

© М. Д. Канаева¹, А. С. Готов^{1,2},
Е. С. Вашукова²,
Г. И. Образцова³, В. С. Баранов²

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург;

² НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта Северо-Западного отделения российской академии медицинских наук, Санкт-Петербург;

³ ФГБУ «ФЦСКЭ им. В. А. Алмазова» Минздрав РФ, Санкт-Петербург

✿ С помощью ПЦР/ПДРФ-анализа в группе детей с эссенциальной артериальной гипертензией и в контрольной группе детей Северо-Западного региона России были изучены частоты отдельных вариантов генов, участвующих в метаболизме арахидоновой кислоты *CYP2J2*, *CYP4A11* и *PTGIS*. Кроме того, в обеих группах проведен анализ частот аллелей и генотипов по вариантам генов *CDH13*, *MTHFR*, *CDKN2BAS*, а также внегенного маркера rs11191548, которые были отобраны ранее на основе выявления связи с развитием артериальной гипертензии в GWAS исследованиях, проведенных в Европе и США в 2009 году. Ассоциация ни одного из изученных маркеров с развитием артериальной гипертензии у детей не подтвердилась.

✿ **Ключевые слова:** дети; артериальная гипертензия; полиморфизм генов; ассоциация; метаболизм арахидоновой кислоты; полногеномные ассоциативные исследования.

Поступила в редакцию 15.01.2013
Принята к публикации 28.03.2013

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К РАЗВИТИЮ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У ДЕТЕЙ СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО РЕГИОНА РОССИИ

ВВЕДЕНИЕ

Эссенциальная артериальная гипертензия (АГ) — заболевание, основным клиническим признаком которого является длительное и стойкое повышение артериального давления от 140/90 мм рт.ст. и выше при отсутствии изменений в каких-либо других системах органов, которые могли бы спровоцировать повышение артериального давления. АГ является мультифакторным полиэтиологическим заболеванием, в основе патогенеза которого лежит как генетическая компонента, так и неблагоприятные факторы внешней среды. К экзогенным факторам риска можно отнести курение, злоупотребление алкоголем, ожирение, диабет, гиподинамию, стрессовые ситуации и др. Если рассматривать генетическую компоненту, то на данный момент времени известно более 150 генов, варианты которых связывают с предрасположенностью к сердечно-сосудистым заболеваниям (Нефедова, 1998). К ним относят, например, отдельные варианты генов ангиотензиногена, рецептора ангиотензина II, ангиотензинпревращающего фермента, ренина, альдостеронсинтазы, β -субъединицы амилоридчувствительных натриевых каналов почечного эпителия и др. (Готов, 2007; Баранов, 2009). Как было отмечено в докладе экспертов ВОЗ № 792 в 1992, значительная часть взрослого контингента больных АГ формируется из детей и подростков с повышенным артериальным давлением. Поэтому ранняя диагностика АГ в подростковом периоде весьма актуальна с целью проведения эффективной и своевременной профилактики и лечения, что позволит предотвратить неблагоприятный прогноз в зрелом возрасте. Адекватные профилактические мероприятия, направленные на коррекцию и превентивную терапию АГ в юном возрасте, дадут значительно более высокий медицинский, социальный и экономический эффект, чем лечение АГ у взрослых.

В настоящее время существует несколько стратегий выявления генов, которые могут быть вовлечены в развитие того или иного мультифакториального заболевания (МФЗ). В первую очередь, это поиск генов-кандидатов или генов предрасположенности. Подбор ведется на основании уже имеющихся данных по этиологии и патогенезу конкретного заболевания, основным метаболическим, биохимическим и функциональным нарушениям, вызванным патологическим процессом.

Одним из метаболических путей, вовлеченных в регуляцию тонуса сосудов и, как следствие, в формирование патологии сердечно-сосудистой системы, является каскад арахидоновой кислоты (АК). В ряду жирных кислот АК является уникальным соединением. Она служит предшественником большого ряда физиологически активных веществ — эйкозаноидов. Эйкозаноиды, включающие в себя простагландины, тромбоксаны, лейкотриены и ряд других веществ, относятся к классу регуляторов клеточных функций (Сергеева, 2009).

В регуляции тонуса сосудов наибольшее участие принимают такие соединения как простагландин, эпоксиэйкозатриеновые кислоты и гидроксэйкозатетраеновые кислоты. Они образуются из АК под действием ферментов простагландинсинтазы, цитохрома 2J2 и цитохрома 4A11, соответственно. В таблице 1 представлены гены, кодирующие эти три фермента, и их полиморфные сайты.

Значительно более обширные данные о генах, ассоциированных с МФЗ, могут быть получены с помощью нового метода — метода полногеномного анализа ассоциаций (Genome Wide Association Studies — GWAS). Успех дан-

Таблица 1

Гены, участвующие в каскаде арахидоновой кислоты и замены в них

Ген	Локус	Белковый продукт	Исследуемая однонуклеотидная замена	Эффект замены
CYP2J2	1p31.3	Цитохром 2J2	–50 G/T в промоторной области гена	На 48% снижает экспрессию гена
CYP4A11	1p33	Цитохром 4A11	8590 T/C Phe->Ser	На 20% снижает активность белка
PTGIS	20q13.13	Простаглицинсинтаза	rs6090996 G/A	Точный механизм неизвестен

ного метода определяется, как обширными выборками тестируемых индивидов в опытной и контрольной группах (от нескольких сотен до десятков тысяч), так и огромным набором (сотни тысяч) молекулярных маркеров (однонуклеотидных замен).

К настоящему времени имеются результаты GWAS-исследований по идентификации генов предрасположенности для повышенного систолического и диастолического давления, ишемической болезни сердца, инфаркта миокарда, ишемического инсульта и еще более, чем 200 МФЗ (Speicher, 2010). В таблице 2 представлены сведения о некоторых полиморфных сайтах, выявленных методом GWAS в качестве значимых для риска развития повышенного артериального давления.

Патогенез АГ обусловлен изменениями во многих генах. Несмотря на множество исследований, изучение генетической компоненты этого заболевания не теряет своей актуальности.

Для проведения исследования нами были отобраны и проанализированы полиморфные сайты в 3 генах, участвующих в метаболизме АК и регулирующих активность и количество её метаболитов — *CYP2J2* –50G/T, *CYP4A11* 8590T/C и *PTGIS* rs6090996. Во время исследования также были изучены результаты полногеномных ассоциативных исследований, проведенных в Европе и США в 2009 году. На их основе были отобраны 3 полиморфных локуса в генах *CDH13*, *MTHFR* и *CDKN2BAS*, а также один внегенный локус rs11191548. По всем

7 изученным молекулярным маркерам были получены распределения частот генотипов в группе детей с АГ и в контрольной группе здоровых детей Северо-Западного региона России.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе были использованы образцы ДНК, выделенные из лейкоцитов периферической крови двух групп детей. Опытная группа была сформирована из 115 детей в возрасте от 9 до 17 лет с АГ, контрольная группа из 100 школьников из Санкт-Петербурга в возрасте от 7 до 17 лет без АГ. АГ, как диагноз ставился в тех случаях, когда при измерениях артериального давления (АД) у ребенка неоднократно (не менее 3 раз при отдельных визитах к врачу) отмечался его повышенный уровень. Всем детям было проведено суточное мониторирование артериального давления с целью подтверждения наличия АГ и уточнения ее выраженности. В среднем у каждого обследованного ребенка АД измеряли 55 раз в течение суток.

Опекунами всех обследованных несовершеннолетних лиц было подписано информированное согласие на проведение исследования.

Выделение ДНК:

ДНК выделяли в соответствии с описанной в литературе методикой Миллера с некоторыми модификациями (Miller et al., 1988).

Таблица 2

Некоторые из однонуклеотидных замен, выявленные на основе метода GWAS в качестве кандидатов риска развития гипертензии

Исследование (автор, год)	Популяция и объем выборки (чел.)	Шифр в базе данных*	Локус	Ген	Продукт
Org, 2009	Германия (1644)	rs11646213	16q23.3	<i>CDH13</i>	Кадгерин 13
Newton-Cheh, 2009	Европа (34 433)	rs17367504	1p36	<i>MTHFR</i>	Метилентетрагидрофолатредуктаза
Newton-Cheh, 2009	Европа (34 433)	rs11191548	10q24	вне гена	—
Kathiresan, 2009	США (6032)	rs4977574	9p21.3	<i>CDKN2-BAS1</i>	Антисмысловая РНК 1 ингибитора 2В циклин-зависимой киназы

* <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

Анализ образцов ДНК:

Для оценки частот аллелей и генотипов по генам *PTGIS* (rs6090996 G/A), *CYP2J2* (–50 G/T), *CYP4A11* (8590 T/C), *CDH13* (rs11646213 A/T), *MTHFR* (rs17367504 A/G), *CDKN2BAS* (rs4977574 A/G) и rs11191548 T/C было проведено генотипирование изученных групп детей с помощью метода ПЦР-ПДРФ. Метод ПЦР-ПДРФ включает в себя три последовательных этапа: проведение ПЦР со специфичными праймерами для амплификации требуемого участка генома, гидролиз ПЦР-продуктов с помощью эндонуклеаз рестрикции и последующую визуализацию результатов гидролиза путем электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ).

1. Проведение ПЦР

Нуклеотидные последовательности искомым фрагментов генов получали из интернет-базы «Nucleotide» («NCBI», США). Праймеры, необходимые для амплификации этих фрагментов, подбирали с использованием программы «Oligo 6» (США). Реакционная смесь (25 мкл) содержала 67 мМ Трис-НСl (рН 8,6), 16,6 мМ (NH₄)₂SO₄, 0,01 % Тритон X-100, 1,5 мМ MgCl₂, 0,2 мМ каждого из dNTP, 2,5 ед. акт. Таq-полимеразы и смесь оригинальных праймеров (табл. 3). Реакцию проводили в следующем режиме: денатурация при 95 °С (5 мин), далее 35 циклов амплификации по следующей схеме: 95 °С, 30 с; 60 °С, 30 с; 72 °С, 1 мин; далее 72 °С, 5 мин.

2. Рестрикционный анализ продуктов ПЦР фрагмента исследуемых генов

Для анализа продуктов ПЦР (5 мкл) добавляли следующий состав реактивов: вода, соответствующая эндонуклеаза рестрикции («СибЭнзим», Россия/«Fermentas», Латвия), буфер, рекомендованный производителем для соответствующей рестриктазы («СибЭнзим», Россия/«Fermentas», Латвия). Инкубацию рестрикционной смеси с продуктами амплификации проводили в отдельных пробирках в термостате при температуре 37 °С в течение 12–16 часов.

3. Визуализация результатов в полиакриламидном геле

Анализ длин рестрикционных продуктов *CYP2J2*, *CYP4A11*, *PTGIS*, *CDH13*, *MTHFR*, *CDKN2BAS* и rs11191548 T/C проводили путем электрофоретического разделения в 6 % ПААГ, приготовленном на трис-боратном буфере (ТБЕ). Результаты электрофоретического разделения фрагментов ДНК регистрировали при помощи трансиллюминатора Масовиче (LKB, Великобритания).

Статистическая обработка результатов:

Для сравнения исследуемых групп по частотам аллелей изучаемых генов и генотипов был использован стандартный метод χ^2 Пирсона (пакет программ «GraphPad InStat»). Критический уровень достоверности нулевой гипотезы (об отсутствии значимых различий) принимали, равным 0,05.

Таблица 3

Олигонуклеотидные праймеры, использованные для проведения ПЦР-реакций

Ген	Исследуемый полиморфизм	Структура праймеров
<i>PTGIS</i>	G/A rs6090996	F:5'-GTCCATCACTTAAATAGCCAGGCAAC-3' R:5'-CCTCCCTAACTTGCCACAGC-3'
<i>CYP2J2</i>	–50 G/T rs890293	F:5'-TTTCTGAGACCGGTGCGTGTCC-3' R:5'-GAGAGTCCGAGGATGGACCACT-3'
<i>CYP4A11</i>	8590 T/C rs1126742	F:5'-GAGAGGAGGAAATGAGGTGATCC-3' R:5'-AGCAGAACCCGGTGCAAAGCG-3'
<i>CDH13</i>	A/T rs11646213	F:5'-GAGGAAGGTGGTCCTTGCC-3' R:5'-CTTCCTTGACAAACACTACAACGC-3'
<i>MTHFR</i>	A/G rs17367504	F:5'-TGTGAGGGACTTTTACAGGCCAC-3' R:5'-ACTCATGCAAGGTTAAGGTGGGAG-3'
<i>CDKN2BAS1</i>	A/G rs4977574	F:5'-GTAACCACATGTCAGTAGCATG-3' R:5'-TCATTGAGTCCCTCAGCAAGCCC-3'
—	T/C rs11191548	F:5'-GCCCAGTGAGGAATTGGAGC-3' R:5'-CCAGCAATTTTCCAAGGCTGCC-3'

Таблица 4

Полученные значения частот генотипов по генам, участвующим в каскаде арахидоновой кислоты

Ген	Частоты генотипов (%)			Значение p
CYP2J2	–50G/G	–50G/T	–50T/T	0,61
Дети с АГ (n = 100)	88,5 ± 3,3	11,5 ± 3,3	0,0 ± 1,0	
Контрольная группа детей (К) (n = 98)	91,8 ± 2,9	8,2 ± 2,9	0,0 ± 1,0	
CYP4A11	8590T/T	8590T/C	8590C/C	0,15
Дети с АГ (n = 115)	81,7 ± 3,6	16,5 ± 3,5	1,7 ± 1,5	
К (n = 98)	71,7 ± 4,5	27,3 ± 4,4	1,0 ± 1,0	
PTGIS rs6090996	G/G	G/A	A/A	0,44
Дети с АГ (n = 115)	67,8 ± 4,3	30,4 ± 4,3	1,7 ± 1,5	
К (n = 100)	71,0 ± 4,5	25,0 ± 4,3	4,0 ± 2,1	

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе выполнения работы нами были получены частоты генотипов и аллелей по генам *CYP2J2*, *CYP4A11*, *PTGIS*, *CDH13*, *MTHFR*, *CDKN2BAS* и rs11191548 T/C в группах детей с артериальной гипертензией (АГ-группа) и в контрольной группе детей (К-группа).

Сравнительный анализ частот генотипов и аллелей по генам *CYP2J2*, *CYP4A11*, *PTGIS* между АГ и К-группами не выявил статистически значимых различий (табл. 4).

В нашей работе был проведен анализ однонуклеотидной замены G на T, которая находится в промоторной области гена *CYP2J2*. Функциональные исследования показали, что эта замена приводит к снижению экспрессии гена на 48 % (King et al., 2002). Белок *CYP2J2* преобразовывает АК в сосудорасширяющие факторы — эпоксидокотриеновые кислоты (ЕЕТ-кислоты), поэтому наша гипотеза предполагала, что наличие аллели T определяет риск развития АГ. Однако частота данного аллеля оказалась одинаковой для обеих исследуемых групп детей ($p < 0,05$).

По данным литературы, сведения о значимости данной однонуклеотидной замены противоречивы. В исследовании, выполненном Полониковым с соавторами в 2008 году (Полоников, 2008), проводился анализ 33 генов, относящихся к группе ферментов биотрансформации ксенобиотиков, и 19 генов-кандидатов различных МФЗ, в том числе АГ. Замена –50G/T в гене *CYP2J2* была отнесена авторами к значимым для риска развития АГ у женщин. Для мужчин такой ассоциации обнаружено не было. Ассоциация данной замены с ишемической болезнью сердца была показана в исследовании, проведенном в Германии в 2004 году (Spiecker, 2004). Работа, в которой исследовалась связь данного варианта гена *CYP2J2* с инфарктом миокарда, не показала ассоциации замены с риском развития заболевания, но уровень значимости имел погра-

ничное значение, и авторы указали на необходимость дальнейших исследований (Borgel et al., 2008). Анализ этого гена в китайской популяции не показал его ассоциации с ишемическим инсультом (Zhang et al., 2008). В то же время в исследовании Кинга были получены данные о протективном действии аллели T у афроамериканцев (King et al., 2005). Следовательно, роль и значимость замены –50G/T в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний может зависеть от этнических факторов.

Также неоднозначность данных может быть связана с тем, что ЕЕТ-кислоты, которые образуются под действием цитохрома 2J2, имеют разнонаправленное действие в зависимости от типа ткани, то есть они могут проявлять как сосудорасширяющее, так и сосудосуживающее действие (Alvarez et al., 2004).

В нашей работе был исследована замена 8590 T на C в гене *CYP4A11*, в результате которой в белке *CYP4A11* фенилаланин в 434 положении заменяется на серин. Функциональные исследования показали, что такое изменение больше, чем на половину уменьшает 20-НЕТЕ-синтетическую активность белка *CYP4A11* (Ward et al., 2008).

20-НЕТЕ кислоты относятся к классу сосудосуживающих веществ, поэтому изначальное предположение строилось на том, что минорная аллель C должна быть протективной в отношении риска развития АГ. Однако в процессе изучения литературы, было обнаружено, что аллель C связывают с риском развития повышенного артериального давления (Gainer et al., 2005; Williams et al., 2011). В то же время при обследовании японской популяции, наоборот, было показано, что мажорная аллель T ассоциирована с риском развития АГ, а минорная аллель C являлась протективной (Fu et al., 2008; Sugimoto et al., 2008).

В нашем исследовании не были обнаружены статистически значимые отличия в распределении генотипов и аллелей по гену *CYP4A11*, однако хотелось бы отметить,

Таблица 5

Полученные значения частот генотипов по генам, выявленных на основе метода GWAS

Ген/полиморфный маркер	Частоты генотипов (%)			Значение p
<i>CDH13 rs11626413</i>	A/A	A/T	T/T	0,43
Дети с АГ (n = 115)	18,8 ± 3,9	40,6 ± 4,8	40,6 ± 4,8	
Контрольная группа детей (К) (n = 100)	14,0 ± 3,5	49,0 ± 4,9	37,0 ± 4,8	
<i>MTHFR rs17367504</i>	A/A	A/G	G/G	0,71
Дети с АГ (n = 115)	89,8 ± 3,1	8,2 ± 2,9	2,0 ± 1,7	
К (n = 100)	86,0 ± 3,5	11,0 ± 3,2	3,0 ± 1,9	
<i>CDKN2BAS1 rs4977574</i>	A/A	A/G	G/G	0,32
Дети с АГ (n = 115)	27,0 ± 4,1	47,8 ± 4,6	25,2 ± 4,0	
К (n = 103)	29,7 ± 4,5	53,5 ± 4,9	16,8 ± 3,7	
<i>rs11191548</i>	T/T	T/C	C/C	0,37
Дети с АГ (n = 115)	85,2 ± 3,4	14,8 ± 3,4	0,0 ± 0,9	
К (n = 103)	90,2 ± 3,0	9,8 ± 3,0	0,0 ± 1,0	

что в АГ-группе имеется тенденция к снижению частоты гетерозиготного носительства по сравнению с К-группой ($16,5 \pm 3,5\%$ и $27,3 \pm 4,4\%$ соответственно), что может косвенно подтверждать протективную роль аллели С.

Регуляция тонуса сосудов активными производными АК очень сложна, в ней участвует множество метаболитов, причем один и тот же метаболит может выполнять в зависимости от условий полярно разные функции. Возможно, поэтому вклад изменений в генах, участвующих в метаболизме АК, в развитие повышенного артериального давления установить не удалось.

В ходе работы также были получены распределения частот генотипов и аллелей по генам, выявленных на основе метода GWAS в качестве значимых для риска развития АГ. Сравнительный анализ частот генотипов и аллелей по генам *CDH13*, *MTHFR*, *CDKN2BAS* и *rs11191548* Т/С в АГ и К-группах не выявил статистически значимых различий (значение «p» во всех случаях $>0,05$) (табл. 5).

Поиск генов предрасположенности методом GWAS проводится с 2005 года (Speicher et al., 2010). В настоящее время с помощью данного метода проанализировано более 230 МФЗ, что позволяет подвести некоторый итог этих исследований, оценить их вклад в понимание природы заболеваний.

Прежде всего, данный метод позволил с высокой достоверностью идентифицировать множество новых локусов, ассоциированных с МФЗ. Однако обращает на себя внимание, что большинство таких ассоциаций (до 60%) связаны с однонуклеотидными заменами, находящимися в межгенных участках генома, в интронных областях, в генах, кодирующих регуляторные РНК (Kathiresan et al., 2009). Такие ассоциации невозможно выявить традиционным методом анализа ассоциации с генами-кандидатами, который базируется на знаниях о предполагаемой функции белковых продуктов этих генов в изучаемом патологическом процессе (Zondervan et al., 2012).

Непременным условием проведения GWAS-исследований является наличие больших выборок пациентов с точно установленным диагнозом и контрольной группы без заболевания, наличие контрольных образцов для многократного тестирования и контроль популяционной стратификации. В связи с этим в работе Пирсона было отмечено, что метод GWAS является довольно трудоемким из-за большого массива статистических данных, которые, в свою очередь, обладают огромным потенциалом для получения ложно-положительных результатов (Pearson, 2008). Серьезной критике подвергаются GWAS-исследования из-за того, что полученные результаты являются зачастую плохо воспроизводимыми и не подтверждаются последующими исследованиями (Zondervan et al., 2012). При этом локусы, идентифицированные с помощью GWAS, могут объяснить лишь небольшую часть (5–10%) генетического риска развития заболевания (Аульченко, 2010; Speicher, 2010).

По-видимому, именно этими обстоятельствами объясняется тот факт, что согласно полученным данным 4 полиморфных локуса, ранее найденных методом GWAS, не обнаружили достоверной ассоциации с развитием АГ в данной работе. Существенного вклада в развитие АГ у детей школьного возраста не вносят и варианты генов каскада АК (*CYP2J2*, *CYP4A11*, *PTGIS*).

ЛИТЕРАТУРА

1. Аульченко Ю.С., 2010. Разработка и применение методов полногеномного анализа генетических ассоциаций сложных признаков: Автореф. дисс. докт. биол. наук, Новосибирск, 291 с.
2. Баранов В.С., Баранова Е.В., Иващенко Т.Э. и др., 2000. Геном человека и гены «предрасположенности». Введение в предиктивную медицину. СПб.: Интермедика. 272 с.

3. Генетический паспорт — основа индивидуальной и предиктивной медицины, 2009. / под ред. В.С. Баранова. СПб.: Изд-во Н-Л. 528 с.
4. Глотов А.С., Иващенко Т.Э., Образцова Г.И. и др., 2007. Зависимость между возникновением стабильной артериальной гипертензии у детей и полиморфизмом генов ренин-ангиотензиновой и кинин-брадикининовой систем на формирование // Молекулярная биология. Т. 41, № 1. С. 18–25.
5. Нефедова Ю.Б., 1998. Молекулярно-генетические механизмы развития артериальной гипертензии // Артериальная гипертензия. Т. 4, № 1. С. 63–71.
6. Образцова Г.И., Степанова Т.В., Глотов А.С. и др., 2006. Полиморфизм генов ренин-ангиотензиновой системы и рецептора брадикинина у детей и подростков с первичной артериальной гипертензией // Артериальная гипертензия. Т. 12, № 2. С. 156–160.
7. Полоников А.В., Иванов В.П., Солодилова М.А., 2008. Эколого-токсикогенетическая концепция мультифакториальных заболеваний: от понимания этиологии до клинического применения // Медицинская генетика. Т. 7, № 11. С. 3–20.
8. Сергеева М.Г., Варфоломеева А.Т., 2006. Каскад арахидоновой кислоты. М.: Народное образование. 256 с.
9. Степанов В.А., 2010. Геномы, популяции, болезни: этническая геномика и персонифицированная медицина // Acta naturae. Т. 2, № 4. С. 18–34.
10. Alvarez D.F., Gjerde E.A., Townsley M.I., 2004. Role of EETs in regulation of endothelial permeability in rat lung // Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. Vol. 286. P. 445–451.
11. Börgel J., Bulut D., Hanefeld Ch., 2008. The CYP2J2 G-50T polymorphism and myocardial infarction in patients with cardiovascular risk profile // Hum. Mol. Genet. Vol. 17, N 6. P. 806–814.
12. Fu Z., Nakayama T., Sato N., Izumi Y. et al., 2008. A haplotype of the CYP4A11 gene associated with essential hypertension in Japanese men // J. Hypertens. Vol. 26, N 3. P. 453–461.
13. Gainer J.V., Bellamine A., Dawson E.P., Womble K.E. et al., 2005. Functional variant of CYP4A11 20-hydroxyeicosatetraenoic acid synthase is associated with essential hypertension // Circulation. Vol. 111. P. 63–69.
14. Kathiresan S., Voight B.F., Purcell S., 2009. Genome-wide association of early-onset myocardial infarction with single nucleotide polymorphisms and copy number variants // Nat. Genet. Vol. 41. P. 334–341.
15. King L.M., Ma J., Srettabunjong S., 2002. Cloning of CYP2J2 gene and identification of functional polymorphisms // Mol. Pharmacol. Vol. 61. P. 840–852.
16. King L.M., Gainer J.V., David G.L., Dai D. et al., 2005. Single nucleotide polymorphisms in the CYP2J2 and CYP2C8 genes and the risk of hypertension // Pharmacogenet Genomics. Vol. 15, N 1. P. 7–13.
17. Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F., 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells // Nucleic Acids Research. Vol. 16. P. 1215.
18. Newton-Cheh C., Johnson T., Gateva V., Tobin M. et al., 2009. Eight blood pressure loci identified by genome-wide association study of 34,433 people of European ancestry // Nat. Genet. Vol. 41. P. 666–676.
19. Org E., Eyheramendy S., Juhanson P., Gieger C. et al., 2009. Genome-wide scan identifies CDH13 as a novel susceptibility locus contributing to blood pressure determination in two European populations // Human Molecular Genetics. Vol. 18. P. 2288–2296.
20. Pearson T.A., Manolio T.A., 2008. How to interpret a genome-wide association study // JAMA. Vol. 299. P. 335–344.
21. Speicher M.R., Antonarakis S.E., Motulsky A.G., 2010. Vogel and Motulsky's Human Genetics: Problems and Approaches (Re-post). Springer, 981 p.
22. Spiecker M., Darius H., Hankeln T., Soufi M. et al., 2004. Risk of Coronary Artery Disease Associated With Polymorphism of the Cytochrome P450 Epoxide hydrolase CYP2J2 // Circulation. Vol. 110, N 15. P. 2132–2136.
23. Sugimoto K., Akasaka H., Katsuya T., Node K. et al., 2008. A polymorphism regulates CYP4A11 transcriptional activity and is associated with hypertension in a Japanese population // Hypertension. Vol. 52, N 6. P. 1142–1148.
24. Ward N.C., Tsai I.J., Barden A., van Bockxmeer F.M. et al., 2008. A single nucleotide polymorphism in the CYP4F2, but not CYP4A11 gene is associated with increased 20-HETE excretion and blood pressure // Hypertension. Vol. 51, N 5. P. 1393–1398.
25. Williams J.S., Hopkins P.N., Jeunemaitre X., Brown N.J., 2011. CYP4A11 T8590C polymorphism, salt-sensitive hypertension, and renal blood flow // J. Hypertens. Vol. 29. P. 1913–1918.
26. Zhang L., Ding H., Yan J., Hui R. et al., 2008. Genetic variation in cytochrome P450 2J2 and soluble epoxide hydrolase and risk of ischemic stroke in a Chinese population // Pharmacogenet. Genomics. Vol. 18, N 1. P. 45–51.
27. Zondervan K.T., Rahmioglu N., Missmer S.A., 2012. Insights into Assessing the Genetics of Endometriosis // Curr. Obstet. Gynecol. Rep. Vol. 1, N 3. P. 124–137.
28. База данных <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

RESEARCH OF GENETIC MARKERS IN SUSCEPTIBILITY TO ARTERIAL HYPERTENSION IN RUSSIAN NORTHWEST REGION CHILDREN

Kanaeva M.D., Glotov A.S., Vashukova Ye.S., Obraztsova G.I., Baranov V.S.

✿ **SUMMARY:** By PCR-RFLP procedures in groups of children of the Northwest region of Russia we investigated associations of some variants of *CYP2J2*, *CYP4A11* and *PTGIS* genes participating in a metabolism of arachidonic acid and variants of *CDH13*, *MTHFR*, *CDKN2BAS* genes, and also an extra gene molecular marker rs11191548 T/C revealed on the basis of the GWAS method as candidates of risk of arterial hypertension, with development of a hypertension. The association of these markers with development of a hypertension in children didn't prove to be true.

✿ **KEY WORDS:** association; gene polymorphism; children; arterial hypertension; metabolism of arachidonic acid; genome-wide association study (GWAS).

✿ Информация об авторах

Канаева Мария Дмитриевна — студент. Кафедра генетики и селекции. Санкт-Петербургский государственный университет. 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9. E-mail: kanaeva.masha@yandex.ru.

Глотов Андрей Сергеевич — к. б. н., старший научный сотрудник. Федеральное бюджетное учреждение Российской академии медицинских наук «Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта Северо-Западного отделения РАМН. 199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3. E-mail: anglotov@mail.ru.

Вашукова Елена Сергеевна — лаборант-исследователь. Федеральное бюджетное учреждение Российской академии медицинских наук «Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта Северо-Западного отделения РАМН. 199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3. E-mail: vi_lena@list.ru

Образцова Галина Игоревна — д. м. н., с. н. с. НИЛ диагностики и лечения патологии детского возраста. Институт перинатологии и педиатрии. ФГБУ «ФЦСКЭ им. В. А. Алмазова» Минздрав РФ. 197341, СПб., ул. Аккуратова, 2. E-mail: galinaobraz@mail.ru.

Баранов Владислав Сергеевич — проф., чл.-корр. РАМН, заведующий лабораторией. Федеральное бюджетное учреждение Российской академии медицинских наук «Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта Северо-Западного отделения РАМН. 199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3. E-mail: baranov@vb2475.spb.edu

Kanayeva Mariya Dmitriyevna — Student, Senior Researcher. Department of Genetics and Selection. Saint-Petersburg State University. 199034, Saint-Petersburg, Universitetskaya nab, 7/9. Russia. E-mail: kanaeva.masha@yandex.ru.

Glotov Andrey Sergeyevich — candidate of biological scientist, senior scientist, lab. of prenatal diagnosis of congenital and inherited diseases, D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Russian Academy of Medical Sciences. 199034, Saint-Petersburg, Mendeleyevskaya line, 3. Russia. E-mail: anglotov@mail.ru.

Vashukova Yelena Sergeyevna — scientist, lab. of prenatal diagnosis of congenital and inherited diseases, D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Russian Academy of Medical Sciences. 199034, Saint-Petersburg, Mendeleyevskaya line, 3. Russia. E-mail: vi_lena@list.ru

Obraztsova Galina Igorevna — doctor of medical science. Federal state establishment "Federal heart, blood and endocrinology centre of ministry of health care". 197342, 2 Akkuratova st., Saint-Petersburg, Russia. E-mail: galinaobraz@mail.ru.

Baranov Vladislav Sergeyevich — professor, corresponding member of Russian Academy of Medical Sciences, head of the laboratory, lab. of prenatal diagnosis of congenital and inherited diseases, D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Russian Academy of Medical Sciences. 199034, Saint-Petersburg, Mendeleyevskaya line, 3. Russia. E-mail: baranov@vb2475.spb.edu