

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования

**«СЕВЕРНЫЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ»**

Министерства здравоохранения Российской Федерации  
ФАКУЛЬТЕТ Медико-профилактического дела и медицинской биохимии  
КАФЕДРА медицинской биологии и генетики  
(полное наименование кафедры)

**ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА  
(специалиста)**

«Полиморфизм A1166C гена рецептора 1 типа ангиотензина-2 и уровень  
эндотелиальных факторов»

Выполнил обучающийся группы 2	Астрейко Мария Олеговна _____
Направление подготовки	30.05.01 Медицинская биохимия
Форма обучения	Очная
Руководитель	Д.б.н., профессор, зав. кафедрой медицинской биологии и генетики Бебякова Н.А. _____
Рецензент	_____
Оценка	_____

Архангельск, 2021

## СОДЕРЖАНИЕ

Введение	7
Глава 1. Литературный обзор	11
1.1. Ренин-ангиотензин-альдостероновая система	11
1.2. Полиморфизм A1166C гена AGT2R1	15
1.3. Вазоактивные эндотелиальные факторы	17
1.3.1. Эндотелин	17
1.3.2. Оксид азота	19
1.4. Эндотелиальные факторы и состояние сердечно-сосудистой системы у профессиональных спортсменов с полиморфизмом A1166C гена AGT2R1	21
Глава 2. Материалы и методы исследования	24
2.1. Материалы и объем исследования	24
2.2. Методы исследования	25
2.2.1. Проведение пробы с дозированной физической нагрузкой	25
2.2.2. Гемодинамические показатели и факторы риска формирования АГ	28
2.2.3. Лабораторные исследования	28
2.2.3.1. Определение уровня NO	28
2.2.3.2. Определение уровня ЭТ-1	30
2.2.3.3. Определение уровня ангиотензина II	32
2.2.3.4. Молекулярно-генетические исследования	33
2.2.3.4.1. Выделение ДНК	34
2.2.3.4.2. Проведение ПЦР-анализа	34
2.2.4. Статистическая обработка результатов	36
Глава 3. Результаты исследования	37
3.1. Распределение генотипов полиморфизма A1166C гена AGT2R1	37

3.2	Уровень вазоактивных эндотелиальных факторов у лиц, не занимающихся спортом, и у профессиональных спортсменов, с различными генотипами по полиморфизму A1166C гена AGT2R1	39
3.3	Гемодинамические показатели у лиц, не занимающихся спортом, и у профессиональных спортсменов, с различными генотипами по полиморфизму A1166C гена AGT2R1	42
3.3.1	Гемодинамические показатели у лиц, не занимающихся спортом, с различными генотипами по полиморфизму A1166C гена AGT2R	42
3.3.2	Гемодинамические показатели у профессиональных спортсменов с различными генотипами по полиморфизму A1166C гена AGT2R1	48
3.4	Анализ факторов риска формирования АГ у лиц, не занимающихся спортом, и у профессиональных спортсменов, с различными генотипами по полиморфизму A1166C гена AGT2R1	52
3.4.1	Анализ факторов риска формирования АГ у лиц, не занимающихся спортом, с различными генотипами по полиморфизму A1166C гена AGT2R1	52
3.4.2	Анализ факторов риска формирования АГ у профессиональных спортсменов с различными генотипами по полиморфизму A1166C гена AGT2R1	55
	Заключение	58
	Выводы	62
	Практические рекомендации	64
	Список литературы	65
	Приложения	73

### **Список публикаций по теме исследования:**

1. Астрейко М.О., Афиногенова О.А., Первухина О.А., Шабалина И.А., Бебякова Н.А. Полиморфизм генов ренин-ангиотензиновой системы у спортсменов в условиях европейского севера // *Fundamental Science for Medicine: Материалы I Региональной конференции молодых ученых, Нижний Новгород, 23 декабря 2019.* – С.9.
2. Астрейко М.О., Афиногенова О.А., Бебякова Н.А. Полиморфизм А1166С гена AGT2R1 в развитии сердечно-сосудистой патологии (обзор) // *Студенческий форум.* – 2020. – №30. – С.8-11.
3. Астрейко М.О., Афиногенова О.А., Первухина О.А. Полиморфизм Т704С и С521Т в гене AGT и А1666С в гене AGT2R1 у жителей Архангельской области // *Актуальные проблемы биомедицины – 2020: Сборник тезисов XXVI Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием, 26-27 марта, 2020 г.* – С.402-403.
4. Астрейко М.О., Бебякова Н.А., Первухина О.А., Никонова Ю.М. Роль полиморфизма А1166С гена AGT2R1 в развитии факторов сердечно-сосудистого риска // *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* – 2021. – Т.39. – №5. – С.11-12.

**Публичное представление результатов выпускной квалификационной работы:**

1. Полиморфизм генов ренин-ангиотензиновой системы у спортсменов в условиях европейского севера // Fundamental Science for Medicine: I Региональная конференция молодых ученых, Нижний Новгород, 23 декабря 2019.
2. «Полиморфизм T704C и C521T в гене AGT и A1666C в гене AGT2R1 у жителей Архангельской области» // XXVI Всероссийская конференция молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины – 2020», 26-27 марта 2020.
3. «Роль полиморфизма A1166C гена AGT2R1 в развитии факторов сердечно-сосудистого риска» // IX Международная школа молодых учёных по молекулярной генетике «Геномика 21 века – от исследования геномов к генетическим технологиям», 15-19 марта 2021.

### **Список сокращений:**

АГ – артериальная гипертензия

АД – артериальное давление

АП – адаптационный потенциал

АПФ – ангиотензинпревращающий фермент

ДАД – диастолическое артериальное давление

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ПД – пульсовое давление

ПЦР – полимеразно-цепная реакция

ОР – относительный риск

ОЦК – объем циркулирующей крови

РААС – ренин-ангиотензин-альдостероновая система

САД – систолическое артериальное давление

СДД – среднее динамическое давление

ССС – сердечно-сосудистая система

ЦНИЛ – Центральная научная исследовательская лаборатория

ФГБОУ ВО – федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

ЧСС – частота сердечных сокращений

ЭД – эндотелиальная дисфункция

ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота

ЭТ-1 – эндотелин-1

AGT2R1 – рецептор ангиотензина II первого типа

NO – оксид азота

NOS – синтаза оксида азота

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность

Артериальная гипертензия (АГ) считается одним из самых распространенных заболеваний во всем мире. Ожидается, что показатель заболеваемости АГ к 2025 году вырастет более, чем на 30% [52].

Одним из важнейших механизмов контроля гемодинамики является ренин-ангиотензин-альдостероновая система (РААС), которая действует путем регулирования артериального давления (АД), объема жидкости и натриево-калиевого баланса. В связи с этим, изменение хотя бы одного из компонентов данной цепи может привести к формированию АГ [61].

Генетические факторы считаются одними из ключевых в инициации данного заболевания, в связи с чем значимое внимание в современной медицине отводится идентификации неблагоприятных полиморфизмов [15].

Существует огромное количество генов-кандидатов, однако ген рецептора I типа ангиотензина II (*AGT2R1*) вызывает особый интерес у исследователей. Среди представленных полиморфных вариантов наиболее активно изучается полиморфизм A1166C (SNP ID: rs5186). Согласно литературным данным, именно трансверсия A/C в положении 1166 влияет на функциональную активность рецептора [33, 66], повышая количество рецепторов I типа на поверхности клеток [28, 59]. Данный полиморфизм связан с жесткостью сосудистой стенки и гипертрофией миокарда, а также с повышенной вазоконстрикцией, что увеличивает риск формирования АГ [4, 60].

Дискомфортные природные условия Европейского Севера предъявляют повышенные требования к функционированию сердечно-сосудистой системы. Состояние ССС северян характеризуется склонностью к усилению тонического напряжения периферических сосудов, повышением артериального давления и общего периферического сопротивления сосудов.

Известно, что спортивная деятельность и физическая нагрузка влияют на сердечно-сосудистую систему человека, и, в частности, на эндотелий сосудов. Физические упражнения улучшают функцию эндотелия в экспериментальных

моделях АГ на животных, у пациентов с эссенциальной гипертензией и у людей, имеющих нормальное артериальное давление [56]. Исследования показывают, что физические упражнения эффективно снижают артериальное давление и улучшают эндотелий-зависимую вазодилатацию за счет повышения биодоступности NO в сосудистой стенке. В связи с этим, особый интерес для исследования представляют профессиональные спортсмены, проживающие на территории Европейского Севера.

Считается, что при отборе в профессиональный спорт важными являются не только физиологические показатели, но и генетическая предрасположенность. Так, успешность спортсменов зависит от числа аллелей генов, ассоциированных с адаптационными возможностями сердечно-сосудистой и мышечной систем организма к продолжительным физическим нагрузкам [14]. На сегодняшний день было идентифицировано более 200 полиморфизмов генов, ассоциированных с особенностями физической активности. При этом, более 20 из данных полиморфных вариантов коррелируют с профессиональной спортивной успешностью [43].

Следствием носительства неблагоприятных аллелей является прекращение роста спортивных результатов и развитие патологических состояний, например, выраженной гипертрофии левого желудочка.

Одним из неблагоприятных полиморфизмов, который влияет на сердечно-сосудистую систему, является исследуемый полиморфный вариант A1166C гена *AGT2R1*. В исследованиях отмечается, что среди носителей генотипа C/C доля профессиональных спортсменов невелика [24, 40]. Данный факт является подтверждением того, что мутантный аллель С является неблагоприятным маркером для успешности в профессиональном спорте.

### **Цель исследования:**

Цель данной работы: выявление взаимосвязи полиморфизма A1166C гена *AGT2R1* и уровня эндотелиальных факторов у профессиональных спортсменов и людей, не занимающихся спортом.



### **Задачи исследования:**

1. Провести анализ распространенности аллелей и генотипов полиморфного варианта A1166C гена *AGT2R1* у профессиональных спортсменов и лиц, не занимающихся спортом.
2. Определить уровень вазоактивных факторов у профессиональных спортсменов и людей, не занимающихся спортом, с разными генотипами по полиморфизму A1166C гена *AGT2R1*.
3. Выявить особенности гемодинамических показателей у профессиональных спортсменов и лиц, не занимающихся спортом, с различными генотипами полиморфного варианта A1166C гена *AGT2R1* в покое и после дозированной физической нагрузки.
4. Изучить взаимосвязь между полиморфным вариантом A1166C гена *AGT2R1* и факторами риска, приводящими к формированию артериальной гипертензии, для группы профессиональных спортсменов и для группы людей, не занимающихся спортом.

### **Предмет и объект исследования:**

Предметом данного исследования является определение взаимосвязи полиморфизма A1166C гена *AGT2R1* и уровня эндотелиальных факторов у лиц, не занимающихся спортом, и профессиональных спортсменов. Объектом исследования являются эндотелиальные вазоактивные факторы.

### **Гипотеза исследования:**

Носители генотипа C/C полиморфизма A1166C гена *AGT2R1* имеют более высокие риски формирования артериальной гипертензии как среди профессиональных спортсменов, так и среди лиц, не занимающихся спортом.

### **Научная новизна:**

1. Установлено, что частоты встречаемости мутантного аллеля C и гетерозигот A/C по полиморфизму A1166C гена *AGT2R1* у людей, не

занимающихся спортом, ниже, чем для европейских популяций. При этом, распределение по мутантному аллелю С и генотипу С/С в группе профессиональных спортсменов еще ниже, чем у лиц, не занимающихся спортом.

2. Выявлено, что у людей, не занимающихся спортом и имеющих генотип С/С, формируется сдвиг баланса продукции вазоактивных эндотелиальных факторов в сторону вазоконстрикции, в то время как у профессиональных спортсменов дисбаланс не выявлен.
3. У людей, не занимающихся спортом, выявлена ассоциация генотипа С/С полиморфного варианта А1166С гена *AGT2R1* с гипертонической реакцией на дозированную физическую нагрузку, увеличением таких показателей как: САД, ДАД, ЧСС, СДД и АП. У профессиональных спортсменов ассоциация выявлена только с ДАД, СДД и АП.

#### **Практическая значимость:**

В данном исследовании у лиц, являющихся гомозиготами по мутантному аллелю С по полиморфизму А1166С гена *AGT2R1* и не занимающихся спортом, происходит формирование эндотелиальной дисфункции. У профессиональных спортсменов, имеющих генотип С/С, отмечается напряжение адаптационных механизмов сердечно-сосудистой системы на дозированную физическую нагрузку, что подтверждает факт о том, что мутантный аллель С является неблагоприятным маркером для успешности в профессиональном спорте.

## Глава 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

### 1.1 Ренин-ангиотензин-альдостероновая система

Артериальная гипертензия (АГ) является одним из самых распространенных заболеваний во всем мире. Согласно статистическим данным, АГ имеют около 26% населения Земли. Ожидается, что показатель заболеваемости к 2025 году вырастет более, чем на 30% [52]. Однако, более, чем в 90% случаев АГ имеет неизвестную этиологию, и, следовательно, диагностируется как первичная (эссенциальная). Остальные 10% рассматриваются как вторичная АГ, которая вызвана, как правило, почечными, неврологическими, эндокринными и сердечно-сосудистыми заболеваниями [50].

Одним из важнейших механизмов контроля гемодинамики является ренин-ангиотензин-альдостероновая система (РААС), которая действует путем регулирования артериального давления (АД), объема жидкости и натриево-калиевого баланса. В связи с этим, изменение хотя бы одного из компонентов данной цепи может привести к формированию АГ [61].

РААС представляет собой каскад ферментно-субстратных взаимодействий. Изначально в юкстагломерулярных клетках почек происходит синтез препроенина, который превращается в проренин при отщеплении 23 аминокислот. Данный процесс происходит в ответ на различные стимулы, включая повышенную активность симпатической нервной системы, снижение перфузионного давления в почечных афферентных артериолах, низкий уровень внутриклеточного натрия, а также местное действие оксида азота и простаноидов [47]. Проренин в эндоплазматическом ретикулуме подвергается гликозилированию и приобретает 3-D структуру. Большая часть проренина путем экзоцитоза выделяется в кровоток, однако в клетках юкстагломерулярного аппарата некоторая доля (под действием эндопептидаз) превращается в ренин. Полученный ренин также выделяется в кровоток [9].

Здесь секретированный ренин катализирует расщепление ангиотензиногена, который вырабатывается в печени. В результате данной реакции происходит образование декапептида ангиотензина I, который не

обладает биологической активностью. Под действием ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) ангиотензин I превращается в ангиотензин II, основной эффектор системы РААС, путем отщепления двух С-концевых аминокислот. Данный процесс происходит на поверхности эндотелия. При этом, нейтральные эндопептидазы расщепляют ангиотензин I для получения ангиотензина (1-7), который обладает действием, противоположным эффекту ангиотензина II. Однако, стоит отметить, что ангиотензин (1-7) также может быть продуцирован расщеплением ангиотензина II ангиотензинпревращающим ферментом 2 (АПФ2). Таким образом происходит снижение концентрации ангиотензина II, что способствует вазодилатации [52, 58].

АПФ, помимо своего основного действия, т.е. отщепления двух С-концевых аминокислот от ангиотензина I, также может также уменьшать общую активность тканевого активатора плазминогена и влиять на эндотелиальную синтазу оксида азота путем повышения её активности. При этом, увеличение концентрации оксида азота (NO) приводит к уменьшению активности АПФ [26]. Параллельно с данным процессом ангиотензинпревращающий фермент участвует в расщеплении брадикинина до неактивных фрагментов. Брадикинин является одним из стимуляторов синтеза NO, который считается одним из основных вазодилататоров [29].

В дополнение к данной классической системе, компоненты РААС локально обнаруживаются в тканях мозга, сердца, почках, жировой ткани, скелетных мышцах и надпочечниках. В данных тканях образование ангиотензина II происходит под действием мембраносвязанного АПФ, однако процесс требует поглощения ангиотензиногена и ренина из кровотока [61]. Наличие внутриклеточных компонентов также было описано в кардиомиоцитах, гладкомышечных клетках сосудов, клетках проксимальных канальцев почек и нейронах [49]. В этом случае образование ангиотензина II происходит внутриклеточно. Также известно, что данное соединение может усваиваться клетками после активации рецепторов клеточной поверхности.

Исследователями отмечается, что существуют также альтернативные пути образования ангиотензина II, например, из ангиотензиногена под воздействием катепсина G, калликреина и тонина. Также данное соединение может образовываться из ангиотензина I при участии химазы, наиболее активной в ткани сердца и сосудов. В настоящее время не АПФ-зависимые пути образования ангиотензина II активно изучаются. Так, известно, что в интактных почках около 40% данного соединения образуется без участия АПФ, а в сердце и сонных артериях человека основным фактором образования ангиотензина II являются химазы [3].

Большинство известных эффектов ангиотензина II реализуется через рецептор ангиотензина II первого типа (AGT2R1), который связан с Gq-белком. Активация AGT2R1 приводит к вазоконстрикции, гипертрофии кардиомиоцитов, пролиферации гладкомышечных клеток сосудистой стенки, увеличению синтеза эндотелина-1, стимуляции высвобождения вазопрессина и секреции альдостерона, повышению реабсорбции натрия в проксимальных канальцах нефрона, сердечной сократимости, ингибированию высвобождения ренина и ряд других [45].

Также существует рецептор ангиотензиногена II второго типа (AGT2R2), который вызывает эффекты, противоположные действию AGT2R1 [55]. К ним относятся: вазодилатация, торможение гипертрофии кардиомиоцитов и пролиферации фибробластов в миокарде, а также пролиферации эндотелиальных и гладкомышечных клеток. Одним из эффектов является активация кининогена, что способствует образованию брадикинина в сосудистой стенке, а следовательно, увеличению высвобождения NO и простациклина [5].

Стоит отметить, что также были описаны рецепторы ангиотензина II третьего и четвертого типов. Рецепторы третьего типа (AGT2R3) обнаружены на мембранах нейронов. Рецепторы ангиотензина II четвертого типа (AGT2R4) располагаются на мембранах клеток головного мозга, почек, сердца и эпителиальных тканей. Одними из эффектов, опосредованных данным

рецептором, считается регуляция пролиферации клеток и регуляция функций памяти [20]. В литературе также описано образование ангиотензина III и ангиотензина IV, реализация эффектов которых осуществляется путем стимуляции рецепторов третьего и четвертого типов. Образование ангиотензина III происходит под действием аминопептидазы-А из ангиотензина II. Далее, под влиянием аминопептидазы N из ангиотензина III образуется ангиотензин IV. Ангиотензин IV имеет сродство к рецепторам первого и второго типов, но менее значительное, чем для ангиотензина II. В настоящее время соотношение активности рецепторов разных типов продолжает изучаться [3].

Одним из составляющих ренин-ангиотензин-альдостероновой системы является альдостерон. Синтез и секреция альдостерона стимулируются ангиотензином II через рецептор первого типа в коре надпочечников. Альдостерон оказывает свое специфическое действие через минералокортикоидный рецептор, который экспрессируется в клетках эпителия, осуществляющих транспорт натрия [12]. Так, альдостерон способствует стимуляции реабсорбции натрия в дистальных отделах почечных канальцев, секреции ионов калия из кровотока в фильтрат, тем самым регулируя объем воды в организме человека [1]. Следствием данного процесса является изменение объема циркулирующей крови (ОЦК), а значит, и изменение АД.

С учётом всего вышеизложенного, выделяют два фактора, которые оказывают основное действие на уровень АД. К данным факторам относятся: изменение объема циркулирующей крови, основной ролью которого является поддержание сердечного выброса, и активность ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, которая поддерживает периферическое сосудистое сопротивление. При этом выделяют два патогенетических фактора формирования артериальной гипертензии: один из них представлен объем-зависимой АГ, обусловленной изменением объема циркулирующей крови. Вторым патогенетическим фактором является повышенная вазоконстрикция при реализации эффектов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, т.е. ренин-зависимая АГ [3].

Таким образом, ренин-ангиотензин-альдостероновая система представляет собой цепь взаимодействий, которые выполняют важную роль в регуляции АД в организме человека [22].

## 1.2 Полиморфизм A1166C гена *AGT2R1*

Так как ренин-ангиотензин-альдостероновая система тесно связана с АД, то любой дисбаланс может привести к формированию патологических состояний, в том числе, к формированию АГ. Генетические факторы считаются одними из ключевых в инициации заболевания, в связи с чем значимое внимание в современной медицине отводится молекулярно-генетическим методам анализа с идентификацией различных неблагоприятных полиморфизмов [15].

Существует огромное количество генов-кандидатов, однако ген рецептора I типа ангиотензина II (*AGT2R1*), расположенный в эндотелии сосудов, вызывает особый интерес у исследователей. Согласно литературным источникам, через данный рецептор опосредовано не только вазоконстрикция, но и пролиферация гладкомышечных клеток сосудистой стенки, увеличение реабсорбции натрия в проксимальных канальцах нейрона, сердечная сократимость, секреция альдостерона и эндотелина-1, а также ряд других эффектов [27, 54].

Ген, кодирующий рецептор ангиотензина II первого типа, имеет длину более 50 кб, расположен на 3 хромосоме (3q24) и состоит из 5 экзонов и 4 интронов. Данный ген кодирует пептид, состоящий из 360 аминокислот [34]. В настоящее время наиболее изучена взаимосвязь с полигенными наследственными заболеваниями трех вариантов полиморфизма данного гена: динуклеотидного микросателлита в 3'-нетранслируемой области гена, а также два однонуклеотидных полиморфизма: замена Т на С в положении 573 (T573C) и А на С в положении 1166 (A1166C) [54].

Среди представленных полиморфных вариантов наиболее активно изучается полиморфизм A1166C (SNP ID: rs5186). Рядом исследователей было показано, что именно однонуклеотидный полиморфизм (трансверсия А/С) A1166C гена *AGT2R1* влияет на функциональную активность рецептора первого

типа ангиотензина II [54, 66] Таким образом, замена аденина (А) на цитозин (С) в положении 1166 приводит к повышению уровня экспрессии гена и, соответственно, к повышению количества рецепторов на поверхности клеток, что приводит к увеличению концентрации ангиотензина II [28, 59]. Многочисленные исследования показывают, что полиморфизм А1166С гена *AGT2R1* связан с жесткостью сосудистой стенки, развитием почечной недостаточности, гипертрофией миокарда, дисфункцией левого желудочка и утолщением комплекса интима-медиа сонных артерий [36, 43, 51].

Согласно литературным данным, была доказана ассоциация генотипа С/С исследуемого полиморфизма с повышенной вазоконстрикцией, что увеличивает риск формирования АГ [4, 60]. Описано, что лица с генотипом А/А не имеют аллелей риска сосудистых осложнений. Для людей, которые имеют генотип А/С, наблюдается повышенный риск сосудистых осложнений. При этом, у лиц с генотипом С/С отмечается высокий риск сосудистых осложнений. Также была выявлена ассоциация аллеля С с инфарктом миокарда [67].

Стоит отметить, что исследуемый полиморфизм связан с гипертонией регуляцией экспрессии гена с помощью микро-РНК-155 (miR-155). Данный процесс приводит к повышению уровня экспрессии гена рецептора I типа ангиотензина II. Одним из механизмов действия считается репрессия трансляции. Так, аллель С полиморфизма А1166С гена *AGT2R1* изменяет сайт-мишень, что приводит к ухудшению способности связывания с miR-155. Данный процесс приводит к повышению экспрессии гена *AGT2R1*, что в результате индуцирует повышение уровня рецепторов первого типа к ангиотензину II [8, 59].

Важно отметить, что в современных литературных источниках подчеркивается взаимосвязь полиморфизма А1166С гена *AGT2R1* с этническим происхождением. Так, в одном из исследований проведен анализ публикаций о взаимосвязи с развитием гипертонии более чем в 40 популяциях. В половине популяций была выявлена взаимосвязь между полиморфизмом А1166С и АГ. В остальных популяциях такой ассоциации выявлено не было.



Полученные результаты свидетельствуют о необходимости дальнейшего исследования данного полиморфизма у людей разных этнических групп и проживающих в разных экологических условиях [29, 68].

### **1.3 Вазоактивные эндотелиальные факторы**

Известно, что регуляция артериального давления осуществляется центральными и периферическими механизмами. В последнее время особое значение в поддержании АД отводится эндотелиальным клеткам [18, 19]. Эндотелий участвует в модуляции функций сосудов путем синтеза БАВ, которые поддерживают местный сосудистый гомеостаз [6].

Так, эндотелиальные клетки поддерживают тонус сосудов, секретировав вазоконстрикторы и вазодилататоры. К вазодилататорам относятся такие вещества как: оксид азота (NO), натрийуретические пептиды, простагландин, эндотелиальный гиперполяризующий фактор. Сероводород (H<sub>2</sub>S), который действует совместно с оксидом азота, также был отнесен к данной группе [65]. Стоит отметить, что основным вазодилататором является NO.

Одним из наиболее важных вазоконстрикторов является эндотелин-1. Эндотелин-1 обладает высокой вазомоторной активностью, а также участвует в релизинге NO и простагландина [23].

Дисбаланс продукции вазоконстрикторов и вазодилататоров является основным фактором, приводящим к формированию эндотелиальной дисфункции (ЭД). В свою очередь, ЭД является неспецифическим звеном в патогенезе многих заболеваний сердечно-сосудистой системы [37].

#### **1.3.1 Эндотелин**

Эндотелин-1 (ЭТ-1) представляет собой 21-аминокислотный пептид, который продуцируется эндотелиальными клетками, макрофагами, гладкомышечными клетками, фибробластами и клетками эпителия [53, 46].

Изначально была выявлена лишь одна изоформа – эндотелин-1. В настоящее время выделяют несколько изоформ эндотелина: ЭТ-1, ЭТ-2 и ЭТ-3,

однако у человека преобладающей формой является ЭТ-1. Все три изоформы также состоят из 21 аминокислотного остатка, однако синтез ЭТ-1, ЭТ-2 и ЭТ-3 кодируется различными генами (*END1*, *END2* и *END3* соответственно). Также стоит отметить, что эндотелин-2 отличается от эндотелина-1 лишь на два аминокислотных остатка в структуре N-концевого участка, а ЭТ-1 и ЭТ-3 – уже на шесть аминокислотных остатков [25].

Известно, что полипептид вырабатывается эндотелиальными клетками в виде предшественника – препроэндотелина (preproET-1), который состоит из 212 аминокислотных остатков. Под действием сигнальной пептидазы от препроэндотелина-1 отделяется проэндотелин-1 (proET-1). После отщепления олигопептидных фрагментов на С-конце и N-конце проэндотелин преобразуется в большой эндотелин (Big-эндотелин) [62]. Большой эндотелин состоит из 39 аминокислотных остатков. При участии эндотелинпревращающего фермента (ЭПФ) происходит образование эндотелина-1 [53]. Синтез ЭТ-2 аналогичен синтезу ЭТ-1, однако при этом Big-эндотелин-2 имеет в своем составе 38 аминокислотных остатков.

Изоформы эндотелина реализуют свои эффекты путем взаимодействия с двумя рецепторами, связанными с G-белком: ЕТА и ЕТВ. Все три изоформы будут эффективны при взаимодействии с ЕТВ, однако ЕТ-3 – единственная изоформа, которая имеет незначительное сродство к ЕТА [38]. При этом, уровни рецепторов ЕТА и ЕТВ, а также сигнальные пути, активируемые этими рецепторами, изменяются при некоторых сердечно-сосудистых заболеваниях, включая артериальную гипертензию [57]. Сигнальные пути, которые активируются рецепторами ЕТА и ЕТВ, включают Gq, Gs и Gi - малые G-белки, приводящие к стимуляции фосфолипазы С (PLC), которая будет расщеплять фосфатидилинозитолдифосфат до инозитолтрифосфата (IP3) и диацилглицерина (DAG). Повышенная продукция IP3 способствует мобилизации ретикулярного и внеклеточного кальция [63]. Вход Ca<sup>2+</sup> провоцирует каскад открытия ионных каналов. Так, происходит открытие хлоридных каналов и ингибирование калиевых каналов. Данный процесс будет влиять на чувствительность

миофиламентов к кальцию, что будет приводить к увеличению сократительной способности. Стоит отметить, что ЭТ-1 также может активировать только ЕТВ-рецепторы на эндотелиальных клетках. Это способствует высвобождению эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS), производной оксида азота, через зависимый от тирозинкиназы и  $Ca^{2+}$ /кальмодулин-зависимый путь. В данном случае, NO будет снижать концентрацию внутриклеточного  $Ca^{2+}$  с сопутствующей вазодилатацией [63].

Согласно данным литературы, конечный эффект эндотелина зависит от его концентрации. При физиологических концентрациях эндотелин-1 опосредует вазодилатацию сосудов. Однако, при более высокой концентрации он начинает связываться с ЕТА рецепторами и реализует сосудосуживающий эффект [10].

Известно, что эндотелин-1 стимулирует работу ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, приводя к констрикции артерий почечных клубочков, тем самым оказывая влияние на секрецию альдостерона. Альдостерон, в свою очередь, приводит к изменению объема циркулирующей крови (ОЦК), что является одним из патогенетических факторов формирования АГ. Также стоит отметить, что через рецептор AGT2R1 происходит увеличение синтеза ЭТ-1.

Таким образом, у лиц с АГ сосудистые эффекты ЭТ-1 могут проявляться посредством уменьшения образования NO, который вызывается эндотелиальной дисфункцией на фоне повышенного АД [11].

### **1.3.2 Оксид азота**

Оксид азота (NO) является одним из вазоактивных соединений, продуцируемых эндотелиальными клетками. Синтез оксида азота и L-цитруллина происходит из аминокислоты L-аргинина и кислорода при участии фермента синтазы оксида азота (NOS). Данная реакция требует наличия тетрагидробиоптерина ( $BH_4$ ) в качестве кофактора. Стоит отметить, что отсутствие  $BH_4$  приводит к образованию супероксида ( $O_2^-$ ) вместо NO [31].

В литературе описано три изоформы NOS: эндотелиальная (eNOS), нейрональная (nNOS) и индуцибельная изоформа NOS (iNOS) [41].

Нейрональная NO-синтаза экспрессируется в центральной и периферической нервной системе и продуцирует NO, который функционирует в качестве нейромедиатора [25]. Наиболее распространенной изоформой nNOS является nNOS $\alpha$ . Эндотелиальная NO-синтаза в основном экспрессируется в эндотелиальных клетках сосудов и локализуется в периферическом ядре и аппарате Гольджи [64]. Как eNOS, так и nNOS активируется кальций-зависимым связыванием кальмодулина.

В отличие от конститутивно экспрессируемых nNOS и eNOS, индуцибельная изоформа редко присутствует в норме: она индуцируется факторами, которые связаны с процессами воспаления. Так, индуцирующими агентами для iNOS являются эндотоксины, INF $\gamma$ , IL-1 и ФНО- $\alpha$ . Индуцибельная изоформа NO-синтазы экспрессируется в макрофагах, в основном в микроглии ЦНС [17]. Регуляция данной изоформы происходит только на уровне экспрессии, а активность iNOS не зависит от кальция и кальмодулина.

Многочисленные исследования показывают, что NO играет значимую роль в регуляции артериального давления, являясь основным вазодилататором. Изменение синтеза NO встречается при многих патологических состояниях, в том числе, при АГ. Так, дефицит может быть вызван уменьшением экспрессии eNOS, недостатком субстрата или кофакторов для эндотелиальной NO-синтазы. Возможно изменение клеточной передачи сигналов для активации eNOS или ускоренная деградация NO реактивными кислородными радикалами [7].

Согласно литературным данным, у лиц с эссенциальной АГ наблюдается значимое снижение оксида азота и отмечается нарушение эндотелий-зависимой вазодилатации [30]. Уже на ранних стадиях АГ наблюдается избыток продукции цитокинов, которые будут индуцировать синтез iNOS. Изначально данный процесс имеет компенсаторное значение, так как ограничивает подъем артериального давления, однако в последствии избыток NO будет подавлять активность eNOS и повреждать клетки сосудов, что будет приводить к снижению продукции эндотелиального NO и формированию вазоконстрикции [16].

РААС также связана с уменьшением синтеза оксида азота. При АГ наблюдается нарушение распада брадикинина, следствием чего является уменьшение выработки оксида азота. Также уменьшение синтеза NO, индуцированное ангиотензином II, включает в себя стойкий дефицит кофактора H4B, недостаток которого приводит к образованию супероксида [35].

Стоит отметить, что оксид азота является нестабильным соединением, поэтому для оценки продукции NO применяется только непрямой метод. В клеточных культурах NO превращается в ион нитрита (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), но в присутствии гемового железа (Fe<sup>2+</sup>) ион нитрита превращается в более стабильный ион нитрата (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Поэтому, оксид азота обычно измеряется как сумма содержания нитратов (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) и нитритов (NO<sub>2</sub>) в плазме.

#### **1.4 Эндотелиальные факторы и состояние сердечно-сосудистой системы у профессиональных спортсменов с полиморфизмом A1166C гена *AGT2R1***

Последнее десятилетие особое внимание уделяется вопросам спортивной подготовки и отбора лиц в профессиональный спорт. Известно, что спортивная деятельность и физическая нагрузка благоприятно влияют сердечно-сосудистую систему человека, и, в частности, на эндотелий сосудов. Физические упражнения улучшают функцию эндотелия в экспериментальных моделях артериальной гипертензии на животных, у пациентов с эссенциальной гипертензией и у людей, имеющих нормальное артериальное давление [56]. Несмотря на то, что механизмы, лежащие в основе эффектов упражнений еще не выяснены до конца, считается, что улучшение эндотелий-зависимой релаксации сосудов опосредовано значительным увеличением продукции вазодилататоров, основным из которых является оксид азота [48].

Исследования показывают, что физические упражнения эффективно снижают АД и улучшают эндотелий-зависимую вазодилатацию за счет повышения биодоступности NO в сосудистой стенке. В частности, в одном из исследований, была показана роль данного соединения при физической нагрузке: при ингибировании NO-синтазы у исследуемых отмечалось

ухудшение мышечного кровотока [42]. Также отмечается, что при физических нагрузках происходит увеличение тетрагидробиоптерина, который является кофактором в реакции синтеза NO.

Однако, для оценки эффективности физических упражнений на работу ССС необходимо учитывать не только физиологические показатели, но и генетическую предрасположенность. Так, например, считается, что успешность спортсменов зависит от числа аллелей генов, ассоциированных с адаптационными возможностями сердечно-сосудистой и мышечной систем организма к продолжительным физическим нагрузкам. Чем больше таких аллелей-маркеров, тем выше шанс стать профессиональным спортсменом [14]. На сегодняшний день идентифицировано более 200 полиморфизмов генов, ассоциированных с особенностями физической активности. При этом, более 20 из данных полиморфных вариантов коррелируют с профессиональной спортивной успешностью и в будущем число таких полиморфизмов будет только расти [44].

Однако, существуют аллели, которые ограничивают двигательную деятельность человека. Например, это маркеры патологической адаптации ССС к длительной физической активности и маркеры посттравматических заболеваний головного мозга. Следствием носительства таких неблагоприятных аллелей является прекращение роста спортивных результатов и возможное формирование патологических состояний, например, гипертрофии левого желудочка [2]. Одним из неблагоприятных полиморфизмов, который влияет на сердечно-сосудистую систему, является исследуемый полиморфный вариант A1166C гена *AGT2R1*.

Согласно данным литературы, система РААС, активируемая физическими нагрузками, может спровоцировать гипертрофию миокарда путем увеличения синтетической функции фибробластов под действием ангиотензина II, что приводит к накоплению волокон коллагена и снижению податливости стенок сердца [13]. Описано, что гипертрофия миокарда у спортсменов является следствием повышенного артериального давления. Отмечается, что высокое АД

является фактором, способствующим увеличению риска фибрилляции предсердий у профессиональных спортсменов [32].

В ряде публикаций было исследовано состояние сердечно-сосудистой системы у спортсменов в соответствии с исследуемым полиморфизмом. Так, в большинстве работ была проанализирована ассоциация исследуемого полиморфного варианта с формированием гипертрофии миокарда.

В исследовании, в котором участвовали бегуны, велосипедисты и триатлонисты (n=74), у всех спортсменов, являющихся гомозиготами по мутантному аллелю С, была выявлена концентрическая гипертрофия левого желудочка. Отмечается, что данный генотип уменьшает благоприятное действие физических упражнений на ССС, стимулируя переход от физиологической гипертрофии к патологической, вместе со снижением податливости стенок сосудов [39].

Аналогичное исследование было проведено с участием футболистов (n=28); несмотря на то, что авторы не выявили взаимосвязь между аллелем С и гипертрофией левого желудочка, отмечается, что результаты не являются значимыми в связи с малым размером выборки [40].

Также проведено исследование молодых спортсменов, профессионально занимающихся различными дисциплинами плавания (n=139). Однако, носителей генотипа С/С среди исследуемых выявлено не было. Подчеркивается, что отсутствие лиц с генотипом С/С полиморфизма А1166С гена *AGT2R1* позволяет рассматривать его как противопоказание к продолжительным физическим нагрузкам [24].

Таким образом, лица, являющиеся носителями мутантного аллеля С, подвержены повышенному риску развития патологии сердечно-сосудистой системы. В исследованиях отмечается, что среди профессиональных спортсменов, гомозигот С/С очень малое число [24, 40]. Данный факт является подтверждением того, что мутантный аллель С является неблагоприятным маркером для успешности в профессиональном спорте.

## **Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

### **2.1. Материалы и объем исследования**

Данное исследование выполнено на базе кафедры медицинской биологии и генетики ФГБОУ ВО «Северного государственного медицинского университета», ГАУ АО «Спортивной школы олимпийского резерва «Поморье», а также Центральной научной исследовательской лаборатории (ЦНИЛ) ФГБОУ ВО «Северного государственного медицинского университета». Все участники исследования подписывали информированное согласие, утвержденное локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Северного государственного медицинского университета». Исследование проводилось с марта 2019 года по апрель 2021 года.

В данном исследовании принимали участие две исследуемые группы. Первая группа составила 187 человек (средний возраст – 18,6 лет; 95% ДИ 18,5-18,7). В данную группу включались юноши и девушки, которые не имеют постоянную физическую нагрузку (2-3 раза в неделю), в связи с тем, что систематические физические нагрузки способствуют повышению эндотелий-зависимой вазодилатации.

Также в исследовании принимали участие профессиональные спортсмены, которые являлись обучающимися в ГАУ АО «СШОР «Поморье». Вторая группа составила 101 человек (средний возраст – 18,1 лет; 95% ДИ 18,0-18,3). В данную группу включались только те лица, которые имели постоянные физические нагрузки (2-3 раза в неделю). Для группы профессиональных спортсменов среднее количество систематических физических нагрузок составило 6 раз в неделю.

Критериями включения для обеих групп являлись возраст 18-22 года и проживание на территории Европейского Севера с рождения. Критерии исключения: наличие хронических заболеваний внутренних органов, в том числе сердечно-сосудистой системы; наличие острых воспалительных заболеваний; ожирение; курение; прием лекарственных препаратов и БАД.



Материалом для лабораторного исследования являлись образцы венозной крови. Забор крови проводился утром, натощак, при температуре воздуха 22-24 градуса по Цельсию. Перед забором крови каждый из исследуемых отдыхал 15 минут. Для определения генотипов полиморфного варианта A1166C гена *AGT2R1* и уровня эндотелиальных факторов проводилось взятие крови из вен внутренней поверхности локтевого сустава. Забор крови проводился с использованием вакуумных систем Vacuette (Greiner Bio One, Австрия). В данном исследовании использовались пробирки, содержащие калиевую соль этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) в качестве антикоагулянта. После этого образцы центрифугировались в течение 15-ти минут при 1000 g. Далее плазма была отделена от эритроцитов и приготовлены аликвоты, которые хранились при температуре менее -20 градусов по Цельсию.

## **2.2. Методы исследования**

### **2.2.1 Проведение пробы с дозированной физической нагрузкой**

Все гемодинамические исследования проводились утром, натощак, при температуре воздуха 22-24 градуса по Цельсию. Перед проведением исследований каждый из участников отдыхал 15-20 минут.

Для оценки функционального состояния ССС могут быть использованы функциональные пробы с дозированной физической нагрузкой. В данном исследовании была проведена проба Мартине-Кушелевского. Она отражает способность ССС к восстановлению после нагрузки и отличается простотой и информативностью.

У каждого участника исследования перед началом проведения пробы Мартине-Кушелевского в положении сидя определяли исходный уровень систолического артериального давления (САД), диастолического артериального давления (ДАД) и частоты сердечных сокращений (ЧСС). Данные показатели были определены с помощью автоматического цифрового прибора для измерения давления и пульса МТ-40 производства «Meditech» (США). Изначально накладывали манжету тонометра на плечо и измеряли артериальное

давление (АД) и ЧСС. ЧСС подсчитывали по трем 10-ти секундным промежуткам времени, из которых выбиралось среднее значение. Потом, не снимая манжеты, исследуемый выполнял 20 приседаний за 30 секунд; руки должны были быть вытянуты вперед. После физической нагрузки исследуемый садился и на первых 10 секундах у него проводилось повторное измерение САД, ДАД и ЧСС. После этого на секундомере засекали 3 минуты («восстановительный период»), по истечении которых вновь проводили измерение показателей.

У каждого из исследуемых был определен тип реакции сердечно-сосудистой системы на нагрузку. Для определения типа реакции ССС учитывались следующие параметры:

- ✓ Возбудимость пульса – увеличение частоты пульса по отношению к начальному значению;
- ✓ Характер изменений артериального давления – систолического, диастолического и пульсового давления (ПД);
- ✓ Время восстановления показателей пульса и АД до начального уровня.

В данном исследовании было выявлено два типа реакции ССС на физическую нагрузку: гипертонический и нормотонический типы. Характеристика каждого из типов представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Типы реакций сердечно-сосудистой системы на дозированную физическую нагрузку

Тип реакции ССС	Показатели параметров	Характеристика данного типа реакции
Нормотонический тип	1) Ускорение частоты пульса на 60-80% (в среднем на 6-7 уд. за 10 сек.);	Нормотонический тип реакции свидетельствует об адекватном механизме приспособления организма к дозированной физической нагрузке.

Продолжение таблицы 1.

<p>Нормотонический тип</p>	<p>2) Умеренное повышение систолического АД до 15-30% (15-30 мм рт. ст.);</p> <p>3) Умеренное снижение диастолического АД на 10-15% (5-10 мм рт.ст.);</p> <p>4) Значительное повышение ПД на 80-100%;</p> <p>5) Время процесса восстановления у мужчин составляет до 2,5 минут, у женщин – до 3-х минут.</p>	
<p>Гипертонический тип</p>	<p>1) Значительное ускорение пульса – больше 100%;</p> <p>2) Значительное повышение АД систолического – до 180-200 мм рт. ст. и выше;</p> <p>3) Повышение АД диастолического – до 90 и выше мм рт. ст. Может быть тенденция к повышению;</p> <p>4) Повышение ПД;</p> <p>5) Период восстановления составляет более 3 минут.</p>	<p>Гипертонический тип реакции характеризуется неудовлетворительным механизмом адаптации на дозированную физическую нагрузку. Наблюдается у лиц со склонностью к гипертоническим состояниям (в том числе при скрытых формах гипертонии), при переутомлении и физическом перенапряжении у спортсменов.</p>

## 2.2.2 Гемодинамические показатели и факторы риска формирования АГ

Для того, чтобы оценить возможный риск формирования артериальной гипертензии были проанализированы соответствующие факторы:

- ✓ Дисбаланс эндотелиальных факторов;
- ✓ Высокий уровень пульсового давления (ПД) – более 60 мм рт.ст. ПД было вычислено по формуле (1):

$$\text{ПД} = \text{САД} - \text{ДАД} \quad (1)$$

- ✓ Нестабильность среднединамического давления (изменение СДД после физической нагрузки более чем на 15%). Показатель СДД был найден по формуле (2):

$$\text{СДД} = \text{ДАД} + \text{ПД} * 0,42 \quad (2)$$

- ✓ Увеличение адаптационного потенциала (АП) более 2,1 в покое (напряжение адаптации). АП для каждого исследуемого был определен по формуле (3) (Р.М. Баевского [21]):

$$\text{АП} = \text{ЧСС} * 0,011 + \text{САД} * 0,014 + \text{ДАД} * 0,008 + \text{Возраст} * 0,014 + \\ + \text{Масса тела} * 0,009 - \text{Рост} * 0,009 - 0,27 \quad (3)$$

В случае, если АП составил менее 2, то это свидетельствовало о хорошем уровне адаптации сердечно-сосудистой системы к физическим нагрузкам. Значение между 2 и 2,1 оценивали как удовлетворительную адаптацию. В случае, если данный показатель был более 2,1 и менее 4, это свидетельствовало о напряжении адаптации. Уровень более 4 свидетельствовал о срыве адаптации и снижении функциональных возможностей сердечно-сосудистой системы.

## 2.2.3 Лабораторные исследования

### 2.2.3.1 Определение уровня оксида азота

Для определения уровня оксида азота использовался набор группы компаний БиоХимМак «Total NO/Nitrite/Nitrate Assay» (Набор для количественного определения окиси азота в культуральной среде, сыворотке, плазме и моче).

Оксид азота – основной вазодилататор, продуцируемый эндотелием. Он является газообразным свободным радикалом с коротким временем полужизни *in vivo*, поэтому для определения используются более стабильные NO-метаболиты: нитриты (NO<sub>2</sub>-) и нитраты (NO<sub>3</sub>-). Для определения уровня NO была использована плазма крови.

В используемом тесте определялось общее количество оксида азота. Он основан на ферментном превращении нитрата в нитрит с участием фермента нитрат-редуктазы: реакция регистрировала колориметрически концентрацию нитрита по азо-красителю, который образовывался в реакции Грисса. Реакция Грисса основана на 2-стадийной реакции диазотирования, в которой кислый нитрит производил нитрозатирующий агент, реагировавший с сульфаниловой кислотой с образованием иона диазония. Этот ион присоединялся к N-(1-нафтил)этилендиамину с формированием цветного азо-производного, которое поглощало свет на длине волны 540-570 нм.

Первично необходимо было приготовить все реагенты, рабочие разведения стандарта и образцы. После этого извлекали необходимое число стрипов и помещали их в рамку. Далее в ячейки для Бланка добавляли по 50 мкл Реакционного Разбавителя (который необходимо разбавить в 10 раз) и по 50 мкл Стандарта нитрата или образца в оставшиеся ячейки и по 25 мкл NADH во все ячейки. После этого вносили во все ячейки по 25 мкл разбавленной нитрат-редуктазы. Перемешивали, осторожно постукивая по боковой стороне рамки, и закрывали стрипы клейкой плёнкой. Инкубировали 30 минут при 37°C. После этого добавляли по 50 мкл Реактива Грисса I и по 50 мкл Реактива Грисса II во все ячейки. Перемешивали, постукивая по боковой стороне рамки. Инкубировали 10 минут при комнатной температуре. Определяли оптическую плотность ячеек при 540 нм (референс-фильтр 690 нм).

Далее рассчитывали среднее значение оптической плотности (ОП) для каждого стандарта и образца, вычитая значение оптической плотности Бланка. После этого строили стандартную 4-параметрическую кривую, где ось У

показывала средние значения ОП стандартов, а ось X – соответствующие концентрации стандартов.

Для данного теста чувствительность составила 0,25 мкмоль/л. Диапазон измерения уровня оксида азота составил 10-92 мкмоль/л.

### **2.2.3.2 Определение уровня эндотелина-1**

Для определения уровня эндотелина-1 был использован набор группы компаний БиоХимМак «Quantikine ELISA Endothelin-1 Immunoassay Эндотелин-1» (Иммуноферментный набор для количественного определения эндотелина-1 в супернатантах клеточных культур, сыворотке, плазме и моче).

Эндотелин-1 (ЭТ-1) – это пептид, состоящий из 21 аминокислотного остатка, представляющий собой плеiotропную молекулу, наиболее известную своим вазоконстрикторным действием. Для определения уровня эндотелина-1 была использована плазма крови.

Тест основан на методе количественного твердофазного иммуноферментного анализа типа «сэндвич»; лунки микропланшета покрыты специфическими моноклональными антителами к эндотелину-1. В ходе реакции в лунки микропланшета вносили стандарты и образцы. ЭТ-1, присутствующий в образце, связывался с иммобилизованными антителами. После промывки несвязавшиеся компоненты удалялись, и в лунки вносили моноклональные антитела к эндотелину-1, конъюгированные с ферментом. После второй промывки и удаления несвязавшегося конъюгата фермент-антитела добавлялся субстратный раствор, который взаимодействовал с ферментом с образованием цветного комплекса. При этом, интенсивность окрашивания раствора была прямо пропорциональна концентрации ЭТ-1, присутствовавшего в образце. Цветная реакция останавливалась стоп-раствором и интенсивность окрашивания измерялась на микропланшетном фотометре.

Перед использованием все реагенты и образцы должны достичь комнатной температуры (18-25 градусов по Цельсию). Первично необходимо было приготовить все реагенты, рабочие разведения стандарта и образцы. Далее

доставали требуемое число стрипов и помещали их в держатель. Вносили по 150 мкл Рабочего буфера RD1-105 во все лунки и по 75 мкл каждого стандарта, контроля или образца в соответствующие лунки. Далее закрывали стрипы адгезивной плёнкой. Инкубировали 1 час при комнатной температуре на горизонтальном орбитальном микропланшетном шейкере, установленном на  $500 \pm 50$  rpm (0.12"). После этого полностью удаляли содержимое лунок. Промывали лунки 3 раза, используя по 400 мкл буфера для промывок на каждую лунку на один цикл промывки. После последнего цикла промывки необходимо было удалить остатки буфера для промывок и постучать перевернутым микропланшетом по чистой фильтровальной бумаге. Затем вносили по 200 мкл эндотелин-1 конъюгата в каждую лунку и закрывали стрипы новой адгезивной пленкой. Инкубировали 3 часа при комнатной температуре на шейкере. После инкубации повторяли троекратную промывку. Затем вносили по 200 мкл Субстратного раствора во все лунки и инкубировали 30 минут при комнатной температуре на столе, защищая микропланшет от воздействия света. Затем вносили по 50 мкл стоп-раствора во все лунки. Цвет раствора в лунках изменялся с голубого на жёлтый. Измеряли оптическую плотность в лунках не позднее чем через 30 минут, при 450 нм.

Далее рассчитывали среднее значение оптической плотности (ОП) для каждого стандарта, контроля и образца, и вычитали значение оптической плотности нулевого стандарта. После этого строили стандартную 4-параметрическую кривую, где на оси У отмечали точки рассчитанных средних значений ОП стандартов, а на оси Х – соответствующие концентрации стандартов.

Чувствительность для данного теста составила 0,02 фмоль/мл. Диапазон измерения уровня эндотелина-1 составил 0-10 фмоль/мл.

Также в данном исследовании был рассчитан индекс соотношения вазодилататор NO/ вазоконстриктор ЭТ-1, который позволил провести оценку баланса продукции вазоактивных эндотелиальных факторов.

### 2.2.3.3 Определение уровня ангиотензина II

Для определения уровня ангиотензина II в данной работе был использован набор группы компаний БиоХимМак «AssayMax Human Angiotensin II ELISA Kit» (Иммуноферментный набор для количественного определения человеческого ангиотензина II в образцах плазмы, сыворотки крови и супернатантах клеточных культур).

Ангиотензин II – основной эффекторный пептид системы РААС; он действует как ангиогенный фактор через рецептор первого типа ангиотензина II. Для определения уровня ангиотензина II была использована плазма крови.

Данный набор основан на методе иммуноферментного анализа типа «сэндвич». В лунках микропланшета, со съёмными стрипами, сорбированы поликлональные антитела, специфичные к ангиотензину II. В ходе реакции ангиотензин II связывался с иммобилизованными антителами и биотинилированными поликлональными антителами. Биотинилированные поликлональные антитела связывались с конъюгатом (стрептавидин-пероксидаза). После этого, все несвязавшиеся компоненты удаляли при промывке. Далее в лунки вносили ферментный субстрат. Развитие окрашивания останавливали, а затем измеряли интенсивность полученного окрашивания.

Перед использованием все реагенты и образцы должны были достичь комнатной температуры (18-25°). Далее доставали требуемое число стрипов и помещали их в держатель. Вносили по 50 мкл стандартов или образцов в соответствующие лунки, закрывали лунки адгезивной плёнкой. Инкубировали 2 часа; время необходимо было засечь после внесения последнего образца. После этого промывали лунки 5 раз, используя по 200 мкл буфера для промывок на каждую лунку на один цикл промывки; на каждом этапе переворачивали микропланшет, сливали жидкость из лунок, стучали 4-5 раз по фильтровальной бумаге. Затем вносили по 50 мкл биотинилированных антител к ангиотензину II в каждую лунку и инкубировали 2 часа. После повторяли промывку, промывая лунки планшета 5 раз и используя по 200 мкл буфера для промывок. Далее вносили по 50 мкл конъюгата стрептавидин-пероксидазы хрена во все лунки и



инкубировали 30 минут. В это время включали микропланшетный ридер и запускали программу. После инкубации вносили по 50 мкл хромогенного субстрата во все лунки, инкубировали 20 минут или до развития оптимального окрашивания. Для тщательного перемешивания аккуратно постукивали по краю микропланшета и удаляли пузырьки воздуха с помощью наконечника для пипетки. Затем вносили по 50 мкл стоп-реагента во все лунки. Цвет в лунках должен был измениться с голубого на жёлтый. После этого немедленно определяли оптическую плотность при 450 нм, так как в течение 10 минут после внесения стоп-реагента могло произойти образование нестабильных черных частиц в реакционной смеси, что могло привести к уменьшению значений оптической плотности.

Далее рассчитывали среднее значение оптической плотности (ОП) для каждого дубля (триплетов) стандартов и образцов. После этого строили стандартную 4-параметрическую кривую, где на оси Y отмечали точки рассчитанных средних значений ОП для каждого стандарта, а на оси X – соответствующие значения концентраций стандартов.

Чувствительность для данного теста составила 0,06 нг/мл.

#### **2.2.3.4 Молекулярно-генетические исследования**

Для проведения молекулярно-генетического метода использовался набор компании НПФ «Литех» «Комплект реагентов для АС-ПЦР выявления полиморфизма A1166C в гене AGT2R1 «SNP-ЭКСПРЕСС-КАРДИОГЕНЕТИКА».

Данный набор используется для выявления полиморфизмов в геноме человека. Анализу подвергалось ДНК, которую выделяли при помощи набора реагентов «ДНК-экспресс-кровь» из лейкоцитов цельной крови. С образцом полученной ДНК параллельно проводили две реакции амплификации с двумя парами аллель-специфичных праймеров с присутствием красителя SYBR Green, флуоресценция которого увеличивалась при встраивании в образующийся двуцепочечный продукт. Результаты анализа позволили дать три типа

заклучений: гомозигота по Аллелю 1, гетерозигота, гомозигота по Аллелю 2. При этом, Аллель 1 – аллель, указанный до позиции инсерции/замены/делеции, а Аллель 2 – после.

#### **2.2.3.4.1 Выделение ДНК**

В пробирку типа «Эппендорф» с замком вносили 1000 мкл цельной крови, которую предварительно перемешивали до однородности. Закрывали и центрифугировали (скорость: 3000 об/мин) при комнатной температуре в течение 5 минут. Кровь разделялась на две составляющие: плазму и форменные элементы. На поверхности осадка, состоящего из форменных элементов, был расположен слой лейкоцитов. Необходимо было аккуратно удалить плазму пипеткой, не захватив при этом данный слой. После пробирку закрывали и выдерживали при –20 градусах по Цельсию до полного замораживания форменных элементов. Затем полностью размораживали содержимое при комнатной температуре и вносили реактив «ДНК-экспресс-кровь»; объем реактива был равен объему плазмы и форменных элементов. Закрывали пробирку и защелкивали замок. Перемешивали содержимое пробирки на вортексе в течение 10 секунд, осаждали капли на микроцентрифуге. Далее устанавливали пробирку в предварительно прогретый термостат (до 99 °С) и выдерживали в течение 25 минут. Затем ставили пробирку в высокоскоростную микроцентрифугу замком в сторону оси и центрифугировали (скорость: 8000-14000 об/мин) в течение 1 минуты при комнатной температуре. Полученный супернатант использовали в качестве исследуемого образца ДНК.

#### **2.2.3.4.2 Проведение ПЦР-анализа**

Изначально необходимо было приготовить и расставить в указанном протоколе измерений порядке бесцветные пробирки с оптическими крышками вместимостью 0,2 мл для проведения амплификации, включая пробирки для положительного и отрицательного контрольных образцов. Для каждой пробы использовали по две пробирки (Аллель 1 и Аллель 2), которые должны были

соответствовать рекомендациям производителя прибора; маркировка пробирок была недопустима. При проведении амплификации для внесения всех продуктов использовали наконечники с аэрозольным барьером.

До приготовления рабочей амплификационной смеси (примерно за 20 минут) извлекали комплект реагентов для ПЦР и размораживали содержимое. Тщательно встряхивали пробирки с реакционной смесью и замороженным раствором разбавителя. Пробирку с красителем SYBR Green сначала центрифугировали, чтобы сбросить капли с крышки на дно, затем встряхивали, перемешивая содержимое, а затем снова центрифугировали (на микроцентрифуге-вортекс). Далее готовили рабочие смеси реагентов для амплификации; приготовление осуществлялось исходя из расчета: на 1 пробу требовалось 17,5 мкл разбавителя, 2,5 мкл реакционной смеси, 0,2 мкл красителя SYBR Green, а также 0,2 мкл Taq-полимеразы. Затем готовили две рабочие смеси: с реакционными смесями «Аллель 1» и «Аллель 2». Если объем был меньше 200 мкл, то смеси перемешивались пипетированием. Если объем был больше 200 мкл, то в таком случае использовали импульсное вортексирование (15-20 раз). Далее добавляли по 20 мкл рабочей амплификационной смеси в пробирки для амплификации и вносили по 5 мкл образца из обработанной анализируемой пробы в пробирку с рабочей амплификационной смесью «Аллель 1», аналогичную процедуру выполняли для пробирки «Аллель 2». В качестве отрицательного контроля использовали разбавитель. Положительный контрольный образец ДНК, в качестве положительного контроля, вносили по 5 мкл в оба типа реакционной смеси. Пробирки закрывали и центрифугировали в течение 3-5 секунд при 2250-4000 g (скорость: 1500–3000 об/мин) на микроцентрифуге-вортексе при комнатной температуре. Запуск эксперимента осуществляли на приборе Light Cycler 96. Изначально устанавливали пробирки в прибор в соответствии с протоколом и программировали эксперимент на ПО для анализа результатов. После этого переносили программу амплификации на прибор Light Cycler 96 и запускали эксперимент нажатием на кнопку «Start».

Детекцию продуктов амплификации осуществляли на приборе Light Cycler 96. Для этого выбирали вкладку «Dye», чтобы просмотреть кривые флуоресценции, отложенные на графике против продолжительности постановки. Каждая кривая соответствовала одному образцу, содержащему генетическую мишень, меченную выбранным красителем. После окончания эксперимента первичные данные, полученные прибором Light Cycler 96, необходимо было перенести на ПО для анализа результатов.

#### **2.2.4 Статистическая обработка результатов**

Статистическая обработка полученных данных была выполнена с использованием пакета прикладных программ «SPSS statistics» (StatSoft, USA), а также онлайн-счетчика «Медицинская статистика» (<https://medstatistic.ru/index.php>). Все полученные показатели были проанализированы на нормальность распределения с использованием критериев Шапиро-Уилка и Колмогорова-Смирнова. В данном исследовании было получено ненормальное распределение данных, в связи с этим результаты были представлены в виде медианы (Me), а также первого и третьего квартилей (Q1 и Q3 соответственно).

Распределение генотипов было проанализировано с использованием критерия хи-квадрат Пирсона ( $\chi^2$ ) для оценки соответствия наблюдаемого распределения генотипов ожидаемому исходя из равновесия Харди-Вайнберга. Попарное сравнение групп проводилось с помощью критерия Манна-Уитни, при этом критическое значение уровня значимости  $p$  составляло 5%, т.е. при  $p < 0,05$  нулевая гипотеза отклонялась.

В данной исследовательской работе результаты анализа факторов риска были представлены с использованием относительного риска (ОР), 95% доверительного интервала (95% ДИ), критерия  $\chi^2$  и уровня значимости  $p$ ; критический уровень значимости составлял  $p < 0,05$ .

## Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### 3.1. Распределение генотипов полиморфизма A1166C гена *AGT2R1*

У каждого участника исследования были определены аллели и генотипы изучаемого полиморфизма A1166C гена рецептора ангиотензина I.

Для группы людей, не занимающихся спортом, гомозиготы A/A полиморфного варианта A1166C гена *AGT2R1* составили 65% среди всей группы. Также было выявлено, что 29% исследуемых имели генотип A/C, и только 6% являлись гомозиготами C/C. По изучаемому полиморфизму среди всех исследуемых группы профессиональных спортсменов гомозиготы A/A составили 54%. В исследовании было выявлено, что 43% профессиональных спортсменов имели генотип A/C. Также было определено, что гомозиготами C/C по изучаемому полиморфизму A1166C гена *AGT2R1* являлись лишь 3% среди всей исследуемой группы.

Распространенность генотипов полиморфизма A1166C гена *AGT2R1* в исследуемых группах профессиональных спортсменов и людей, не занимающихся спортом, представлена на рисунке 1.

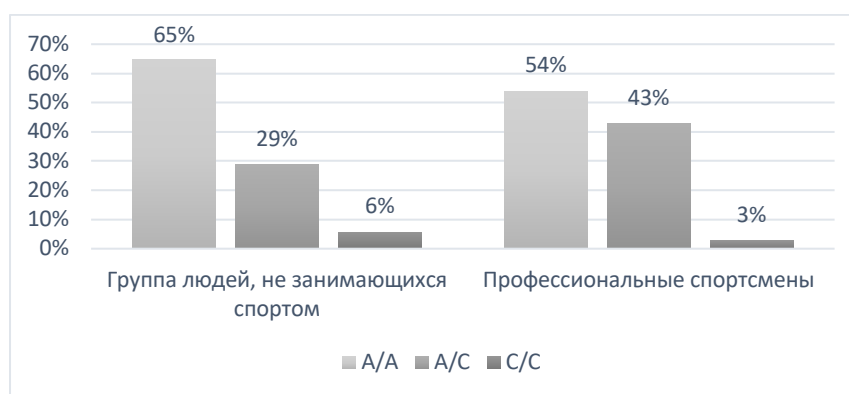


Рисунок 1 – Распространенность генотипов полиморфизма A1166C гена *AGT2R1* в исследуемых группах профессиональных спортсменов и лиц, не занимающихся спортом, %

Распределение генотипов в исследуемых группах профессиональных спортсменов и лиц, не занимающихся спортом, соответствовало закону Харди-Вайнберга и представлено в таблице 2.

Таблица 2 – Распределение генотипов полиморфизма A1166C гена *AGT2R1* в группе лиц, не занимающихся спортом, и в группе профессиональных спортсменов

Генотип	Исследуемая группа лиц, не занимающихся спортом				Исследуемая группа профессиональных спортсменов			
	N.O.	N.E.	$\chi^2$	<i>p</i>	N.O.	N.E.	$\chi^2$	<i>p</i>
Генотип А/А	0,652	0,636	5,991	0,662	0,545	0,574	5,991	0,453
Генотип А/С	0,289	0,321			0,426	0,367		
Генотип С/С	0,059	0,043			0,029	0,059		

Примечание – Критерий  $\chi^2$  использован для оценки соответствия наблюдаемого распределения генотипов (N.O.) ожидаемому (N.E.) исходя из равновесия Харди-Вайнберга.

Для оценки распространенности исследуемого полиморфизма A1166C гена *AGT2R1* в разных популяциях были использованы база ALFRED и база NCBI. При анализе базы ALFRED было выявлено, что встречаемость мутантного аллеля С максимальна в европейских популяциях (смешанные группы, испанцы и французы) и составляет 0,299-0,350. База NCBI позволила уточнить полученные данные: частота встречаемости аллеля С для британцев, проживающих в Великобритании и Шотландии, составила 0,3132. Для испанцев данный показатель составил 0,3084. При этом, описанные показатели являлись максимальными среди всех популяций, представленных в данной базе. В популяциях Южной и Северной Америки (кечуа, майя) частота выявления мутантного аллеля С составила по базе ALFRED 0,240-0,320. По базе NCBI также были представлены данные для колумбийской популяции – частота составила 0,2074 и для перуанской популяции – 0,2647. Частота встречаемости мутантного аллеля С в базе ALFRED для азиатской популяции (китайцы, непальцы) составила 0,048-0,060. В базе NCBI также были приведены частоты

распространенности мутантного аллеля С среди японцев – 0,0625 и среди вьетнамцев – 0,0505.

Встречаемость частот гетерозигот А/С по исследуемому полиморфизму была представлена в базе ALFRED. Так, в европейских популяциях (смешанные группы, испанцы и французы) частота встречаемости гетерозигот А/С составляет 0,410-0,460. Для азиатской популяции данный показатель находился в пределах 0,090-0,110. В популяциях Северной и Южной Америки частота встречаемости гетерозигот А/С составила 0,360-0,440. Анализ частот мутантного аллеля С и гетерозигот А/С по исследуемому полиморфизму в русских популяциях по базе ALFRED и по базе NCBI не представлен. Это связано с малым количеством публикаций, анализирующих распространенность полиморфизма А1166С гена *AGT2R1* в данных популяциях.

В данном исследовании для группы лиц, не занимающихся спортом, частота мутантного аллеля С полиморфизма А1166С гена *AGT2R1* составила 0,291, а для аллеля А данный показатель составил 0,709. При этом, для группы профессиональных спортсменов получено, что частота встречаемости мутантного аллеля С составила 0,243, а аллеля А – 0,757. Частоты мутантных аллелей С в исследуемых группах были ниже, чем частоты, описанные для европейских популяций (смешанные группы, французы, испанцы, британцы). Вероятно, более высокая частота патологического аллеля С может рассматриваться как «цена адаптации» к дискомфортным условиям проживания в условиях Европейского Севера.

### **3.2 Уровень вазоактивных эндотелиальных факторов у лиц, не занимающихся спортом, и у профессиональных спортсменов, с различными генотипами по полиморфизму А1166С гена *AGT2R1***

В данной работе были определены уровни эндотелиальных вазоактивных факторов. К данным факторам относят: уровень эндотелина-1, оксид азота, а также ангиотензин II. Также было рассчитано отношение NO/ЭТ-1. В таблице 3 представлены показатели, отражающие уровень эндотелиальных факторов у

лиц, не занимающихся спортом, с различными генотипами по исследуемому полиморфизму.

Таблица 3 – Эндотелиальные факторы у группы лиц, не занимающихся спортом, с различными генотипами по полиморфизму

A1166C гена *AGT2R1*, Me (Q1;Q3)

Показатели	Генотип А/А	Генотип А/С	Генотип С/С	Значимость различий (p)
NO ммоль/л	18,75 (16,23; 22,62)	15,75 (10,83; 24,95)	14,26 (13,46; 14,26)	(1-2) 0,265 (1-3) 0,211 (2-3) 0,202
ЭТ-1 фмоль/мл	0,42 (0,26; 0,76)	0,45 (0,27; 1,07)	0,87 (0,24; 0,97)	(1-2) 0,663 <b>(1-3) 0,012</b> (2-3) 0,076
АТ II пг/мл	67,05 (58,50; 74,88)	67,65 (61,40; 78,40)	68,60 (52,60; 77,20)	(1-2) 0,608 (1-3) 0,972 (2-3) 0,812
NO/ЭТ-1	49,13 (22,53; 68,81)	53,85 (15,65; 82,21)	15,46 (10,36; 16,15)	(1-2) 0,820 <b>(1-3) 0,045</b> (2-3) 0,094

Для данной группы концентрация эндотелина-1 была статистически значимо выше у лиц с генотипом С/С по сравнению с исследуемыми с генотипом А/А по исследуемому полиморфному варианту А1166С гена *AGT2R1* (p=0,012). Уровень вазоконстриктора эндотелина-1 у лиц, не занимающихся спортом, с различными генотипами по полиморфизму А1166С гена *AGT2R1* представлен на рисунке 2, где «\*» обозначены статистически значимые различия между генотипами А/А и С/С.



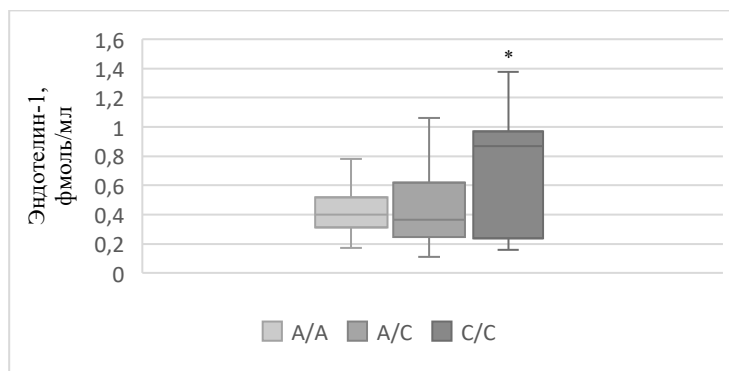


Рисунок 2 – Уровень эндотелина-1 у лиц, не занимающихся спортом, с различными генотипами по полиморфизму A1166C гена *AGT2R1*, фмоль/мл

Индекс NO/ЭТ-1 также статистически значимо отличается для групп с генотипами A/A и C/C ( $p=0,045$ ). Для гомозигот A/A и гетерозигот A/C отношение вазодилататор NO/вазоконстриктор ЭТ-1 в три раза больше, чем для гомозигот C/C. Полученные данные представлены на рисунке 3, где «\*» обозначены статистически значимые различия между генотипами A/A и C/C.

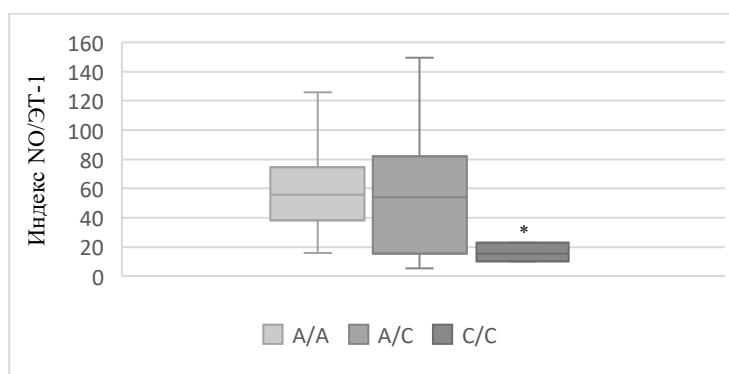


Рисунок 3 – Индекс NO/ЭТ-1 у лиц, не занимающихся спортом, с различными генотипами по полиморфизму A1166C гена *AGT2R1*

Таким образом, в группе лиц, не занимающихся спортом, генотип C/C полиморфизма A1166C гена *AGT2R1* ассоциирован с дисбалансом эндотелина-1 и отношения NO/ЭТ-1 в сторону периферической вазоконстрикции.

Уровень вазоактивных эндотелиальных факторов и отношение NO/ЭТ-1 также были определены в группе профессиональных спортсменов. Данные показатели для группы профессиональных спортсменов с различными генотипами по исследуемому полиморфизму отражены в таблице 4.

Таблица 4 – Эндотелиальные факторы у профессиональных спортсменов с различными генотипами по полиморфизму A1166C гена *AGT2R1*, Me (Q1;Q3)

Показатели	Генотип А/А	Генотип А/С	Генотип С/С	Значимость различий (p)
NO ммоль/л	24,89 (17,81; 26,67)	25,33 (20,29; 27,11)	24,83 (24,39; 24,83)	(1-2) 0,302 (1-3) 0,978 (2-3) 0,741
ЭТ-1 фмоль/мл	0,39 (0,34; 0,50)	0,38 (0,32; 0,46)	0,37 (0,33; 0,39)	(1-2) 0,353 (1-3) 0,483 (2-3) 0,733
АТ II пг/мл	62,75 (60,00; 65,00)	58,25 (55,00; 65,63)	65,00 -	(1-2) 0,086 (1-3) 0,810 (2-3) 0,667
NO/ЭТ-1	57,74 (41,59; 70,95)	61,24 (47,71; 82,26)	71,29 (66,92; 71,29)	(1-2) 0,278 (1-3) 0,383 (2-3) 0,518

Для группы профессиональных спортсменов было выявлено, что уровни NO, эндотелина-1, индекса NO/ЭТ-1 и ангиотензина II для гомозигот по мутантному аллелю С статистически значимо не отличаются от таковых для гетерозигот А/С и гомозигот А/А по исследуемому полиморфизму.

### **3.3. Гемодинамические показатели у лиц, не занимающихся спортом, и у профессиональных спортсменов, с различными генотипами по полиморфизму A1166C гена *AGT2R1***

#### **3.3.1 Гемодинамические показатели у лиц, не занимающихся спортом, с различными генотипами по полиморфизму A1166C гена *AGT2R1***

Для каждой исследуемой группы был проведен анализ гемодинамических показателей в покое и после пробы с дозированной физической нагрузкой. В

таблице 5 представлены показатели, отражающие состояние сердечно-сосудистой системы для группы лиц, не занимающихся спортом, с различными генотипами по исследуемому полиморфизму.

Таблица 5 – Гемодинамические показатели в покое у группы людей, не занимающихся спортом, с различными генотипами по полиморфизму

A1166C гена *AGT2R1*, Me (Q1;Q3)

Показатели	Генотип А/А	Генотип А/С	Генотип С/С	Значимость различий (p)
САД мм рт.ст.	120,00 (110,00; 130,00)	118,50 (110,75; 126,00)	133,00 (126,00; 140,00)	(1-2) 0,369 (1-3) 0,057 <b>(2-3) 0,010</b>
ДАД мм рт.ст.	74,50 (69,00; 80,00)	74,00 (67,00; 84,00)	91,00 (88,00; 93,00)	(1-2) 0,877 <b>(1-3) &lt;0,001</b> <b>(2-3) &lt;0,001</b>
ПД мм рт.ст.	45,00 (37,00; 54,00)	43,50 (34,75; 51,00)	45,00 (41,00; 49,50)	(1-2) 0,154 (1-3) 0,920 (2-3) 0,632
ЧСС уд/мин	74,50 (67,00; 80,00)	75,50 (66,00; 83,00)	88,00 (79,00; 98,00)	(1-2) 0,641 <b>(1-3) 0,001</b> <b>(2-3) 0,002</b>
СДД мм рт.ст	92,68 (87,35; 102,09)	93,55 (86,87; 100,30)	107,06 (105,7; 111,90)	(1-2) 0,678 <b>(1-3) &lt;0,001</b> <b>(2-3) &lt;0,001</b>
АП	2,15 (1,92; 2,43)	2,14 (1,97; 2,40)	2,50 (2,07; 2,67)	(1-2) 0,835 <b>(1-3) 0,02</b> <b>(2-3) 0,021</b>

Выявлены статистически значимые различия гемодинамических показателей в зависимости от генотипа. Для гомозигот по мутантному аллелю С характерны показатели САД выше 120 мм рт.ст. При этом, уровень САД

статистически значимо отличается от гетерозигот А/С ( $p=0,010$ ). Для гомозигот С/С и гетерозигот А/С по изучаемому полиморфизму уровень ДАД статистически значимо выше, чем для гомозигот А/А по исследуемому полиморфизму ( $p<0,001$  и  $p<0,001$  соответственно). Полученные результаты отображены на рисунке 4, где «\*» обозначены статистически значимые различия между генотипами А/С и С/С для САД, а также А/А и С/С, А/С и С/С для ДАД.

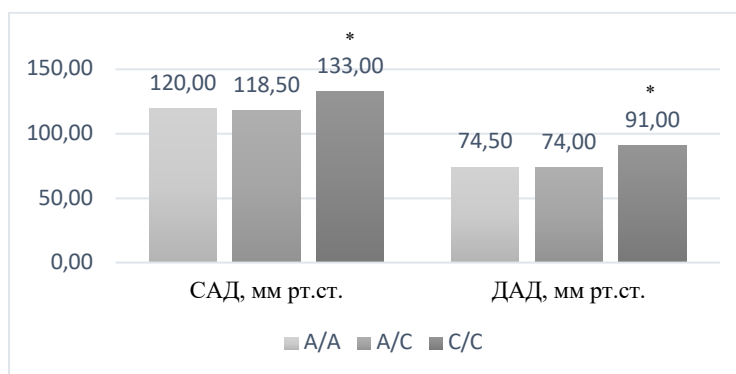


Рисунок 4 – Систолическое и диастолическое артериальное давление в покое у лиц, не занимающихся спортом, с различными генотипами по полиморфизму А1166С гена *AGT2R1*, мм рт.ст.

Показатель ЧСС статистически значимо выше для гомозигот по мутантному аллелю С, чем для гетерозигот А/С ( $p=0,002$ ) и гомозигот по дикому аллелю А ( $p=0,001$ ). Данные представлены на рисунке 5, где «\*» обозначены статистически значимые различия между генотипами А/А и С/С, А/С и С/С.

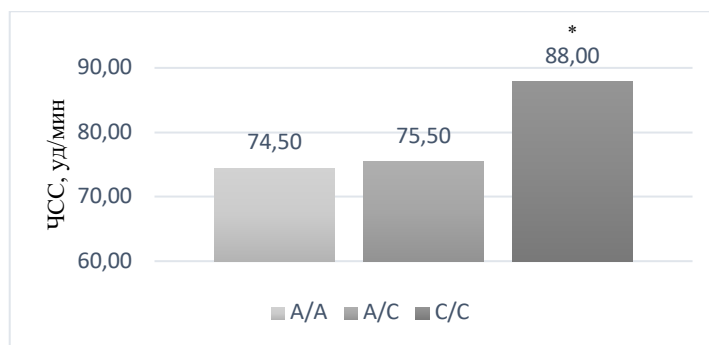


Рисунок 5 – Частота сердечных сокращений в покое у лиц, не занимающихся спортом, с различными генотипами по полиморфизму А1166С гена *AGT2R1*, уд/мин

СДД выше у носителей генотипа С/С, чем у гетерозигот А/С и гомозигот А/А, что подтверждается статистически ( $p < 0,001$  и  $p < 0,001$  соответственно). Полученные данные представлены на рисунке 6, где «\*» обозначены статистически значимые различия между генотипами А/А и С/С, А/С и С/С.

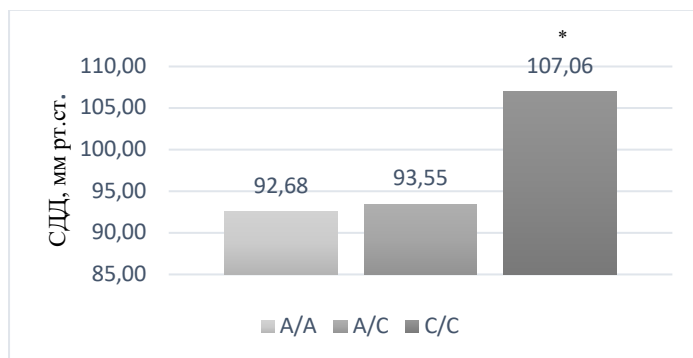


Рисунок 6 – Среднединамическое давление в покое у лиц, не занимающихся спортом, с различными генотипами по полиморфизму A1166C гена *AGT2R1*, мм рт.ст.

Для всех лиц, независимо от генотипа, отмечается напряжение адаптации, т.е. АП больше 2,1. Однако при этом данный показатель статистически значимо выше в группе лиц, являющихся гомозиготами по мутантному аллелю С по исследуемому полиморфизму ( $p = 0,021$ ), чем для гетерозигот А/С и гомозигот по дикому аллелю А ( $p = 0,021$  и  $p = 0,020$  соответственно). Полученные результаты отображены на рисунке 7, где «\*» обозначены статистически значимые различия между генотипами А/А и С/С, А/С и С/С.

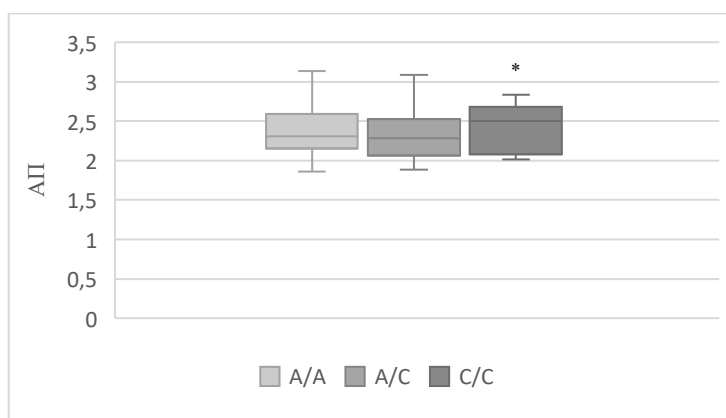


Рисунок 7 – Адаптационный потенциал в покое у лиц, не занимающихся спортом, с различными генотипами по полиморфизму A1166C гена *AGT2R1*

Анализ гемодинамических показателей в группе лиц, не занимающихся спортом, после дозированной физической нагрузки с различными генотипами по исследуемому полиморфизму приведен в таблице 6.

Таблица 6 – Гемодинамические показатели после дозированной физической нагрузки для лиц, не занимающихся спортом, с различными генотипами по полиморфизму A1166C гена *AGT2R1*, Me (Q1;Q3)

Показатели	Генотип А/А	Генотип А/С	Генотип С/С	Значимость различий (p)
САД мм рт.ст.	133,50 (118,00; 156,00)	135,00 (113,50; 150,00)	148,00 (140,00; 168,00)	(1-2) 0,525 (1-3) 0,050 <b>(2-3) 0,021</b>
ДАД мм рт.ст.	75,00 (65,75; 86,25)	75,00 (65,00; 83,50)	97,00 (81,00; 99,00)	(1-2) 0,535 <b>(1-3) 0,001</b> <b>(2-3) &lt;0,001</b>
ПД мм рт.ст	58,00 (47,00; 75,50)	59,00 (44,00; 73,00)	56,00 (45,00; 81,00)	(1-2) 0,434 (1-3) 0,717 (2-3) 0,948
ЧСС уд/мин	101,00 (90,75; 120,00)	106,00 (92,00; 116,00)	116,00 (106,00; 142,00)	(1-2) 0,566 <b>(1-3) 0,006</b> <b>(2-3) 0,027</b>
СДД мм рт.ст.	100,75 (90,21; 114,97)	98,88 (86,95; 108,67)	117,90 (111,60; 122,52)	(1-2) 0,452 <b>(1-3) 0,004</b> <b>(2-3) &lt;0,001</b>
АП	2,63 (2,37; 3,08)	2,58 (2,36; 3,02)	3,19 (2,82; 3,55)	(1-2) 0,983 <b>(1-3) 0,003</b> <b>(2-3) 0,003</b>

Для лиц, не занимающихся спортом, после проведения пробы с дозированной физической нагрузкой было выявлено, что показатели САД и ДАД статистически значимо выше в группе гомозигот по мутантному аллелю С по

сравнению с гетерозиготами А/С ( $p=0,021$  и  $p<0,001$  соответственно), и гомозиготами А/А ( $p=0,001$ ) для показателя ДАД. Полученные данные представлены на рисунке 8, где «\*» обозначены статистически значимые различия между генотипами А/С и С/С для САД, а также А/А и С/С, А/С и С/С для ДАД.

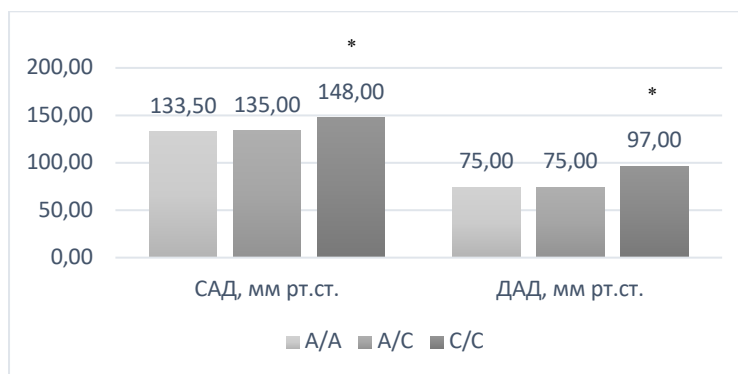


Рисунок 8 – Систолическое и диастолическое артериальное давление после дозированной физической нагрузки у лиц, не занимающихся спортом, с различными генотипами по полиморфизму А1166С гена *AGT2R1*, мм рт.ст.

Для людей, являющихся гомозиготами по патологическому аллелю С, также отмечаются более высокие показатели ЧСС и СДД, что подтверждается статистически и показано на рисунках 9 и 10, где «\*» обозначены статистически значимые различия между генотипами А/А и С/С, А/С и С/С для ЧСС, а также А/А и С/С, А/С и С/С.

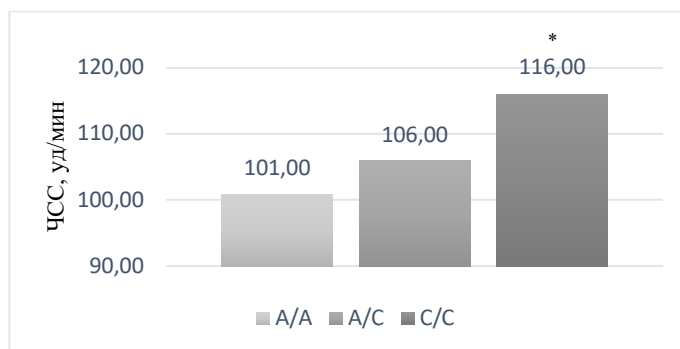


Рисунок 9 – Частота сердечных сокращений после дозированной физической нагрузки у лиц, не занимающихся спортом, с различными генотипами по полиморфизму А1166С гена *AGT2R1*, уд/мин

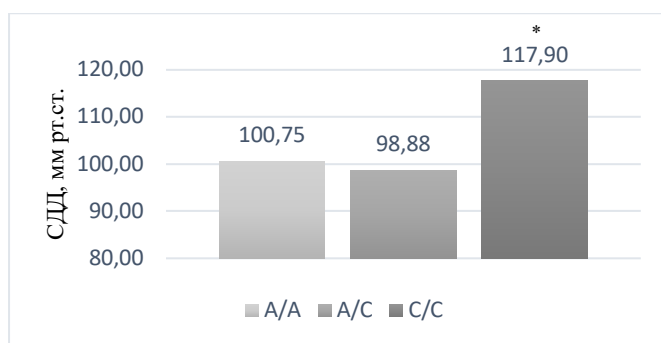


Рисунок 10 – Среднединамическое давление после дозированной физической нагрузки у лиц, не занимающихся спортом, с различными генотипами по полиморфизму A1166C гена *AGT2R1*, мм рт.ст.

Выявлено, что напряжение АП характерно для всех лиц, независимо от генотипа. Однако, результаты для генотипа C/C статистически значимо выше, чем для генотипов A/A и A/C ( $p=0,003$  и  $p=0,003$  соответственно), что отображено на рисунке 11, где «\*» обозначены статистически значимые различия между генотипами A/A и C/C, A/C и C/C.

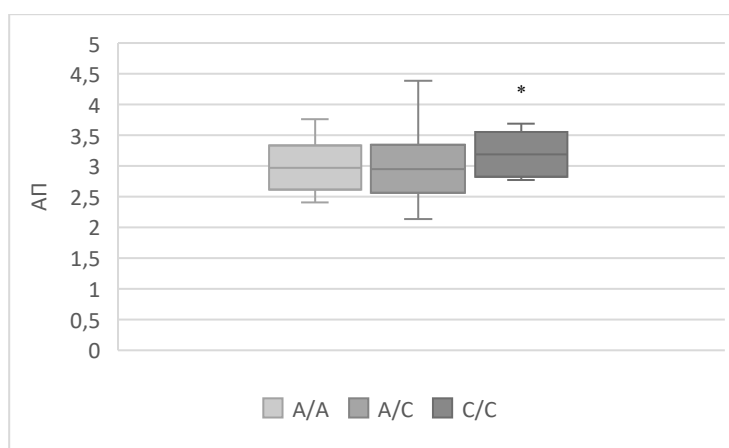


Рисунок 11 – Адаптационный потенциал после дозированной физической нагрузки у лиц, не занимающихся спортом, с различными генотипами по полиморфизму A1166C гена *AGT2R1*.

### 3.3.2 Гемодинамические показатели у профессиональных спортсменов с различными генотипами по полиморфизму A1166C гена *AGT2R1*

Для группы профессиональных спортсменов также была проведена оценка гемодинамических показателей в покое и после проведения пробы с



дозированной физической нагрузкой (проба Мартине-Кушелевского). Показатели, характеризующие состояние сердечно-сосудистой системы профессиональных спортсменов в покое с различными генотипами по исследуемому полиморфизму A1166C гена *AGT2R1* представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Гемодинамические показатели в покое у группы профессиональных спортсменов с различными генотипами по полиморфизму A1166C гена *AGT2R1*, Me (Q1;Q3)

Показатели	Генотип А/А	Генотип А/С	Генотип С/С	Значимость различий (p)
САД мм рт.ст.	115,00 (109,00; 124,00)	114,00 (107,00; 124,00)	118,00 (115,00; 139,00)	(1-2) 0,406 (1-3) 0,337 (2-3) 0,247
ДАД мм рт.ст.	70,00 (63,00; 76,00)	65,00 (61,00; 73,00)	80,00 (80,00; 82,00)	(1-2) 0,093 <b>(1-3) 0,035</b> <b>(2-3) 0,008</b>
ПД мм рт.ст.	48,00 (48,00; 54,00)	47,00 (41,00; 56,00)	38,00 (33,00; 59,00)	(1-2) 0,699 (1-3) 0,477 (2-3) 0,475
ЧСС уд/мин	70,00 (64,00; 78,00)	72,00 (67,00; 84,00)	81,00 (65,00; 99,00)	(1-2) 0,383 (1-3) 0,312 (2-3) 0,502
СДД мм рт.ст	88,64 (82,60; 94,94)	86,78 (81,06; 94,46)	95,96 (95,86; 104,78)	(1-2) 0,245 (1-3) 0,051 <b>(2-3) 0,016</b>
АП	1,95 (1,81; 2,15)	1,89 (1,76; 2,08)	2,32 (2,19; 2,48)	(1-2) 0,333 <b>(1-3) 0,020</b> <b>(2-3) 0,004</b>

При анализе гемодинамических показателей в покое были выявлены статистически значимые различия для ДАД, СДД и АП. Для гомозигот С/С по

изучаемому полиморфизму ДАД статистически значимо отличалось от гомозигот А/А и гетерозигот А/С ( $p=0,035$  и  $p=0,008$  соответственно). Для гомозигот С/С также отмечается более высокий показатель СДД по сравнению с гетерозиготами А/С ( $p=0,016$ ). Полученные результаты представлены на рисунке 12, где «\*» обозначены статистически значимые различия между генотипами А/А и С/С, А/С и С/С для ДАД, а также А/С и С/С для СДД.

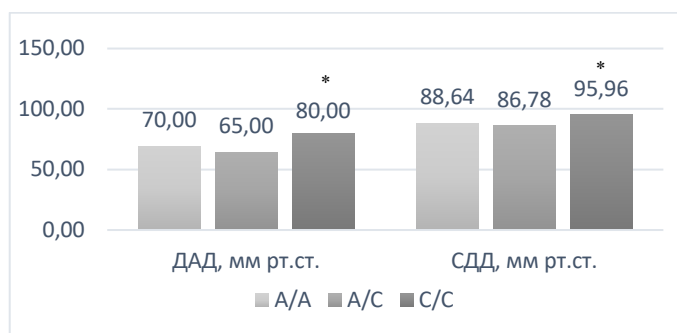


Рисунок 12 – Диастолическое артериальное давление и среднединамическое артериальное давление в покое у профессиональных спортсменов с различными генотипами по полиморфизму А1166С гена *AGT2R1*, мм рт.ст.

Выявлено, что статистически более высокий уровень АП характерен для гомозигот С/С, что было доказано при сравнении с гомозиготами А/А и гетерозиготами А/С ( $p=0,020$  и  $p=0,004$  соответственно) и отображено на рисунке 13, где «\*» обозначены статистически значимые различия между генотипами А/А и С/С, А/С и С/С.

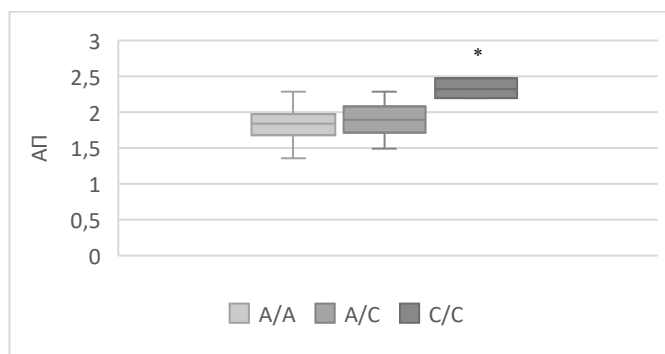


Рисунок 13 – Адаптационный потенциал в покое у профессиональных спортсменов с различными генотипами по полиморфизму А1166С гена *AGT2R1*

Для группы профессиональных спортсменов анализ гемодинамических показателей после дозированной физической нагрузки с различными генотипами по исследуемому полиморфизму приведен в таблице 8.

Таблица 8 – Гемодинамические показатели после дозированной физической нагрузки у группы профессиональных спортсменов с различными генотипами по полиморфизму A1166C гена *AGT2R1*, Me (Q1;Q3)

Показатели	Генотип А/А	Генотип А/С	Генотип С/С	Значимость различий (p)
САД мм рт.ст.	123,00 (113,00; 137,00)	122,00 (117,00; 131,00)	126,00 (122,00; 142,00)	(1-2) 0,979 (1-3) 0,486 (2-3) 0,397
ДАД мм рт.ст.	70,00 (64,00; 76,00)	66,00 (60,00; 70,00)	73,00 (63,00; 81,00)	<b>(1-2) 0,027</b> (1-3) 0,694 (2-3) 0,187
ПД мм рт.ст	52,00 (44,00; 65,00)	57,00 (50,00; 66,00)	59,00 (53,00; 61,00)	(1-2) 0,131 (1-3) 0,443 (2-3) 0,842
ЧСС уд/мин	96,00 (87,00; 109,00)	98,00 (89,00; 116,00)	109,00 (89,00; 125,00)	(1-2) 0,313 (1-3) 0,395 (2-3) 0,681
СДД мм рт.ст.	90,96 (85,16; 99,90)	89,52 (85,20; 95,58)	95,26 (87,78; 106,62)	(1-2) 0,230 (1-3) 0,569 (2-3) 0,277
АП	2,31 (2,14; 2,58)	2,37 (2,13; 2,58)	2,50 (2,43; 2,98)	(1-2) 0,832 (1-3) 0,148 (2-3) 0,177

Для группы профессиональных спортсменов было выявлено статистически значимое отличие для показателя ДАД. При сравнении данных гомозигот А/А и гетерозигот А/С получено, что данный показатель

статистически значимо выше в группе гомозигот по аллелю А ( $p=0,027$ ). Для лиц, имеющих генотип С/С по полиморфизму А1166С гена *AGT2R1*, после дозированной физической нагрузки статистически значимой разницы выявлено не было. Однако, для гомозигот по мутантному аллелю С характерны более высокие показатели медианы для САД, ЧСС и СДД. Напряжение АП характерно для всех лиц в группе профессиональных спортсменов, независимо от генотипа.

### **3.4. Анализ факторов риска формирования АГ у лиц, не занимающихся спортом, и у профессиональных спортсменов, с различными генотипами по полиморфизму А1166С гена *AGT2R1***

#### **3.4.1 Анализ факторов риска формирования АГ у лиц, не занимающихся спортом, с различными генотипами по полиморфизму А1166С гена *AGT2R1***

Проба Мартине-Кушелевского позволила выявить следующие факторы риска развития АГ: гипертоническую реакцию на дозированную нагрузку, высокий уровень ПД (более 60 мм рт.ст), изменение СДД после физической нагрузки более чем на 15%, изменение АП (увеличение более 2,1). Распределение аллелей и генотипов полиморфного варианта А1166С гена *AGT2R1* в зависимости от типа реакции сосудов на нагрузку у лиц, не занимающихся спортом, представлено в таблице 9.

Таблица 9 – Распределение аллелей и генотипов по полиморфизму А1166С гена *AGT2R1* у людей, не занимающихся спортом, в зависимости от типа реакции сосудов на нагрузку

Тип реакции ССС:	Аллель А	Аллель С	Генотип А/А	Генотип А/С	Генотип С/С
Нормотонический тип (n=132)	220 (74%)	52 (62%)	92 (75%)	36 (67%)	4 (36%)
Гипертонический тип (n=55)	78 (26%)	32 (38%)	30 (25%)	18 (33%)	7 (64%)

Среди лиц, не занимающихся спортом, было выявлено два типа реакции ССС на физическую нагрузку: гипертонический тип и нормотонический тип. У гомозигот С/С гипертоническая реакция на нагрузку наблюдалась чаще, чем нормотоническая (64% и 36% соответственно). Для гомозигот А/А, как и для гетерозигот А/С, преобладающим являлся нормотонический тип реакции. Полученные данные отображены на рисунках 14 и 15.



Рисунок 14 – Распределение аллеля А и аллеля С у группы лиц, не занимающихся спортом, с различными генотипами по полиморфизму А1166С гена *AGT2R1* в зависимости от типа реакции сосудов на нагрузку, %

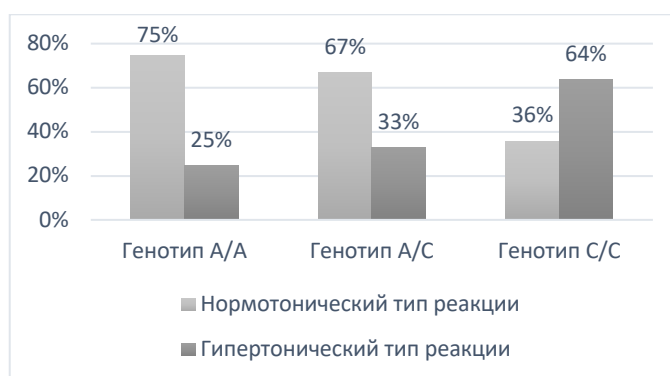


Рисунок 15 – Распределение генотипов А/А, А/С, С/С у группы лиц, не занимающихся спортом, с различными генотипами по полиморфизму А1166С гена *AGT2R1* в зависимости от типа реакции сосудов на нагрузку, %

Ассоциация аллелей и генотипов у лиц, не занимающихся спортом, с гипертоническим типом реакции сосудов на дозированную физическую нагрузку представлена в таблице 10.

Таблица 10 – Ассоциация аллелей и генотипов по полиморфизму A1166C гена *AGT2R1* у лиц, не занимающихся спортом, с гипертоническим типом реакции сосудов на дозированную физическую нагрузку

Показатель	Аллели		Генотипы		
	А	С	AA/AC+CC	AC/AA+CC	CC/AA+AC
Относительный риск (ОР)	0,687	<b>1,455</b>	0,639	1,198	<b>2,333</b>
95% ДИ	(0,493; 0,958)	<b>(1,044; 2,030)</b>	(0,413; 0,990)	(0,752; 1,910)	<b>(1,404; 3,877)</b>
$\chi^2, p$	4,542 p=0,034	<b>4,542</b> <b>p=0,034</b>	3,930 p=0,048	0,562 p=0,454	<b>6,594</b> <b>p=0,011</b>

При анализе полученных данных была выявлена ассоциация генотипа С/С ( $\chi^2=6,594$ ,  $p=0,011$ , ОР=2,333; 95% ДИ: 1,404-3,877) и аллеля С с гипертоническим типом реакции на дозированную физическую нагрузку ( $\chi^2=4,542$ ,  $p=0,034$ , ОР=1,455; 95% ДИ: 1,044-2,030). Таким образом, генотип С/С повышает риск формирования гипертонического типа реакции в 2 раза, а мутантный аллель С – в 1,5 раза в группе лиц, не занимающихся спортом.

Проба с дозированной физической нагрузкой позволила выявить и другие факторы риска формирования АГ. Однако, при анализе ассоциации аллелей и генотипов людей, не занимающихся спортом, с другими факторами риска (изменением СДД после физической нагрузки более чем на 15%, уровнем ПД более 60 мм рт.ст, а также увеличением АП более 2,1), статистически значимых различий как для аллеля С, так и для генотипа С/С по исследуемому полиморфизму обнаружено не было. Таблицы, показывающие распределение аллелей и генотипов по полиморфизму A1166C гена *AGT2R1* в зависимости от представленных факторов риска и ассоциация с данными факторами представлены в приложении А.

### 3.4.2 Анализ факторов риска формирования АГ у профессиональных спортсменов с различными генотипами по полиморфизму A1166C гена *AGT2R1*

Так как были получены статистически значимые отличия гемодинамических показателей в группе спортсменов в зависимости от генотипа, было резонно оценить действие факторов риска артериальной гипертензии. Для группы профессиональных спортсменов была выявлена ассоциация с таким фактором риска, как адаптационный потенциал. Распределение аллелей и генотипов полиморфного варианта A1166C гена *AGT2R1* в зависимости от изменения АП в покое у профессиональных спортсменов представлено в таблице 11.

Таблица 11 – Распределение аллелей и генотипов по полиморфизму A1166C гена *AGT2R1* у профессиональных спортсменов в зависимости от изменения адаптационного потенциала в покое

Изменение АП	Аллель А	Аллель С	Генотип	Генотип	Генотип
			А/А	А/С	С/С
Меньше 2,1 (n=75)	115 <b>(75%)</b>	35 <b>(67%)</b>	40 <b>(73%)</b>	35 <b>(81%)</b>	0 <b>(0%)</b>
Более 2,1 (n=26)	38 <b>(25%)</b>	17 <b>(33%)</b>	15 <b>(27%)</b>	8 <b>(19%)</b>	3 <b>(100%)</b>

Анализ полученных данных показал, что у всех спортсменов с генотипом С/С наблюдается напряжение адаптации, т.е. уровень АП более 2,1. У 73% гомозигот по дикому аллелю А и у 81% гетерозигот А/С адаптационный потенциал был меньше 2,1. Таким образом, удовлетворительный или хороший уровень адаптации (меньше 2,1 и меньше 2 соответственно) был выявлен у большинства профессиональных спортсменов. Полученные результаты отображены на рисунках 16 и 17.

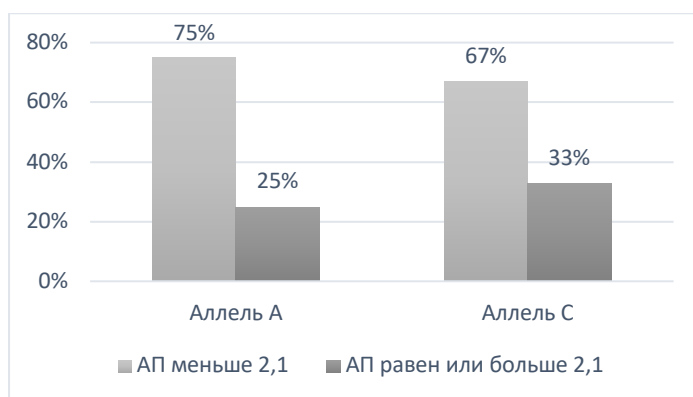


Рисунок 16 – Распределение аллеля А и аллеля С у группы профессиональных спортсменов с различными генотипами по полиморфизму А1166С гена *AGT2R1* в зависимости от изменения адаптационного потенциала в покое, %

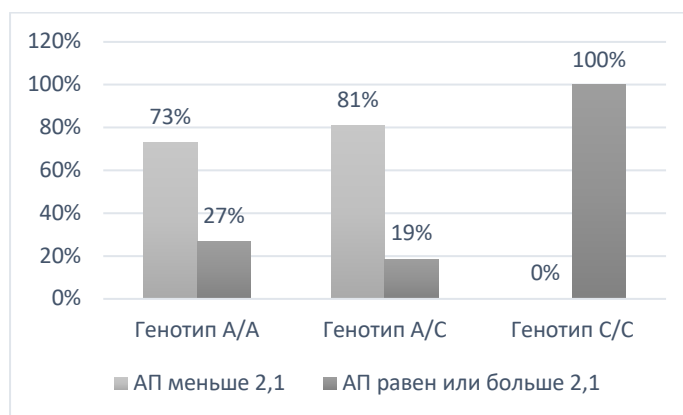


Рисунок 17 – Распределение генотипов А/А, А/С, С/С у группы профессиональных спортсменов с различными генотипами по полиморфизму А1166С гена *AGT2R1* в зависимости от изменения адаптационного потенциала в покое, %

Для группы профессиональных спортсменов также была проанализирована ассоциация аллелей и генотипов по исследуемому полиморфному варианту А1166С гена *AGT2R1* с увеличением адаптационного потенциала более 2,1 в покое. Полученные данные представлены в таблице 12.



Таблица 12 – Ассоциация аллелей и генотипов по полиморфизму A1166C гена *AGT2R1* у профессиональных спортсменов с увеличением АП более 2,1 в покое

Показатель	Аллели		Генотипы		
	А	С	AA/AC+CC	AC/AA+CC	CC/AA+AC
Относительный риск (ОР)	0,760	1,316	1,140	0,599	<b>4,261</b>
95% ДИ	(0,471; 1,225)	(0,816; 2,122)	(0,582; 2,234)	(0,288; 1,248)	<b>(2,980; 6,092)</b>
$\chi^2, p$	1,220 p=0,270	1,220 p=0,270	0,148 p=0,701	1,996 p=0,158	<b>8,919 p=0,003</b>

В группе профессиональных спортсменов была выявлена ассоциация генотипа С/С с увеличением АП более 2,1 в покое, что подтверждается статистически ( $\chi^2=8,919$ ,  $p=0,003$ , ОР=4,261; 95% ДИ: 2,980-6,092). Таким образом, согласно полученным результатам, генотип С/С повышает риск возникновения напряжения адаптации более чем в 4,2 раза в группе профессиональных спортсменов.

Для других факторов риска для группы профессиональных спортсменов (изменение СДД после физической нагрузки более чем на 15%, гипертонический тип реакции на физическую нагрузку, ПД более 60 мм рт.ст.) статистически значимых различий как для аллеля С, так и для генотипа С/С по исследуемому полиморфизму обнаружено не было. Таблицы, характеризующие распределение аллелей и генотипов по полиморфизму A1166C гена *AGT2R1* в зависимости от представленных факторов риска и ассоциация с данными факторами представлены в приложении В.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Артериальная гипертензия считается одним из самых распространенных заболеваний во всем мире. Ожидается, что показатель заболеваемости АГ к 2025 году вырастет более, чем на 30% [52].

Одним из важнейших механизмов контроля гемодинамики является ренин-ангиотензин-альдостероновая система, которая действует путем регулирования артериального давления, объема жидкости и натриево-калиевого баланса. В связи с этим, изменение хотя бы одного из компонентов данной цепи может привести к формированию АГ [61].

Генетические факторы считаются одними из ключевых в инициации заболевания, в связи с чем значимое внимание в современной медицине отводится идентификации неблагоприятных полиморфизмов [15].

Существует огромное количество генов-кандидатов, однако в настоящее время наиболее активно изучается полиморфизм A1166C гена рецептора I типа ангиотензина II. Трансверсия A/C в положении 1166 влияет на функциональную активность рецептора [33, 66], повышая количество рецепторов на поверхности клеток [28, 59]. Данный полиморфизм связан с жесткостью сосудистой стенки и гипертрофией миокарда, а также с повышенной вазоконстрикцией, что увеличивает риск формирования АГ [4, 60].

В современных мировых исследованиях обозначены особенности распространенности полиморфизма A1166C гена *AGT2R1* в различных этнических группах, а также показана необходимость дальнейшего исследования данного полиморфизма у людей, проживающих в разных экологических условиях [28, 68]. Одним из таких условий является проживание на территории Европейского Севера, так как данные природные условия предъявляют повышенные требования к функционированию ССС.

Известно, что спортивная деятельность и физическая нагрузка влияют на ССС человека, и, в частности, на эндотелий сосудов. Исследования показывают, что физические упражнения эффективно снижают артериальное давление и улучшают эндотелий-зависимую вазодилатацию за счет повышения

биодоступности NO в сосудистой стенке. В связи с этим, особый интерес для исследования представляют профессиональные спортсмены, проживающие на территории Европейского Севера.

Считается, что при отборе в профессиональный спорт важными являются не только физиологические показатели, но и генетическая предрасположенность. Так, успешность спортсменов зависит от числа аллелей генов, ассоциированных с адаптационными возможностями сердечно-сосудистой и мышечной систем организма к продолжительным физическим нагрузкам [14]. Следствием носительства неблагоприятных аллелей является прекращение роста спортивных результатов и развитие патологических состояний, в том числе гипертрофии левого желудочка [2].

Одним из неблагоприятных полиморфизмов, влияющих на сердечно-сосудистую систему, является исследуемый полиморфный вариант A1166C гена *AGT2R1*.

В данном исследовании принимали участие две исследуемые группы. Первая группа составила 187 человек (средний возраст – 18,6 лет; 95% ДИ 18,5-18,7). В данную группу включались юноши и девушки, которые не имели постоянной физической нагрузки (2-3 раза в неделю). Также в исследовании принимали участие профессиональные спортсмены, которые являлись обучающимися в ГАУ АО «СШОР «Поморье». Вторая группа составила 101 человек (средний возраст – 18,1 лет; 95% ДИ 18,0-18,3). В данную группу включались только те лица, которые имели постоянные физические нагрузки (2-3 раза в неделю). Для данной группы среднее количество систематических нагрузок динамического характера составило 6 раз в неделю.

В данном исследовании была проведена проба Мартине-Кушелевского (20 приседаний за 30 секунд), а затем произведена оценка гемодинамических показателей: САД, ДАД, ЧСС, ПД, СДД, АП. Также у каждого исследуемого было проанализировано влияние факторов риска на формирование АГ.

Для определения генотипов полиморфного варианта A1166C гена *AGT2R1* и уровня эндотелиальных факторов проводилось взятие крови из вен внутренней

поверхности локтевого сустава. В данном исследовании использовались пробирки, содержащие ЭДТА в качестве антикоагулянта.

Уровень оксида азота определяли по суммарной концентрации стабильных метаболитов NO (нитратов и нитритов) с использованием биохимического метода. Для определения уровня эндотелина-1 и ангиотензина II был использован иммуноферментный метод с применением соответствующих наборов. Типирование полиморфизма A1166C гена *AGT2R1* проведено методом Real-time ПЦР с использованием интеркалирующего красителя SYBR Green.

Статистическая обработка полученных данных была выполнена с использованием пакета прикладных программ «SPSS statistics» (StatSoft, USA), а также онлайн-счетчика «Медицинская статистика» (<https://medstatistic.ru/index.php>).

В данном исследовании было определено распределение генотипов в двух исследуемых группах: в группе лиц, не занимающихся спортом, а также в группе профессиональных спортсменов. Частоты мутантных аллелей С в исследуемых группах были ниже, чем частоты, описанные для европейских популяций (смешанные группы, французы, испанцы, британцы). Вероятно, более высокая частота патологического аллеля С может рассматриваться как «цена адаптации» к дискомфортным условиям проживания в условиях Европейского Севера.

Анализ вазоактивных эндотелиальных факторов показал, что у молодых людей, не занимающихся спортом и имеющих генотип С/С полиморфизма A1166C гена *AGT2R1*, концентрация эндотелина-1 была выше по сравнению с гомозиготами по аллелю А. При этом, показатель индекса NO/ЭТ-1 – ниже, чем у гомозигот А/А. Это свидетельствует о сдвиге баланса продукции вазоактивных эндотелиальных факторов в сторону вазоконстрикции. У профессиональных спортсменов статистически значимой разницы между показателями для разных генотипов выявлено не было.

Анализ гемодинамических показателей позволил выявить, что в группе лиц с генотипом С/С по полиморфизму A1166C гена *AGT2R1*, не занимающихся спортом, статически более высокие показатели САД, ДАД, ЧСС, СДД и АП как

в покое, так и после пробы с дозированной физической нагрузкой. У профессиональных спортсменов более высокие показатели были выявлены у лиц с генотипом С/С только для ДАД, СДД и АП в покое, после дозированной физической нагрузки статистически значимой разницы выявлено не было.

Анализ факторов риска формирования артериальной гипертензии у людей, не занимающихся спортом, позволил выявить ассоциацию генотипа С/С и мутантного аллеля С полиморфизма А1166С гена *AGT2R1* с гипертоническим типом реакции на физическую нагрузку. Так, у лиц, не занимающихся спортом и являющихся носителями генотипа С/С, повышается риск формирования гипертонического типа реакции на физическую нагрузку в 2 раза, а у носителей мутантного аллеля С – в 1,5 раза. Для группы профессиональных спортсменов была выявлена взаимосвязь генотипа С/С с адаптационным потенциалом. Так, генотип С/С повышает риск возникновения напряжения адаптации более чем в 4,2, что является предиктором формирования АГ.

Таким образом, генотип С/С полиморфного варианта А1166С гена *AGT2R1* является предиктором формирования артериальной гипертензии у лиц, не занимающихся спортом, так как наблюдается сдвиг эндотелиальных факторов в сторону вазоконстрикторных и статистически значимое повышение гемодинамических показателей. Для спортсменов носительство генотипа С/С также является неблагоприятным фактором, так как увеличение адаптационного потенциала более 2,1 свидетельствует о напряжении адаптации.

## Выводы

На основании проведенных исследований можно сделать выводы:

1. Частоты мутантных аллелей С полиморфизма A1166C гена *AGT2R1* у молодых людей, постоянно проживающих на территории Европейского Севера ниже, чем для европейских популяций.
2. У молодых людей, не занимающихся спортом и имеющих генотип С/С полиморфизма A1166C гена *AGT2R1*, концентрация эндотелина-1 была выше, а показатель индекса NO/ЭТ-1 – ниже, чем у гомозигот А/А, что свидетельствует о сдвиге баланса продукции вазоактивных эндотелиальных факторов в сторону вазоконстрикции. В то время как у профессиональных спортсменов статистически значимой разницы выявлено не было.
3. В группе лиц с генотипом С/С, не занимающихся спортом, выявлены статически более высокие показатели САД, ДАД, ЧСС, СДД и АП как в покое, так и после пробы с дозированной физической нагрузкой. У профессиональных спортсменов более высокие показатели были выявлены у лиц с генотипом С/С только для ДАД, СДД и АП в покое, после дозированной физической нагрузки статистически значимой разницы выявлено не было.
4. Анализ факторов риска формирования артериальной гипертензии у людей, не занимающихся спортом, выявил ассоциацию генотипа С/С и мутантного аллеля С с гипертоническим типом реакции на физическую нагрузку. Для группы профессиональных спортсменов была выявлена взаимосвязь генотипа С/С с адаптационным потенциалом;
5. Таким образом, генотип С/С полиморфного варианта A1166C гена *AGT2R1* является предиктором формирования артериальной гипертензии у лиц, не занимающихся спортом, о чем свидетельствует сдвиг эндотелиальных факторов в сторону вазоконстрикторных и формирование гипертонического типа реакции на физическую нагрузку. Для профессиональных спортсменов носительство генотипа С/С также

является неблагоприятным фактором, так как увеличение адаптационного потенциала более 2,1 свидетельствует о напряжении адаптации, что является предиктором формирования артериальной гипертензии.

## Практические рекомендации

В данном исследовании показано, что у лиц, являющихся гомозиготами по мутантному аллелю С по полиморфизму A1166C гена *AGT2R1* и не занимающихся спортом, происходил сдвиг баланса вазоактивных факторов в сторону вазоконстрикции и дальнейшее формирование эндотелиальной дисфункции. У профессиональных спортсменов, имеющих генотип С/С, было выявлено напряжение адаптационных механизмов сердечно-сосудистой системы на физическую нагрузку. Данные исследования подтверждают факт о том, что мутантный аллель С является неблагоприятным маркером как для лиц, не занимающихся спортом, повышая риск формирования артериальной гипертензии, так и для профессиональных спортсменов и их дальнейшей успешности в профессиональном спорте.

В связи с этим, рекомендуется включить полиморфизм A1166C гена *AGT2R1* в молекулярно-генетические исследования при отборе в профессиональный спорт, а также учитывать полученные результаты для прогнозирования спортивной успешности.



## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Атрощенко Е. С. Роль альдостерона в патогенезе хронической сердечной недостаточности и эффективность применения его антагонистов // Международные обзоры: клиническая практика и здоровье. – 2013. – №3 (3). – С. 5-15.
2. Ахметов И.И., Мустафина Л.Д., Насибулина Э.С. Медико-генетическое обеспечение детско-юношеского спорта // Практическая медицина. – 2012. – № 7(62). – С.62-66.
3. Барсуков А.В., Корнейчук Н.Н., Шустов С.Б. Высокорениновые артериальные гипертензии: от симптома к диагнозу // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. – 2017. – Т. 9. – № 2. – С. 7-18.
4. Бебякова Н.А., Левицкий С.Н., Первухина О.А. Роль полиморфизма генов ренин- ангиотензиновой системы в формировании сердечно-сосудистой патологии // Вестник Северного (Арктического) федерального университета. Серия: медико-биологические науки. – 2016. – № 4. – С. 30-39.
5. Бова А.А. Место антагонистов рецепторов ангиотензина II в клинической практике // Медицинские новости. – 2009. – № 6. – С. 11-15.
6. Васина Л.В., Петрищев Н.Н., Власов Т.Д. Эндотелиальная дисфункция и ее основные маркеры // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2017. – Т. 16. – № 1. – С. 4–15.
7. Власова С.П., Ильченко М.Ю., Казакова Е.Б. Дисфункция эндотелия и артериальная гипертензия: Практическое пособие под ред. Лебедева П.А. Самара, «Офорт». – 2010. – 192 с.
8. Гареев И.Ф. Роль микроРНК в регуляции патофизиологических механизмов при артериальной гипертензии // Наука молодых – Eruditio Juvenium. – 2018. – № 4. – С. 589-599.
9. Драпкина О.М., Козлова Е.В. Место антагонистов рецепторов ангиотензина в лечении сердечно-сосудистых заболеваний. Исследование ЭФФЕКТ: применение Лористы у пациентов с мягкой и умеренной артериальной

гипертензией в условиях реальной клинической практики // Регулярные выпуски «РМЖ». – 2011. – № 14. – С. 891.

10. Дремина Н.Н., Шурыгин М.Г., Шурыгина И.А. Эндотелины в норме и патологии // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. – №10 (2). – С. 210-214.

11. Ибрагимова Х.И., Маммаев С.Н. Роль эндотелина-1 в патогенезе артериальной гипертензии и ее осложнений // Клиническая геронтология. – 2017. – № 1-2. – С.57-63.

12. Карабаева А.Ж. Минералкортикоидные рецепторы и альдостерон // Вестник ВГМУ. – 2008. – №2. – С. 1-9.

13. Карпов Ю.А., Шубина А.Т. Влияние ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента на состояние органов-мишеней при артериальной гипертензии // Регулярные выпуски «РМЖ». – 2003. – № 9. – С. 522.

14. Лебедь Т.Л., Шепелевич Н.В., Кручинский Н.Г., Мельнов С.Б. Сравнительный анализ генетического статуса спортсменов-гребцов высокой квалификации и гребцов-юниоров // Здоровье для всех. – 2016. – №1. – С.51-55.

15. Лямина Н.П., Наливаева А.В., Сенчихин В.Н., Липчанская Т.П., Щварц Ю.Г., Елькина А.Ю. Полиморфизм генов AGT, AGT2R11 и выраженность кардиоваскулярных факторов риска в молодом возрасте при маскированной и стабильной формах артериальной гипертензии // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 4. – С. 19.

16. Манухина Е.Б., Малышев И.Ю. Роль оксида азота в развитии и предупреждении дисфункции эндотелия // ВЕСТНИК ВГМУ. – 2003. – № 2. – С. 5-17.

17. Пожилова Е.В., Новиков В.Е. Синтаза оксида азота и эндогенный оксид азота в физиологии и патологии клетки // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2015. – № 4. – С.35-41.

18. Попова А.А. Артериальная гипертензия и дисфункция эндотелия (часть 1) // Вестн. соврем. клинич. медицины. – 2009. – № 2. – С. 41-46.

19. Попова А.А. Эндотелиальная дисфункция и механизмы ее формирования // Сибир. мед. образование. – 2010. – № 4. – С. 7-11.
20. Преображенский Д.В. Физиология и фармакология ренин-ангиотензиновой системы // Кардиология. – 1997. – № 11. – С. 91-95.
21. Рахматиллаев Н.А., Харина И.Ф., Латюшин Я.В., Звягина Е.В. Физиологическая оценка изменений сердечно-сосудистой системы в процессе адаптации к интервальным тренировочным нагрузкам у конькобежцев-стайеров в подготовительном периоде // Научно-спортивный вестник Урала и Сибири. – 2021. – №1(29). – С.20-26.
22. Решетников Е. А., Акулова Л. Ю., Батлущая И. В. Молекулярно-генетические механизмы функционирования сердечно-сосудистой системы и роль ренин-ангиотензиновой системы в обеспечении сердечно-сосудистых реакций в организме // Актуальные проблемы медицины. – 2013. – №11 (154). – С. 179-184.
23. Сикорский А.В. Роль вазоактивных факторов эндотелия в развитии артериальной гипотензии у детей // Медицинский журнал. – 2013. – № 3 (45). – С. 102-106.
24. Синелев В.А., Бабенко А.С., Гилеп И.Л., Усанов С.А. Полиморфизм генов BDKRB2, NOS3, AGT, ACE И AGTR1 и физическая работоспособность человека // Доклады Национальной академии наук Беларуси. – 2010. – Т. 54. – № 3. – С. 77-83.
25. Тепляшина Е. А., Пожиленкова Е. А., Екимова М. В., Салмина А. Б. Роль эндотелина и сосудисто-эндотелиального фактора роста в процессе фолликулогенеза // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2011. – № 11(3). – С. 4-9.
26. Торншн И.Ю., Громова О.А. Сосудистые заболевания сердца, мозга и молекулярные гены. Ассоциативные исследования и патофизиология сосудистых заболеваний // Трудный пациент. – 2008. – № 2. – С. 34-35.
27. Целуйко В.И., Брегвадзе Т.Р., Мищук Н.Е., Вашакидзе З.С. Полиморфизм гена рецептора ангиотензина II 1-го типа и его влияние на эффективность

терапии олмесартаном у пациентов с гипертонической болезнью. // Український кардіологічний журнал. – 2013. – № 4. – С. 21-27.

28. Шумилов Д.С., Тугуз А.Р., Ашканова Т.М., Смольков И.В., Муженя Д.В., Анохина Е.Н., Руденко К.А., Татаркова Е.А. Полиморфизмы генов AGT и AGT2R1, ассоциированные с коронарным атеросклерозом в этнических группах Республики Адыгея // Вестник Адыгейского государственного университета. Серия 4: естественно-математические и технические науки. – 2014. – № 1(133). – С. 83-91.

29. Яровая Г.А. Калликреин-кининовая система: новые факты и концепции: обзор // Вопросы медицинской химии. – 2001. – Т. 47. – № 1. – С. 20-42.

30. Alem MM. Endothelial Dysfunction in Chronic Heart Failure: Assessment, Findings, Significance, and Potential Therapeutic Targets // International Journal of Molecular Sciences. – 2019. – № 20(13). – P. 3198.

31. Alkaitis M.S., Crabtree M.J. Recoupling the cardiac nitric oxide synthases: tetrahydrobiopterin synthesis and recycling // Current Heart Failure Reports. – 2012. – № 9(3). – P. 200-210.

32. Berge H.M., Isern C.B., Berge E. Blood pressure and hypertension in athletes: a systematic review // Br J Sports Med. – 2015. – № 49(11). – P. 716-723.

33. Bonnardeaux A, Davies E, Jeunemaitre X, Féry I, Charru A, Clauser E, et al. Angiotensin II Type 1 receptor gene polymorphism in human essential hypertension // Hypertension (Dallas, Tex.: 1979). – 1994. – № 24(1). – P. 63-69.

34. Bonnardeaux A., Davies E., Jeunemaitre X. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms in human essential hypertension // Hypertension. – 1994. – № 24. – P. 63-69.

35. Chalupsky K., Cai H. Endothelial dihydrofolate reductase: critical for nitric oxide bioavailability and role in angiotensin II uncoupling of endothelial nitric oxide synthase. Proc Natl Acad Sci U S A. – 2005. – № 102(25). – P. 9056–9061.

36. Chandra S., Narang R., Sreenivas V. Association of angiotensin II type 1 receptor (A1166C) gene polymorphism and its increased expression in essential hypertension: a case-control study // PLoSOne. – 2014. – № 9.

37. Daiber A., Steven S., Weber A., et al. Targeting vascular (endothelial) dysfunction. *British Journal of Pharmacology*. – 2017. – №174(12). – P. 1591-1619.
38. Davenport A.P., Hyndman K.A., Dhaun N., et al. Endothelin // *Pharmacological Reviews*. – 2016. – № 68(2). – P.357-418.
39. DI Mauro M., Izzicupo P., Santarelli F., Falone S., Pennelli A., Amicarelli F., Calafiore A.M., DI Baldassarre A., Gallina S. ACE and AGTR1 Polymorphisms and Left Ventricular Hypertrophy in Endurance Athletes // *Medicine & Science in Sports & Exercise*. – 2010. – № 42. – P. 915-921.
40. Fatini C., Guazzelli R., Manetti P., Battaglini B., Gensini F., Vono R., Toncelli L., Zilli P., Capalbo A., Abbate R., Gensini G.F., Galanti G. RAS genes influence exercise-induced left ventricular hypertrophy: an elite athletes study // *Medicine & Science in Sports & Exercise*. – 2000. – № 32. – P. 1868-1872.
41. Fujii N, Meade RD, Alexander LM, et al. iNOS-dependent sweating and eNOS-dependent cutaneous vasodilation are evident in younger adults, but are diminished in older adults exercising in the heat // *Journal of Applied Physiology* (Bethesda, Md.: 1985). – 2016. – № 120(3). – P. 318-327.
42. Heinonen I., Saltin B., Kemppainen J., et al. Skeletal muscle blood flow and oxygen uptake at rest and during exercise in humans: a pet study with nitric oxide and cyclooxygenase inhibition // *American Journal of physiology. Heart and Circulatory Physiology*. – 2011. – № 300(4). – P. 1510-1517.
43. Jinmin L., Jianmin L., Shuqin Z. The polymorphism of angiotensin-receptor gene A1166C in familial hypertension and its distribution in the Han Yellow race of China // *Saudi Med J*. – 2013. – № 34. – P. 1007–1012.
44. John R., Dhillon M.S., Dhillon S. Genetics and the Elite Athlete: Our Understanding in 2020 // *Indian Journal of Orthopaedics*. – 2020. – № 54(3). – P. 256-263.
45. Kawai T, Forrester SJ, O'Brien S et al. AT1 receptor signaling pathways in the cardiovascular system // *Pharmacological Research*. – 2017. – № 125. – P. 4-13.

46. Khalid Waleed, Vargheese Sheeja S., Lakshmanan Reema, Sankari M., Jayakumar N.D. Role of endothelin-1 in periodontal diseases: A structured review // *Indian Journal of Dental Research*. – 2016. – № 27. – P. 323-333.
47. Kurtz A (2011) Renin release: sites, mechanisms, and control // *Annual Review of Physiology*. – 2011. – № 73. – P. 377-399.
48. Larsen M.K., Matchkov V.V. Hypertension and physical exercise: The role of oxidative stress // *Medicina*. – 2016. – Vol. 52. – № 1. – P. 19-27.
49. Li XC, Zhu D, Zheng X, Zhang J, Zhuo JL Intratubular and intracellular renin-angiotensin system in the kidney: a unifying perspective in blood pressure control. *Clinical Science (London, England: 1979)*. – 2018. – № 32(13). – P. 1383-1401.
50. Martins L.C., Figueiredo V.N., Quinaglia T., Boer-Martins L., Yugar-Toledo J.C., Martin J.F., Demacq C., Pimenta E., Calhoun D.A., Moreno H., Jr. Characteristics of resistant hypertension: Ageing, body mass index, hyperaldosteronism, cardiac hypertrophy and vascular stiffness // *Journal of Human Hypertension*. – 2010. – № 25. – P. 532-538.
51. Mishra A., Srivastava A., Kumar S., Mittal T., Garg N., Agarwal S.K., Pande S., Mittal B. Role of angiotensin II type I (AT1 A1166C) receptor polymorphism in susceptibility of left ventricular dysfunction // *Indian Heart J*. – 2015. – №67(3). – P. 214-221.
52. Muñoz-Durango N, Fuentes CA, Castillo AE, et al. Role of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System beyond Blood Pressure Regulation: Molecular and Cellular Mechanisms Involved in End-Organ Damage during Arterial Hypertension // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2016. – № 17(7). – P.797.
53. Nepal G., Ojha R., Dulal H.P., Yadav B.K. Association between Lys198Asn polymorphism of endothelin-1 gene and ischemic stroke: A meta-analysis // *Brain and Behavior*. – 2019. – № 9(10).
54. Parchwani D.N., Patel D.D., Rawtani J., Yadav D. Analysis of Association of Angiotensin II Type 1 Receptor Gene A1166C Gene Polymorphism with Essential Hypertension // *Indian J Clin Biochem*. – 2018. – № 33(1). – P. 53-60.

55. Putnam K., Shoemaker R., Yiannikouris F., Cassis L.A. The renin-angiotensin system: A target of and contributor to dyslipidemias, altered glucose homeostasis, and hypertension of the metabolic syndrome // *American Journal of physiology. Heart and Circulatory Physiology.* – 2012. – № 302(6). – P. 1219-1230.

56. Rafiq A., Aslam K., Malik R., Afroze D. C242T polymorphism of the NADPH oxidase p22. PHOX gene and its association with endothelial dysfunction in asymptomatic individuals with essential systemic hypertension // *Molecular Medicine Reports.* – 2014. – Vol.9. – №5. – P. 1857-1862.

57. Sandoval Y.H., Atef M.E., Levesque L.O., Li Y., Anand-Srivastava M.B. Endothelin-1 signaling in vascular physiology and pathophysiology // *Curr Vasc Pharmacol.* – 2014. – № 12(2). – P. 202-214.

58. Santos RAS, Sampaio WO, Alzamora AC, et al. The ACE2/Angiotensin-(1-7)/MAS Axis of the Renin-Angiotensin System: Focus on Angiotensin-(1-7) // *Physiological Reviews.* – 2018. – № 98(1). – P. 505-553.

59. Sethupathy P., Borel C., Gagnebin M., Grant G.R., Deutsch S., Elton T.S., Hatzigeorgiou A.G., Antonarakis S.E. Human microRNA-155 on chromosome 21 differentially interacts with its polymorphic target in the AGTR1 3' untranslated region: a mechanism for functional single-nucleotide polymorphisms related to phenotypes // *Am J Hum Genet.* – 2007. – № 81(2). – P. 405-413

60. Simonyte S., Kuciene R., Medzioniene J. et. al. Renin-angiotensin system gene polymorphisms and high blood pressure in lithuanian children and adolescents // *BMC Med Genet.* – 2017. – № 18(1). – P. 100.

61. Te Riet L., van Esch J.H., Roks A.J., van den Meiracker A.H., Danser A.H. Hypertension: Renin-angiotensin-aldosterone system alterations // *Circulation Research.* – 2015. – № 116(6). – P. 960-975.

62. Tousoulis D., Kampoli A.M., Tentolouris C., Papageorgiou N., Stefanadis C. The role of nitric oxide on endothelial function // *Curr Vasc Pharmacol.* – 2012. – № 10(1). – P. 4-18.

63. Vignon-Zellweger N., Heiden S., Miyauchi T., Emoto N. Endothelin and endothelin receptors in the renal and cardiovascular systems // *Life Sciences*. – 2012. – № 91. – P. 490-500.
64. Villanueva C., Giulivi C. Subcellular and cellular locations of nitric oxide synthase isoforms as determinants of health and disease // *Free Radical Biology & Medicine*. – 2010. – № 49(3). – P. 307-316.
65. Yuan S, Patel RP, Kevil CG. Working with nitric oxide and hydrogen sulfide in biological systems // *American Journal of physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology*. – 2015. – № 308(5). – P. 403-415.
66. Zhang J.A., Li J.R., Qiao Y.J. Association of AGTR1 gene A1166C polymorphism with the risk of heart failure: a meta-analysis // *Genetics and Molecular Research*. – 2015. – № 14(3). – P. 9163-9170.
67. Zhang V.H., Sun M.L., Peng J., Sun T., Zhang Y., Yang J.M. Association of the angiotensin type 1 receptor gene A1166C polymorphisms with myocardial infarction: a meta-analysis // *Journal of thrombosis and haemostasis*. – 2011. – № 9(6). – P. 1258-1260.
68. Zhou F, Ren J, Lu X, Ma S, Wu C. Gene-Environment Interaction: A Variable Selection Perspective // *Methods Mol Biol*. – 2021. – № 2212. – P. 191-223.



## ПРИЛОЖЕНИЕ А

### Анализ иных факторов риска формирования АГ у лиц, не занимающихся спортом, с различными генотипами по полиморфизму А1166С гена *AGT2R1*

Таблица А.1 – Распределение аллелей и генотипов по полиморфизму А1166С гена *AGT2R1* у группы людей, не занимающихся спортом, в зависимости от изменения СДД после физической нагрузки более чем на 15%

Показатель СДД	Аллель А	Аллель С	Генотип А/А	Генотип А/С	Генотип С/С
Изменение меньше 15% (n=142)	227 (79%)	57 (76%)	93 (79%)	41 (77%)	8 (73%)
Изменение больше 15% (n=40)	62 (21%)	18 (24%)	25 (21%)	12 (23%)	3 (27%)

Таблица А.2 – Ассоциация аллелей и генотипов по полиморфизму А1166С гена *AGT2R1* у лиц, не занимающихся спортом, с изменением СДД после физической нагрузки более чем на 15%

Показатель	Аллели		Генотипы		
	А	С	АА/АС+СС	АС/АА+СС	СС/АА+АС
Относительный риск (ОР)	0,894	1,119	0,904	1,043	1,260
95% ДИ	(0,565; 1,415)	(0,707; 1,771)	(0,515; 1,588)	(0,575; 1,893)	(0,461; 3,448)
$\chi^2, p$	0,225 p=0,636	0,225 p=0,636	0,123 p=0,727	0,019 p=0,890	0,191 p=0,662

Таблица А.3 – Распределение аллелей и генотипов по полиморфизму А1166С гена *AGT2R1* у людей, не занимающихся спортом, в зависимости от изменения адаптационного потенциала в покое

Изменение адаптационного потенциала	Аллель А	Аллель С	Генотип А/А	Генотип А/С	Генотип С/С
Меньше 2,1 (n=85)	140 (47%)	30 (40%)	58 (47%)	24 (45%)	3 (27%)
Больше или равно 2,1 (n=101)	157 <b>(53%)</b>	45 <b>(60%)</b>	64 <b>(53%)</b>	29 <b>(55%)</b>	8 <b>(73%)</b>

Таблица А.4 – Ассоциация аллелей и генотипов по полиморфизму А1166С гена *AGT2R1* у людей, не занимающихся спортом, с увеличением АП более 2,1 в покое

Показатель	Аллели		Генотипы		
	А	С	АА/АС+СС	АС/АА+СС	СС/АА+АС
Относительный риск (ОР)	0,881	1,135	0,917	1,011	1,369
95% ДИ	(0,711; 1,091)	(0,917; 1,406)	(0,693; 1,187)	(0,756; 1,352)	(0,929; 2,017)
$\chi^2, p$	1,229 p=0,268	1,229 p=0,268	0,485 p=0,487	0,005 p=0,943	1,600 p=0,206

Таблица А.5 – Распределение аллелей и генотипов по полиморфизму А1166С гена *AGT2R1* у людей, не занимающихся спортом, в зависимости от изменения пульсового давления в покое

Изменение пульсового давления	Аллель А	Аллель С	Генотип А/А	Генотип А/С	Генотип С/С
Меньше 60 мм рт. ст. (n=169)	268 <b>(91%)</b>	70 <b>(99%)</b>	108 <b>(90%)</b>	52 <b>(98%)</b>	9 <b>(100%)</b>
Больше 60 мм рт. ст. (n=13)	25 <b>(9%)</b>	1 <b>(1%)</b>	12 <b>(10%)</b>	1 <b>(2%)</b>	0 <b>(0%)</b>

Таблица А.6 – Ассоциация аллелей и генотипов по полиморфизму А1166С гена *AGT2R1* у людей, не занимающихся спортом, с увеличением ПД более 60 мм рт. ст. в покое

Показатель	Аллели		Генотипы		
	А	С	АА/АС+СС	АС/АА+СС	СС/АА+АС
Относительный риск (ОР)	6.058	0,165	6,200	0,203	0,000
95% ДИ	(0,835; 43,961)	(0,023; 1,198)	(0,825; 46,591)	(0,027; 1,521)	(0,000; NaN)
$\chi^2, p$	4,373 p=0,037	4,373 p=0,037	4,335 p=0,038	3,115 p=0,078	0,728 p=0,394

## ПРИЛОЖЕНИЕ В

### Анализ иных факторов риска формирования АГ у профессиональных спортсменов с различными генотипами по полиморфизму A1166C гена

#### *AGT2R1*

Таблица В.1 – Распределение аллелей и генотипов по полиморфизму A1166C гена *AGT2R1* у профессиональных спортсменов в зависимости от типа реакции сосудов на нагрузку

Тип реакции ССС	Аллель А	Аллель С	Генотип		
			А/А	А/С	С/С
Нормотонический тип (n=93)	140 <b>(92%)</b>	49 <b>(94%)</b>	50 <b>(91%)</b>	40 <b>(93%)</b>	3 <b>(100%)</b>
Гипертонический тип (n=8)	13 <b>(8%)</b>	3 <b>(6%)</b>	5 <b>(9%)</b>	3 <b>(7%)</b>	0 <b>(0%)</b>

Таблица В.2 – Ассоциация аллелей и генотипов по полиморфизму A1166C гена *AGT2R1* у профессиональных спортсменов с типом реакции сосудов на дозированную физическую нагрузку

Показатель	Аллели		Генотипы		
	А	С	АА/АС+СС	АС/АА+СС	СС/АА+АС
Относительный риск (ОР)	1,473	0,679	1,394	0,809	0,000
95% ДИ	(0,437; 4,965)	(0,201; 2,289)	(0,352; 5,523)	(0,204; 3,204)	(0,000; NaN)
$\chi^2, p$	0,401 p=0,527	0,401 p=0,527	0,227 p=0,634	0,091 p=0,763	0,266 p=0,607

Таблица В.3 – Распределение аллелей и генотипов по полиморфизму A1166C гена *AGT2R1* у профессиональных спортсменов в зависимости от изменения СДД после физической нагрузки

Показатель СДД	Аллель А	Аллель С	Генотип А/А	Генотип А/С	Генотип С/С
Изменения меньше 15% (n=95)	144 <b>(94%)</b>	49 <b>(94%)</b>	52 <b>(94%)</b>	40 <b>(93%)</b>	3 <b>(100%)</b>
Изменения больше 15% (n=6)	9 <b>(6%)</b>	3 <b>(6%)</b>	3 <b>(6%)</b>	3 <b>(7%)</b>	0 <b>(0%)</b>

Таблица В.4 – Ассоциация аллелей и генотипов по полиморфизму A1166C гена *AGT2R1* у профессиональных спортсменов с изменением СДД после физической нагрузки более чем на 15%

Показатель	Аллели		Генотипы		
	А	С	АА/АС+СС	АС/АА+СС	СС/АА+АС
Относительный риск (ОР)	1,020	0,981	0,836	1,349	0,000
95% ДИ	(0,287; 3,624)	(0,276; 3,486)	(0,177; 3,947)	(0,286; 6,361)	(0,000; NaN)
$\chi^2, p$	0,001 p=0,977	0,001 p=0,977	0,051 p=0,822	0,144 p=0,705	0,195 p=0,659

Таблица В.5 – Распределение аллелей и генотипов по полиморфизму A1166C гена *AGT2R1* у профессиональных спортсменов в зависимости от изменения пульсового давления в покое

Изменение пульсового давления	Аллель А	Аллель С	Генотип А/А	Генотип А/С	Генотип С/С
Меньше 60 мм рт. ст. (n=91)	139 <b>(91%)</b>	46 <b>(88%)</b>	51 <b>(93%)</b>	37 <b>(86%)</b>	3 <b>(100%)</b>
Больше 60 мм рт. ст. (n=10)	14 <b>(9%)</b>	6 <b>(12%)</b>	4 <b>(7%)</b>	6 <b>(14%)</b>	0 <b>(0%)</b>

Таблица В.6 – Ассоциация аллелей и генотипов по полиморфизму A1166C гена *AGT2R1* у профессиональных спортсменов с увеличением ПД более 60 мм рт. ст. в покое

Показатель	Аллели		Генотипы		
	А	С	АА/АС+СС	АС/АА+СС	СС/АА+АС
Относительный риск (ОР)	0,793	1,261	0,883	1,147	0,907
95% ДИ	(0,321; 1,957)	(0,511; 3,111)	(0,529; 1,473)	(0,687; 1,914)	(0,179; 4,591)
$\chi^2, p$	0,251 p=0,617	0,251 p=0,617	0,227 p=0,634	0,272 p=0,603	0,015 p=0,905

## ПРИЛОЖЕНИЕ С

### Расчет себестоимости проведенного исследования

Таблица С.1 – Расчет себестоимости анализов

Наименование	Цена, руб.	Количество на один анализ	Стоимость для одного анализа, руб.	Количество проведенных анализов	Стоимость проведенных анализов
<b>Определение уровня оксида азота (NO)</b>					
Пробирки с ЭДТА, VACUETTE, пластик, 50 шт/уп	634,70	1	12,68	288	3651,84
Игла двусторонняя стандартная для вакуумных пробирок, 100 шт/уп	1520,00	1	15,20	288	4377,60
Переходник многоразовый для вакуумных пробирок, 50 шт/уп	650,00	1	13,00	288	3744,00

Латексные диагностические перчатки, размер М, 100 пар/уп	790,00	1	7,90	288	2275,20
Маска медицинская 3-х слойная одноразовая, 50 шт/уп	1600,00	1	32,00	288	9216,00
Шапочка «Шарлотта», нетканая, 100 шт/уп	300,00	1	3,00	288	864,00
Салфетки медицинские проспиртованные, 100 шт/уп	250,00	1	2,50	288	2160,00
Микроцентри фужные градуированные пробирки, 1,5 мл, Мексика, 772 рубля, 500 шт	772,00	1	1,54	288	443,52
Наконечники универсальные 200 мкл (Ахуген,	856,00	7	5,992	2+288* 5	8640,46



США), 1000 шт/уп					
Наконечники универсальные 1000 мкл (Ахуген, США), 1000 шт/уп	920,00	9	8,28	9	74,52
Пробирки с фильтрами Amicon Ultra 0.5 ML 10K 96PK, для набора NO, 100 штук	50383,06	1	503,83	288	145103,04
Окись азота (NO), 192 (детекция – 540 нм), 88 определений	51180,96	1	581,60	4 набора	204723,84
Определение уровня эндотелина-1					
Пробирки с ЭДТА, VASUETTE, пластик, 50 шт/уп	634,70	1	12,68	288	3651,84
Игла двусторонняя стандартная для	1520,00	1	15,20	288	4377,60

вакуумных пробирок, 100 шт/уп					
Переходник многоразовый для вакуумных пробирок, 50 шт/уп	650,00	1	13,00	288	3744,00
Латексные диагностичес кие перчатки, размер М, 100 пар/уп	790,00	1	7,90	288	2275,20
Маска медицинская 3-х слойная одноразовая, 50 шт/уп	1600,00	1	32,00	288	9216,00
Шапочка «Шарлотта», нетканая, 100 шт/уп	300,00	1	3,00	288	864,00
Салфетки медицинские проспиртован ные, 100 шт/уп	250,00	1	2,50	288	2160,00
Микроцентри фужные	772,00	1	1,54	288	443,52

градуированные пробирки, 1,5 мл, Мексика, 500 шт					
Наконечники универсальные 200 мкл (Ахуген, США), 1000 шт/уп	856,00	6	5,14	2+ 4*288	5931,56
Наконечники универсальные 1000 мкл (Ахуген, США), 1000 шт/уп	920,00	10	9,20	10	92,00
Набор реагентов для определения Эндотелина 1-21, 88 определений	82168,02	1	855,92	4 набора	328672,08
Определение уровня ангиотензина II					
Пробирки с ЭДТА, VASUETTE, пластик, 50 шт/уп	634,70	1	12,68	288	3651,84

Игла двусторонняя стандартная для вакуумных пробирок, 100 шт/уп	1520,00	1	15,20	288	4377,60
Переходник многоразовый для вакуумных пробирок, 50 шт/уп	650,00	1	13,00	288	3744,00
Латексные диагностичес кие перчатки, размер М, 100 пар/уп	790,00	1	7,90	288	2275,20
Маска медицинская 3-х слойная одноразовая, 50 шт/уп	1600,00	1	32,00	288	9216,00
Шапочка «Шарлотта», нетканая, 100 шт/уп	300,00	1	3,00	288	864,00
Салфетки медицинские проспиртован	250,00	1	2,50	288	2160,00

ные, 100 шт/уп					
Микроцентрифужные градуированные пробирки, 1,5 мл, Мексика, 500 шт	772,00	1	1,54	288	443,52
Наконечники универсальные 200 мкл (Ахуген, США), 1000 шт/уп	856,00	5	4,28	5*288	6163,20
Наконечники универсальные 1000 мкл (Ахуген, США), 1000 шт/уп	920,00	5	4,60	5	23,00
Набор реагентов для определения ангиотензина II «Assay Max Human Angiotensin II ELISA Kit» группы «BCM	44538,51	1	506,11	4 набора	178154,04

Биохиммак», 88 определений					
Типирование полиморфизма A1166C гена AGT2R1					
Пробирки с ЭДТА, VACUETTE, пластик, 50 шт/уп	634,70	1	12,68	288	3651,84
Игла двусторонняя стандартная для вакуумных пробирок, 100 шт/уп	1520,00	1	15,20	288	4377,60
Переходник многоразовый для вакуумных пробирок, 50 шт/уп	650,00	1	13,00	288	3744,00
Латексные диагностичес кие перчатки, размер М, 100 пар/уп	790,00	1	7,90	288	2275,20
Маска медицинская 3-х слойная	1600,00	1	32,00	288	9216,00

одноразовая, 50 шт/уп					
Шапочка «Шарлотта», нетканая, 100 шт/уп	300,00	1	3,00	288	864,00
Салфетки медицинские проспиртован ные, 100 шт/уп	250,00	1	2,50	288	2160,00
Наконечник 10 мкл с фильтром, 1000 шт	5800,00	8	46,40	4+ 4*288	53638,40
Наконечник 200 мкл с фильтром, 1000 шт	5800,00	10	58	10	580,00
Наконечник 1000 мкл с фильтром, 1000 шт	6200,00	4	24,80	4	99,20
Микроцентри фужные градуированн ые пробирки, 1,5 мл, Мексика, 500 шт	772,00	2	3,09	288*2	1779,84

Пробирки Эппендорф 0,2 мл, 1000 шт	3500,00	2	7,00	288*2	4032,00
Крышки к пробиркам стрипованны м по 6 шт.	17,00	2	5,67	288*2	3265,92
Набор реагентов для выделения ДНК из ядер лейкоцитов ДНК- ЭКСПРЕСС- плюс, 100 реакций	2150,00	1	21,50	3 набора	6450,00
Набор реагентов для выявления полиморфизм ов в генах SNP- ЭКСПРЕСС- КАРДИОГЕН ЕТИКА, 100 реакций	9300,00	1	93,00	3 набора	27900,00

Себестоимость проведения 288 анализов составила 1081808,22 руб.