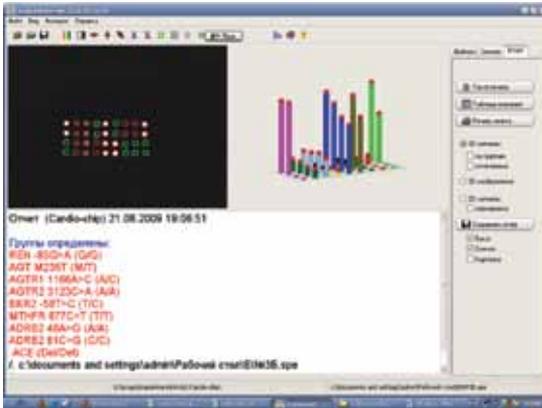


Рис.1а Рис. 1б

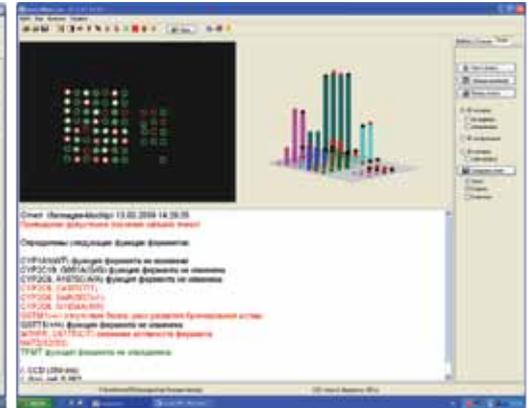


Рис.2а Рис.2б

### Список литературы

1. Effects of ACE I/D and AT1R-A1166C polymorphisms on blood pressure in a healthy normotensive primary care population: first results of the Hippocrates study / *Henskens L.H., Spiering W., Stoffers H.E.* // *J. Hypertens.* – 2003. – Vol.21. – №1. – P.81-86.
2. A/C1166 gene polymorphism of the angiotensin II type 1 receptor (AT1) and ambulatory blood pressure: the Ohasama Study / *Kikuya M., Sugimoto K., Katsuya T.* // *Hypertens. Res.* – 2003. – Vol.26 №2. – P.141-145.