

## Ассоциация полиморфного маркера Glu23Lys гена *KCNJ11* с развитием артериальной гипертонии у пациентов киргизской национальности

Ж.Т. ИСАКОВА<sup>1</sup>, Э.Т. ТАЛАЙБЕКОВА<sup>1</sup>, Д.А. АСАМБАЕВА<sup>1</sup>, А.С. КЕРИМКУЛОВА<sup>2</sup>, О.С. ЛУНЕГОВА<sup>2</sup>, А.А. АЛДАШЕВ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт молекулярной биологии и медицины, Бишкек, Кыргызская Республика; <sup>2</sup>Национальный центр кардиологии и терапии, Бишкек, Кыргызская Республика

### Резюме

**Цель исследования.** Изучить ассоциацию полиморфного маркера Glu23Lys гена *KCNJ11* с развитием артериальной гипертонии (АГ) у пациентов киргизской национальности.

**Материалы и методы.** Исследование случай—контроль включало 214 неродственных этнических киргизов, из которых в основную группу вошли 152 больных АГ (82 мужчин и 70 женщин), контрольную группу составили 109 условно здоровых лиц (61 мужчина и 48 женщин). Средний возраст обследованных достигал 55,2±10,1 года. АГ верифицировали при повышении артериального давления (АД) более 140/90 мм рт.ст. Идентификации аллельных вариантов полиморфного маркера Glu23Lys гена *KCNJ11* осуществляли методом анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ).

**Результаты.** Распространенность 3 генотипов (Glu23Glu, Glu23Lys и Lys23Lys) полиморфизма Glu23Lys гена *KCNJ11* у больных АГ и контрольной группы существенно различалась ( $\chi^2=8,04$ ;  $p=0,018$ ). Генотипы Lys23Lys и Glu23Lys статистически значимо чаще регистрировались в группе с АГ, а гомозиготный генотип Glu23Glu, напротив, чаще встречался в контрольной группе, чем в основной. Распространенность аллеля 23Lys в группе с АГ статистически значимо выше, чем в контроле ( $\chi^2=7,36$ ;  $p=0,0067$ ). Носительство аллеля 23Lys повышало риск развития АГ в 1,68 раза (отношение шансов — ОШ 1,68 при 95% доверительном интервале — ДИ от 1,17 до 2,41), носительство аллеля Glu23, напротив, оказывало протективное действие (ОШ 0,60 при 95% ДИ от 0,41 до 0,86).

**Заключение.** У киргизов полиморфный маркер Glu23Lys гена *KCNJ11* ассоциирован с АГ. Маркером повышенного риска развития АГ является аллель 23Lys.

**Ключевые слова:** Kir6.2, ген *KCNJ11*, полиморфизм Glu23Lys, ассоциация, артериальная гипертония, популяция киргизов.

## Association of the polymorphic marker Glu23Lys in the *KCNJ11* gene with hypertension in Kyrgyz patients

Zh.T. ISAKOVA<sup>1</sup>, E.T. TALAIBEKOVA<sup>1</sup>, D.A. ASAMBAEVA<sup>1</sup>, A.S. KERIMKULOVA<sup>2</sup>, O.S. LUNEGOVA<sup>2</sup>, A.A. ALDASHEV<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Molecular Biology and Medicine, Bishkek, Kyrgyz Republic; <sup>2</sup>National Center of Cardiology and Internal Medicine, Bishkek, Kyrgyz Republic

**Aim.** To study the association of the polymorphic marker Glu23Lys in the *KCNJ11* with the development of hypertension in Kyrgyz patients.

**Subjects and methods.** This case-control study enrolled 214 unrelated ethnic Kyrgyzes, in which a study group included 152 hypertensive patients (82 men and 70 women) and a control group consisted of 109 apparently healthy individuals (61 men and 48 women). The examinees' mean age was 55.2±10.1 years. Hypertension was verified when blood pressure (BP) was above 140/90 mm Hg. Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis was used to identify the polymorphic marker Glu23Lys in the *KCNJ11* gene.

**Results.** In the hypertension and control groups, the prevalence of 3 genotypes (Glu23Glu, Glu23Lys, and Lys23Lys) of the Glu23Lys polymorphism in the *KCNJ11* gene differed significantly ( $\chi^2=8.04$ ;  $p=0.018$ ). The Lys23Lys and Glu23Lys genotypes were statistically more frequently recorded in the hypertension group and the homozygous Glu23Glu genotype was, on the contrary, more common in the control group than in the study one. In the hypertension group, the 23Lys allele frequency was statistically significantly higher than that in the control one ( $\chi^2=7.36$ ;  $p=0.0067$ ). The carriage of the 23Lys allele increased the risk of hypertension by 1.68 times (odds ratio (OR), 1.68; 95% confidence interval (CI), 1.17—2.41), that of the Glu23 allele had, on the contrary, a protective effect (OR, 0.60; 95% CI, 0.41—0.86).

**Conclusion.** The polymorphic marker Glu23Lys in the *KCNJ11* gene is associated with hypertension in the Kyrgyzes. The 23Lys allele is a marker for the higher risk of hypertension.

**Keywords:** Kir6.2, *KCNJ11* gene, Glu23Lys polymorphism, association, hypertension, Kyrgyz population.

АГ — артериальная гипертония  
АД — артериальное давление  
ГМКС — гладкие мышечные клетки сосудов  
ДИ — доверительный интервал  
ИМТ — индекс массы тела

ОБ — окружность бедер  
ОТ — окружность талии  
ОШ — отношение шансов  
ПЦР — полимеразная цепная реакция  
СД-2 — сахарный диабет 2-го типа



В Кыргызской Республике артериальная гипертония (АГ) из-за высокой распространенности среди населения вызывает серьезную популяционную угрозу. Согласно данным эпидемиологического исследования, проведенного в республике в 2013 г., распространенность АГ среди лиц 18–65 лет составила 44 %, причем у женщин она оказалась выше в 1,4 раза, чем у мужчин (46,7 и 33,2% соответственно) [1].

Тонус сосудов, определяющий параметры системной гемодинамики, регулируется взаимосвязанными друг с другом генетически детерминированными многогенными, гуморальными и нейрогенными механизмами. Согласно современной мембранной теории Ю.В. Постнова первичным звеном в патогенезе эссенциальной АГ является генетический дефект регулирующих трансмембранный поток ионов кальция клеточных мембран, при нарушении которых в цитоплазме гладких мышечных клеток сосудов (ГМКС) увеличивается уровень внутриклеточного кальция, ведущий к сужению артериол и, следовательно, развитию АГ [2].

В ГМКС в трансмембранном переносе ионов кальция участвуют зависимые от АТФ калиевые каналы ( $K^+$ АТФ-каналы), которые исполняют роль метаболического сенсора и важны с точки зрения локальной метаболической регуляции кровотока [3]. При нарушении функции  $K^+$ АТФ-канала в цитоплазме ГМКС повышается уровень кальция, что ведет к вазоконстрикции и стойкому повышению артериального давления (АД) [4].

В формировании зависимого от АТФ калиевого канала принимают участие два белка — Kir6.2 и SUR2B. С помощью белка Kir6.2 образуется порообразующая субъединица канала, а с помощью SUR2B — регуляторная субъединица [5]. Зависимые от АТФ калиевые каналы имеют по своей структуре трансмембранную топологию и находятся в мембране  $\beta$ -клеток поджелудочной железы, кардиомиоцитов, ГМКС и в мозге [6, 7].

Белок Kir6.2 состоит из 390 аминокислотных остатков. Аминокислотная последовательность белка Kir6.2 закодирована в гене *KCNJ11*, расположенном в хромосоме 11p15.1 [8]. В 1-м экзоне гена *KCNJ11* имеется однонуклеотидный полиморфизм rs5219, в котором происходит замена нуклеотида гуанина аденином в позиции 67 G→A, приводящая к замене глутаминовой кислоты лизином в позиции 23 аминокислотной последовательности белка Kir6.2 (Glu23Lys) [8]. Предполагают, что аллельные варианты локуса Glu23Lys, изменяя структуру белка Kir6.2 и соответственно функциональную активность зависимых от АТФ калиевых каналов ГМКС, могут влиять на тонус сосудов. Так, показано, что у японцев и корейцев полиморфный маркер Glu23Lys гена *KCNJ11* ассоциирован с АГ [9, 10].

#### Сведения об авторах:

Талайбекова Эльнура Талайбековна — м.н.с.

Асамбаева Диана Абилгазыевна — м.н.с.

Керимкулова Алина Суйунтбековна — доцент каф. факультетской терапии

Лушегова Ольга Сергеевна — к.м.н., кардиолог

Алдашев Алмаз Абдулхаевич — д.б.н., акад. НАН КР, директор НИИ молекулярной биологии и медицины

Цель нашего исследования состояла в изучении ассоциации полиморфного маркера Glu23Lys гена *KCNJ11* с развитием АГ у пациентов киргизской национальности.

## Материалы и методы

В исследование случай—контроль включили 214 человек киргизской национальности, из которых у 152 имелась АГ (82/54% мужчин и 70/46% женщин), а 109 являлись условно здоровыми лицами (61/56% мужчин и 48/44% женщин) без сердечно-сосудистых и других тяжелых сопутствующих заболеваний (группа контроля). Средний возраст обследованных лиц составил  $55,2 \pm 10,1$  года. Протокол исследования, одобренный Национальным центром кардиологии Министерства здравоохранения Кыргызской Республики, включал измерение систолического и диастолического АД (САД и ДАД) и антропометрических показателей: масса тела, рост, окружность талии (ОТ), окружность бедер (ОБ), расчет индекса массы тела (ИМТ) и отношения ОТ/ОБ. АГ верифицировали при повышении АД более 140/90 мм рт.ст. Все пациенты, включенные в данное исследование, ознакомлены с целью работы и подписали добровольное письменное согласие на русском или киргизском языках.

Генотипирование полиморфизма Glu23Lys гена *KCNJ11* проводили в образцах ДНК методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием праймеров 5'-GACTCTGCAGT-GAGGCCCTA-3' и 5'-ACGTTGCGATTGCCTTTCTT-3' с последующим применением эндонуклеазы *Vap II*. Результаты ПЦР и рестрикции детектировали в 4% агарозном геле и фотографировали гелем-документирующей системой Gel-Doc-It, UVP (см. рисунок).

**Статистический анализ.** Обработку полученных данных проводили с помощью пакета программ GraphPad Prism v 5.04. Данные представлены в виде абсолютного числа больных с данным генотипом и процента от их числа в группе. Наблюдаемое частотное распределение генотипов проверяли на соответствие закону Харди—Вайнберга с помощью критерия  $\chi^2$ . Для сравнения частот аллелей и генотипов между группами использовали критерий  $\chi^2$  с поправкой Йетса на непрерывность. Рассчитывали 95% доверительный интервал (ДИ). Об ассоциации аллелей или генотипов с предрасположенностью к заболеванию судили по величине отношения шансов (ОШ). При ОШ 1 ассоциации нет, ОШ >1 — положительная ассоциация заболевания с аллелем или генотипом и ОШ <1 — отрицательная ассоциация. Для всех видов анализа статистически значимым считали  $p < 0,05$ .

## Результаты

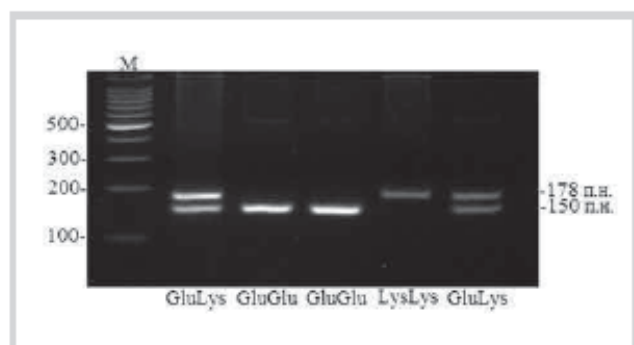
Распределение генотипов соответствовало ожидаемому при распределении Харди—Вайнберга ( $\chi^2=0,26$ ;  $p=0,60$  в группе с АГ и  $\chi^2=2,24$ ;  $p=0,13$  в контрольной группе).

По результатам генотипирования частота генотипов полиморфизма Glu23Lys гена *KCNJ11* значительно различалась между группой пациентов с АГ и контрольной (см. таблицу). У пациентов с АГ статистически значимо чаще регистрировались генотипы Lys23Lys и Glu23Lys, а гомозиготный генотип Glu23Glu, напротив, в контрольной группе встречался чаще, чем в основной ( $\chi^2=8,04$ ;  $p=0,018$ ). Распространенность аллеля 23Lys в группе с АГ статистически значимо выше, чем в контроле ( $\chi^2=7,36$ ;  $p=0,0067$ ). Носительство аллеля 23Lys повышало риск развития АГ в 1,68 раза (ОШ 1,68 при 95% ДИ от 1,17 до 2,41), носительство аллеля Glu23, напротив, оказывало протективное действие (ОШ 0,60 при 95% ДИ от 0,41 до 0,86).

#### Контактная информация:

Исакова Жайнагуль Толоновна — д.м.н., зав. лаб. молекулярной диагностики; e-mail: jainagul@mail.ru





### Электрофоретическое разделение генотипов полиморфного локуса *Glu23Lys* гена *KCNJ11* в 4% агарозном геле.

Генотипу *Lys23Lys* соответствуют фрагмент ДНК длиной 178,32 п.н., *Glu23Lys* — 178, 150, 32, 28 п.н., *Glu23Glu* — 150, 32, 28 п.н. Фрагменты длиной 32 и 28 п.н. не видны из-за низкой молекулярной массы. М — ДНК-маркер молекулярной массой 100–1000 п.н.

Таким образом, у киргизов полиморфный маркер *Glu23Lys* гена *KCNJ11* ассоциирован с развитием АГ. Маркером повышенного риска развития АГ является аллель *23Lys*.

Наши результаты согласуются с данными, полученными при обследовании японцев и корейцев. У японцев, носителей аллеля *23Lys* гена *KCNJ11*, риск развития АГ повышен в 1,3 раза (ОШ 1,32 при 95% ДИ от 1,09 до 1,60;  $p=0,004$ ), у корейцев — 1,65 раза (ОШ 1,65) при 95% ДИ от 1,28 до 2,12;  $p<0,001$ ) [9, 10].

### Обсуждение

Известно, что у азиатов по сравнению с американцами и европейцами высокое АД плохо контролируется и часто приводит к развитию инсульта мозга, являющегося ведущей причиной инвалидности и преждевременной смерти населения. Согласно данным регионального бюро ВОЗ Кыргызская Республика по стандартизированному показателю смертности от мозгового инсульта занимает первое место в Евразийском регионе, а следовательно и первое место в мире (60,67 случая на 100 тыс. населения) [11, 12]. Угрожающий рост заболеваемости АГ и вызванных ею осложнений диктует необходимость изучения генетических закономерностей развития данной патологии.

По результатам полногеномного исследования GWAS, проведенного в 2011 г., у человека идентифицировано 29 вариантов полиморфных маркеров (28 локусов различных генов), ассоциированных с АГ [13].

Если ассоциация ряда полиморфных маркеров отдельных генов (*ACE*, *AGT*, *eNOS*, *MTHFR*, *ADRB1*, *GNB3*, *EDN1*) с АГ широко изучалась в различных европейских и азиатских популяционных группах [13–15], то исследований, касающихся ассоциаций полиморфного маркера *Glu23Lys* гена *KCNJ11* с АГ, немного и они проводились в основном у азиатов, в частности у японцев и корейцев [9, 10].

В имеющихся источниках литературы полиморфизм *Glu23Lys* гена *KCNJ11* в большинстве случаев изучался у больных сахарным диабетом 2-го типа (СД-2), так как  $K^+$ АТФ-каналы  $\beta$ -клеток поджелудочной железы играют ключевую роль в секреции инсулина [15]. По данным этих исследований, проведенных в разных этнических популяциях, выявлена ассоциация полиморфного маркера *Glu23Lys* гена *KCNJ11* с СД-2 [8–10, 16–18].

У киргизов полиморфный маркер *Glu23Lys* гена *KCNJ11* ассоциирован с АГ. Повышенный риск развития АГ чаще имеют лица с аллелью *23Lys* гена *KCNJ11* (ОШ 1,68 при 95% ДИ от 1,17 до 2,41), чем лица, имеющие аллель *Glu23* (ОШ 0,60 при 95% ДИ от 0,41 до 0,86).

Носителями аллеля *23Lys* в гетерозиготном варианте являлись 47% больных с АГ и в гомозиготном варианте — 21%, что свидетельствует о высокой распространенности аллеля *23Lys* в генотипе киргизов.

В пределах одного и того же локуса существуют функциональные различия между аллелями, что служит причиной аллельной дифференциации работы белков. Полиморфизм *Glu23Lys* гена *KCNJ11* обусловлен заменой нуклеотида гуанина (G) аденином (A) в 67-м положении [8]. Белки Kir6.2, синтезирующиеся с этих двух вариантов ДНК, различаются последовательностью аминокислот в 23-м положении. Замена глутаминовой кислоты (Glu) лизином (Lys) в 23-м положении белка Kir6.2 отражается на функционировании канала. Предполагают, что при наличии аллеля *23Lys* чувствительность к АТФ в зависимых от АТФ калиевых каналах ГМКС нарушена, что приводит к нарушению гомеостаза, развитию АГ и ее осложнений.

У японцев и корейцев пациенты с аллелью *23Lys* имели более высокий уровень АД, чем имеющие аллель *Glu23* [9, 10]. У американцев с АГ аллель *23Lys* ассоциирован с увеличением размера левого желудочка и его гипертрофией [19]. Таким образом, результаты наших и проведенных исследований свидетельствуют о потенциальной роли полиморфного маркера *Glu23Lys* гена *KCNJ11* в развитии сердечно-сосудистой патологии.

### Заключение

Изучение роли генотипов и аллелей полиморфных локусов генов в формировании АГ в различных этниче-

### Распределение аллелей и генотипов полиморфного маркера *Glu23Lys* гена *KCNJ11* в группе контроля и у больных АГ киргизской национальности

Маркер <i>Glu23Lys</i> гена <i>KCNJ11</i>	АГ ( $n=152$ )	Контроль ( $n=109$ )	$\chi^2$ ( $p$ )	ОШ (95% ДИ)
<i>Glu23</i>	168 (55)	147(67)	7,36 (0,0067)	0,60 (от 0,41 до 0,86)
<i>23Lys</i>	136 (45)	71(33)		1,68 (от 1,17 до 2,41)
<i>Glu23Glu</i>	48 (32)	53(48,6)	8,04 (0,018)	0,49 (от 0,29 до 0,81)
<i>Glu23Lys</i>	72 (47)	41(37,6)		1,49 (от 0,90 до 2,46)
<i>Lys23Lys</i>	32(21)	15(13,8)		1,67 (от 0,85 до 3,27)



ских группах позволяет глубже понять молекулярно-генетические механизмы индивидуальной вариабельности АД. Кроме того, результаты генотипирования важны в плане использования отдельных генотипов и аллелей в качестве маркеров генетического риска при медико-генетическом прогнозировании заболеваемости.

Выявление группы лиц, генетически склонных к развитию АГ, дает возможность разработать для них превентивные мероприятия, позволяющие снизить риск развития АГ и ее осложнений.

**Конфликт интересов отсутствует.**

## ЛИТЕРАТУРА

1. Полупанов А.Г., Концевая А.В., Халматов А.Н., Алтымышева А.Т., Суворова Е.И., Романова Т.А., Худяков М.Б., Шальнова С.А., Джумагулова А.С. Распространенность артериальной гипертензии среди жителей малых городов и сельской местности кыргызской республики: этнические особенности (по данным международного исследования «интерспид»). *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2013;12(6):4-8. doi:10.15829/1728-8800-2013-6-4-8
2. Постнов Ю.В., Орлов С.Н. *Первичная гипертензия как патология клеточных мембран*. М.: Медицина, 1987.
3. Nichols CG. KATP channels as molecular sensors of cellular metabolism. *Nature*. 2006; 440(7083): 470-476. doi:10.1038/nature04711
4. Zhuo ML, Huang Y, Liu DP, Liang CC. KATP channel: relation with cell metabolism and role in the cardiovascular system. *Int J Biochem Cell Biol*. 2005;37(4):751-764. doi:10.1016/j.biocel.2004.10.008
5. Inagaki N, Gonoi T, Clement JP, Namba N, Inazawa J, Gonzalez G, Aguilar-Bryan L, Seino S, Bryan J. Reconstitution of I (KATP): an inward rectifier subunit plus the sulfonylurea receptor. *Science*. 1995;270:1166-1170. doi:10.1126/science.270.5239.1166
6. Inoue I, Nagase H, Kishi K, Higuti T. ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel in the mitochondrial inner membrane. *Nature*. 1999; 352(6332):244-247. doi:10.1038/352244a0
7. McTaggart JS, Clark RH, Ashcroft FM. The role of the KATP channel in glucose homeostasis in health and disease: more than meets the islet. *Journal of Physiology*. 2010;588:17:3201-3209. doi:10.1113/jphysiol.2010.191767
8. Riedel MJ, Steckley DC, Light PE. Current status of the E23K Kir6.2 polymorphism: implications for type-2 diabetes. *Hum Genet*. 2005;116:133-145. doi:10.1007/s00439-004-1216-5
9. Sakamoto Y, Inoue H, Keshavarz P, Miyawaki K, Yamaguchi Y, Moritani M, Kunika K, Nakamura N, Yoshikawa T, Yasui N, Shiota H, Tanahashi T, Itakura M. SNPs in the KCNJ11-ABCC8 gene locus are associated with type 2 diabetes and blood pressure levels in the Japanese population. *J Hum Genet*. 2007;52:781-793. doi:10.1007/s10038-007-0190-x
10. Koo BK, Cho YM, Park BL, Cheong HS, Shin HD, Jang HC, Kim SY, Lee HK, Park KS. Polymorphisms of KCNJ11 (Kir6.2 gene) are associated with Type 2 diabetes and hypertension in the Korean population. *Diabetic Medicine*. 2007; 24:178-186. doi:10.1111/j.1464-5491.2006.02050.x
11. Миррахимов М.М., Джумагулова А.С., Миррахимов Э.М. Кардиологическая служба Кыргызстана: итоги и перспективы. *Здравоохранения Кыргызстана*. 1999;1:11-13.
12. World Health Organization, Regional Office for Europe. *European health for all database (HFA-DB)*. 2006.
13. Ehret GB, Munroe PB, Rice KM, Bochud M, Johnson AD, Chasman DI, Smith AV, Tobin MD, Verwoert GC, Hwang SJ, Pihur V, Vollenweider P, O'Reilly PF, Amin N, Bragg-Gresham JL, Teumer A, Glazer NL, Launer L, Zhao JH, Aulchenko Y et al. Genetic variants in novel pathways influence blood pressure and cardiovascular disease risk. *Nature*. 2011;478:103-109. doi:10.1038/nature10405
14. Kokubo Y, Tomoike H, Tanaka C, Banno M, Okuda T, Inamoto N, Kamide K, Kawano Y, Miyata T. Association of sixty-one non-synonymous poly-morphisms in forty-one hypertension candidate genes with blood pressure variation and hypertension. *Hypertension Research*. 2006;29:611-619. doi:10.1291/hypres.29.611
15. Padmanabhan S, Caulfield M, Dominiczak AF. Genetic and Molecular Aspects of Hypertension. *Circulation Research*. 2015; 116:937-959. doi:10.1161/CIRCRESAHA.116.303647
16. Haghvirdizadeh P, Mohamed Z, Abdullah NA, Haghvirdizadeh P, Haerian MS, Haerian BS. KCNJ11: Genetic Polymorphisms and Risk of Diabetes Mellitus. *Journal of Diabetes Research*. Volume 2015; Article 908152, 9pages. doi:10.1155/2015/908152
17. Chistiakov DA, Potapov VA, Khodirev DS, Shamkhalova MS, Shestakova MV, Nosikov VV. Replication of association between polymorphisms of the pancreatic ATP-sensitive potassium channel and susceptibility to type 2 diabetes in two Russian urban populations. *Cent Eur J Biol*. 2010;5(1):67-77. doi:10.2478/s11535-009-0059-4
18. Imran Ali Khan, Kiran Kumar Vattam, Parveen Jahan, Kamal Kiran Mukkavali, Qurratulain Hasan, Pragna Rao. Correlation between KCNQ1 and KCNJ11 gene polymorphisms and type 2 and posttransplant diabetes mellitus in the Asian Indian population. *Genes & Diseases*. 2015;2:276-282. doi:10.1016/j.gendis.2015.02.009
19. Reyes S, Terzic A, Mahoney DW, Redfield MM, Rodeheffer RJ, Olson TM. K (ATP) channel polymorphism is associated with left ventricular size in hypertensive individuals: a large-scale community-based study. *Hum Genet*. 2008;123(6):665-667. doi:10.1007/s00439-008-0519-3

Поступила 02.02.2016