

ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНО-ЗНАЧИМОГО ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ACE И СОЦИО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДОЛГОЖИТЕЛЕЙ КБР

Кумыкова З.Ю., Аджиева А.Х., Биттуева М.М., Боготова З.И., Гидова Э.М., Паритов А.Ю., Ситников М.Н., Хандохов Т.Х.

ГОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова», Нальчик, e-mail: zalina_bogotova@mail.ru

Исследования последних лет подтверждают, что потенциально важными факторами, оказывающими влияние на продолжительность жизни, являются генетические полиморфизмы, связанные с работой различных систем органов. К группе таких генетических факторов можно отнести гены ренин-ангиотензин-альдостероновой системы. Проведен анализ Alu-инсерционного полиморфизма гена ACE в популяционной выборке долгожителей КБР, а также средовых факторов, оказывающих влияние на продолжительность жизни. Анализ I/D-полиморфизма гена ACE у долгожителей КБР показал, что с наибольшей частотой в общей выборке выявлен генотип I/D (48,9 %), генотипы I/I и D/D обнаружены, примерно, с одинаковыми частотами (26 % и 25 % соответственно). Не было выявлено достоверных отличий частот генотипов гена ACE между женщинами и мужчинами-долгожителями. Социально-физиологическое обследование долгожителей КБР показало, что у 49,15 % женщин долгожителей имелись случаи долголетия в роду. В структуре хронических заболеваний встречалась гипертензия (7,29 %), диабет (3,12 %) и перенесенный инфаркт (1,04 %) и не отмечено старческого слабоумия. Значения частот генотипов гена ACE у долгожителей КБР близки к величинам, характерным для других регионов России и стран Западной Европы и отличаются от Японии и стран Южной Европы. Дальнейшее увеличение выборки может привести к изменению статистических данных, на основании которых можно будет сделать окончательные выводы о факторах, в том числе генетических, влияющих на активное долголетие популяционной выборки из Кабардино-Балкарской Республики.

Ключевые слова: генетические факторы, средовые факторы, долголетие, ACEI/D полиморфизм, продолжительность жизни, Кабардино-Балкария.

STUDY OF THE FUNCTIONALLY IMPORTANT POLYMORPHISM OF THE ACE GENE AND THE SOCIO-PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE LONG-LIVED HUMAN IN KBR

Kumykova Z.Yu., Adjieva A.H., Bittueva M.M., Bogotova Z.I., Gidova E.M., Paritov A.Yu., Sitnikov M.N., Handohov T.H.

Kabardino-Balkarian State University n.a. H.M. Berbekov, Nalchik, e-mail: zalina_bogotova@mail.ru

Recent research confirms that potentially important factors that affect longevity are genetic polymorphisms associated with the operation of various organ systems. The genes of the renin-angiotensin-aldosterone system. The analysis of Alu-insertion polymorphism of the ACE gene in a population sample of CBD longevity, as well as environmental factors influencing life expectancy, is carried out. Analysis of the I / D polymorphism of the ACE gene in long-lived CBD showed that the genotype I / D (48.9 %) was detected with the greatest frequency in the general sample, the I / I and D / D genotypes were found approximately at the same frequencies (26 % and 25 % respectively). There were no significant differences in the frequency of genotypes of the ACE gene between women and men who live long. Socio-physiological examination of centenarians of the CBD showed that 49.15 % of long-lived women had longevity in the family. In the structure of chronic diseases, there was hypertension (7.29 %), diabetes (3.12 %) and a previous infarction (1.04%) and no senile dementia. The frequencies of genotypes of the ACE gene in long-lived CBD are close to those typical for other regions of Russia and Western Europe and differ from Japan and the countries of Southern Europe. Further increase in the sample may lead to a change in the statistical data, on the basis of which it will be possible to draw definitive conclusions about the factors, including genetic ones, that affect the active longevity of the population sample from the Kabardino-Balkarian Republic.

Keywords: genetic factors, environmental factors, longevity, ACE I/Dpolymorphism, life expectancy, Kabardino-Balkaria.

Старение населения становится сложной проблемой во всем мире, поэтому исследования в области здорового старения являются одним из важнейших приоритетов [1].

Этот процесс характеризуется снижением множественных физиологических функций, приводящих к увеличению вероятности смерти. Некоторые изменения, связанные со старением, влияют на внешний вид, такие как морщинистая кожа и седые волосы, в то время как другие влияют на функцию органа, такие как снижение скорости фильтрации почек и снижение мышечной силы. Старение также является основным фактором риска большинства заболеваний человека, включая сердечные заболевания и рак.

По статистике, начиная с середины 19 века, средние показатели продолжительности жизни увеличивались устойчивыми темпами почти на три месяца в год у мужчин и женщин [2]. Первоначально данное явление, вероятно, связано с уменьшением смертности среди несовершеннолетних за счет лечения инфекционных заболеваний [3]. Во второй же половине двадцатого столетия наблюдалось улучшение выживаемости после 65 лет, частично благодаря постепенному совершенствованию лечения заболеваний, ассоциированных со старением, что способствовало увеличению продолжительности жизни [4]. Обнаружение различий генетического характера у долгожителей и респондентов средней возрастной группы имеет немаловажное значение в понимании процесса старения. ВОЗ сообщает, что теоретически ожидаемая продолжительность здоровой жизни (промежуток времени, в течение которого наблюдается хорошее состояние здоровья) детей, родившихся в 2015 году в мировом масштабе, равна в среднем 63,1 годам (64,6 лет для девочек и 61,5 лет для мальчиков) [5].

Наследственность вместе с окружающей средой являются основными компонентами путей здорового старения, в связи с этим получение знаний о генетическом компоненте может помочь разобраться в этом вопросе [6]. Поскольку основными причинами смертности выступают сердечно-сосудистые заболевания, то изучение генетической природы этих патологий имеет особо важное значение [7]. Одним из таких генов-кандидатов, способствующих увеличению продолжительности жизни, является ген *ACE*, кодирующий ангиотензин-превращающий фермент (АПФ). Ангиотензин-превращающий фермент играет важную роль в двух физиологических системах: одна ведет к получению ангиотензина II, а другая – к деградации брадикинина. Широкое распространение и многофункциональные свойства этих пептидов предполагают, что *ACE* может участвовать в различных патофизиологических условиях [8].

ACE – один из самых хорошо изученных генов-кандидатов, открытие которого начало новую эру в генетических исследованиях. Было показано, что ген *ACE* содержит полиморфизм, основанный на наличии (инсерция I) или отсутствии (делеция D) *Alu*-повтора, размер которого составляет 289 пар оснований [9]. Полиморфизм находится в интроне 16, так что сам *ACE* не отличается по генотипу, но полиморфизм составляет 47 % от общей

фенотипической вариабельности АПФ в сыворотке крови. Генотип *ACE* классифицируется на три типа: делеции-гомозиготы *D/D*, инсерции-гомозиготы *I/I* и гетерозиготы *I/D*. Уровень АПФ в сыворотке крови у человека с генотипом *D/D*, как сообщается, примерно в два раза больше, чем у человека с генотипом *I/I*. Что касается *D/I*, то этот генотип является промежуточным. Считается, что наличие в организме человека аллеля *D* является генетическим фактором риска таких старческих патологий как инфаркт миокарда, синдром Альцгеймера, расширенная кардиомиопатия, ишемическая болезнь сердца, гипертрофия левого желудочка и нефропатия [10].

Одной из ведущих проблем современного общества является активное здоровое старение. Среди регионов, широко известных во всем мире своими долгожителями, можно выделить Японию (о-в Окинава), Китай (горы Тибета, провинция Бама), Италию (о-в Сардиния), Грецию (о-ва Икарция, Родос), Коста-Рика (п-ов Никоя), Кубу (провинция Вилья Клара), Северный Кавказ, а также горные районы Абхазии и Грузии и др. [11]. Поэтому представляется актуальным изучение комплекса генов долголетия и продолжительности жизни.

В связи с этим наши исследования направлены на анализ аллельного полиморфизма геронтогена *ACE* у долгожителей КБР.

Материалы и методы

Для проведения настоящего исследования был произведен сбор образцов крови и буккального соскоба жителей КБР, достигнувших 80-летнего возраста в ходе экспедиционных выездов и в Республиканском Геронтологическом Реабилитационном Центре. В процессе работы был создан банк биологического материала: цельная кровь и ДНК долгожителей, проживающих на территории Кабардино-Балкарской республики (96 человек, от 80 до 104 лет, средний возраст $87,3 \pm 0,47$ года).

Исследуемый биологический материал – венозная периферическая кровь и буккальный соскоб. Забор клинического материала для исключения контаминации проводили с помощью стерильных одноразовых пробирок BD Vacutainer K2 EDTA объемом 9 мл. Выделение ДНК проводилось из лимфоцитов периферической венозной крови вручную с помощью набора «QIAmpDNAbloodMiniKit» (производитель «Qiagen», Германия) и комплекта реагентов для выделения ДНК из буккального соскоба («Литех», Москва).

Генотипирование выполнено методом аллель-специфичной ПЦР. Процесс амплификации осуществляется с использованием наборов GenePak™ PCR Core (ООО «Лаборатория Изоген», Москва). Ожидаемые продукты реакции – аллели *I* и *D*, 480 п.н. и 190 п.н, соответственно. Разделение продуктов амплификации проводили в 2 % агарозном геле. Интеркалирующий агент – этидия бромид. Разделение фрагментов ДНК по длине проведено

в горизонтальном аппарате для электрофореза Mini-SabCell (Bio- Rad, США). Данные анализировали с помощью аналитической системы Био-Док-Ит М-26Х при облучении геля УФ-излучением с длиной волны 290–330 нм.

Результаты и их обсуждение

В нашей работе проведено изучение Alu-инсерционного полиморфизма гена *ACE* у 96 неродственных индивидов, представляющих группу долгожителей, проживающих на территории Кабардино-Балкарской Республики.

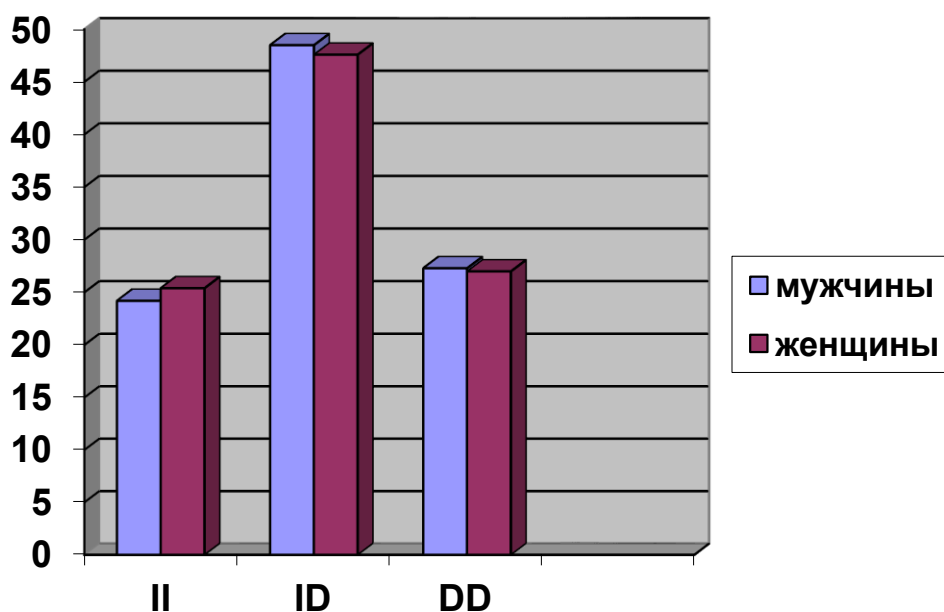
В результате генотипирования *I/D*-полиморфизма гена *ACE* у долгожителей КБР было выявлено, что с наибольшей частотой в общей выборке выявлен генотип *I/D* (48,9 %), генотипы *I/I* и *D/D* обнаружены, примерно, с одинаковыми частотами (26 % и 25 % соответственно). Полученные нами результаты мы сравнили с литературными данными по другим популяциям мира. Было выявлено, что значения частот генотипов гена *ACE* у долгожителей КБР близки к величинам, характерным для других регионов России и стран Западной Европы, и отличаются от таковых в Японии и стран Южной Европы (таблица 1) [12-14].

Таблица 1

Частоты генотипов по полиморфизму *I/D* гена *ACE* в популяциях некоторых народов мира

Популяции	N, абс.	Частота генотипов по гену <i>ACE</i> , %		
		<i>I/I</i>	<i>I/D</i>	<i>D/D</i>
Долгожители КБР	96	26	48,9	25,1
Северо-Запад России	112	23,2	52,7	24,1
Германия	349	20,6	45,6	33,8
Дания	185	22,6	51,3	26,4
Италия	151	12,6	47	40,4
Испания	117	13,7	49,6	36,7
Япония	1245	45	45	10
Англия	111	19,8	43,2	37,0
Франция	560	18,4	46,6	35,0

Также был проведен сравнительный анализ частот генотипов и аллелей гена *ACE* у мужчин и женщин из группы долгожителей (рисунок).



Гендерное распределение генотипов по гену ACE в группе долгожителей КБР

Проведенный анализ показал, что различий по частотам аллелей и генотипов у мужчин и женщин в исследуемой выборке не наблюдается. На рисунке видно, что частота генотипа *II* у мужчин (24,2 %) практически не отличается от женщин (25,4 %) ($\chi^2=1,13$; $p < 0,05$). По генотипам *ID* и *DD* наблюдается такая же картина ($\chi^2=0,539$; $p < 0,05$, $\chi^2=1,06$; $p < 0,05$, соответственно).

Таким образом, проведенный анализ не позволил выявить существенных отличий частот аллелей и генотипов у долгожителей КБР в сравнении с популяционными выборками из регионов России и Западной Европы.

В самой группе долгожителей КБР выявлено увеличение частоты генотипа *ID* по гену *ACE* по сравнению с другими генотипами. По литературным данным гетерозиготность по гену *ACE* можно рассматривать как наследственный фактор и ассоциировать его с долгожительством. У обладателей генотипа *D/D* отмечены низкие шансы достижения возраста долгожительства. В мире прослеживаются этногеографические различия в распределении частот аллелей по полиморфизму *I/D* гена *ACE*. Наиболее выражены различия по частотам генотипов между западно-евразийскими и восточно-евразийскими популяциями. Исследователями был отмечен рост встречаемости инсерционного аллеля *I* у мужчин в старших возрастных группах (более 90 лет). В связи с этим можно предположить, что для мужского населения роль *I*-аллель является возможной генетической основой долголетия. В нашем исследовании не было выявлено достоверных отличий частот генотипов гена *ACE* между женщинами и мужчинами-долгожителями.

Таким образом, полученные нами результаты являются промежуточными. Дальнейшее расширение выборки и анализ возрастной динамики позволит сделать выводы о роли гена *ACE* в достижении активного долголетия.

Было также проведено социально-физиологическое обследование 96 долгожителей КБР, среди них 37 мужчин (38,5 %) и 59 женщин (61,4 %).

Все исследуемые долгожители родились и всю свою жизнь проживают на территории КБР. На наш взгляд, отсутствие постоянной миграции, смены климатических поясов является важным фактором, определяющим долголетие.

По медико-демографическим параметрам типичным долгожителем в нашем исследовании оказалась женщина, средний возраст которой составляет 92,4 лет, получившая начальное образование, 31,5 год проработавшая в сельском хозяйстве и вышедшая на пенсию по собственному желанию. Факт преобладания женщин среди людей старших возрастных групп известен, в этом отношении наше исследование не стало исключением.

Известно, что жители сельской местности в среднем живут на 5 лет больше горожан. Существенной этно-психической особенностью образа жизни долгожителей КБР является большая патриархальная семья. Это характерно также для всех ранее изученных групп долгожителей Кавказа (азербайджанцев и абхазов), которые проживают именно в таких семьях, и только 1 % долгожителей – одиноки.

При опросе долгожителей КБР установлено, что большинство из них имеют неполное среднее образование, как среди мужчин (89,8 %), так и среди женщин (93,5 %).

В настоящее время активно изучаются семейные случаи долголетия в связи с доказанным влиянием наследственности на продолжительность жизни. В исследуемой нами группе долгожителей КБР у 49,15 % женщин долгожителей имелись случаи долголетия в роду, а у мужчин этот показатель составляет 45,9 % (табл. 2). Частота встречаемости наследственного фактора, по нашему мнению, могла быть выше, поскольку не все долгожители помнили всю информацию о своих родственниках.

Частота встречаемости наследственного фактора, по нашему мнению, могла быть выше, поскольку не все долгожители помнили всю информацию о своих родственниках.

Таблица 2

Анализ распределения факторов активного долголетия у долгожителей КБР

Группа	N, чел.	Средний возраст (лет)	Наследственное долголетие,%	Физическая активность и самообслуживание, %
Долгожители	96	87,3	47,9	97,0
Мужчины	37	87,62	45,9	100,0
Женщины	59	87,08	49,15	96,6

На момент обследования в структуре хронических заболеваний, характерных для пожилого возраста, в группе долгожителей КБР наиболее часто встречалась гипертензия (7,29 %), диабет (3,12 %) и перенесенный инфаркт (1,04 %). И ни у одного из долгожителей не отмечено старческого слабоумия. В группе мужчин частота случаев диабета оказалась выше, чем у женщин. Параметры, соответствующие степени физической активности и степени самообслуживания, оказались также различны у долгожителей разного пола. В нашем исследовании в группе мужчин-долгожителей все респонденты (100 %) сохранили самообслуживание в полном объеме и были физически активны на момент исследования. Полученные нами данные подтверждают положительное влияние отсутствия вредных привычек (табакокурения и употребления алкоголя) на продолжительность и качество жизни долгожителей КБР.

Вклад в механизм формирования долголетия, несомненно, вносят особенности традиционного стереотипа питания долгожителей. Особенности питания в ранее изученных популяциях Абхазии и Азербайджана и в группе долгожителей КБР указывают на общебиологическую закономерность роли питания в реализации программы здоровья и длительности жизни человека.

Пища исследуемой группы – низкокалорийная. Высокое содержание в ней своеобразных кисломолочных и растительных продуктов. Использование в рационе острых приправ и специй, который способствует нормализации липидного обмена, снижению АД, свертываемости крови, участвует в терморегуляции. То есть пища лишена практически всех основных алиментарных факторов риска развития патологии, развивающейся с возрастом и отвечающей современным требованиям геродиетики.

Таким образом, наши исследования показывают, что мужчины-долгожители КБР имеют повышенную взаимосвязь параметра физической активности и долголетия. Не наблюдается достоверных различий частоты наследственного долголетия между женщинами и мужчинами. Полученные данные являются промежуточными, поскольку дальнейшее увеличение выборки может привести к изменению статистических данных, на основании которых можно будет сделать окончательные выводы о факторах, в том числе генетических, влияющих на активное долголетие жителей Кабардино-Балкарской Республики.

Список литературы

1. Kulminski A.M. et al. Polymorphisms in the ACE and ADRB2 genes and risks of aging-associated phenotypes: the case of myocardial infarction // Rejuvenation research. – 2010. – Vol.

13. №. 1. – P. 13-21.
2. Oeppen J., Vaupel J. W. Broken limits to life expectancy // *Science*. – 2002. – Vol. 296. №. 5570. – P. 1029-1031.
3. Wheeler H.E., Kim S.K. Genetics and genomics of human ageing // *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*. – 2011. – Vol. 366. №. 1561. – P. 43-50.
4. Wilmoth J. R. The future of human longevity: A demographer's perspective // *Science*. – 1998. – Vol. 280. №. 5362. – P. 395-397.
5. Всемирная организация здравоохранения. Центр СМИ: Выпуск новостей [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2016/health-inequalities-persist/ru/> (дата обращения: 01.03.17).
6. Franco O.H., Karnik K., Osborne G., Ordovas J.M., Catt M. van der Ouderaa F. Changing course in ageing research: The healthy ageing phenotype // *Maturitas*. – 2009. – № 63. – P. 13–19.
7. Schachter F. et al. Genetic associations with human longevity at the APOE and ACE loci // *Nature genetics*. – 1994. – Vol. 6. №. 1. – P. 29-32.
8. Saddick S.Y. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism studies: A case-control study // *Saudi journal of biological sciences*. – 2015. – Vol. 22. №. 3. – P. 327-331.
9. Smith A.H. et al. A Common Angiotensin-Converting Enzyme (ACE) Polymorphism and Preoperative ACE Inhibition Modify Risk of Tachyarrhythmias After Congenital Heart Surgery // *Heart rhythm: the official journal of the Heart Rhythm Society*. – 2014. – Vol. 11. №. 4. – P. 637.
10. Пушкарева А.Э., Хусаинова Р.И., Валиев Р.Р., Арутюнов Г.П., Хуснутдинова Э.К. Роль полиморфных вариантов гена ангиотензин-превращающего фермента (ACE) в формировании различных типов ремоделирования миокарда у больных хронической сердечной недостаточностью. // *Медицинская генетика*. – 2016. – № 6. – С. 11-18.
11. Калачикова О.Н. и др. Факторы активного долголетия: итоги обследования вологодских долгожителей // *Экономические и социальные перемены: факты, тенденции, прогноз*. – 2016. – №. 5 (47). – С.76-94.
12. Спивак Д.Л., Сейлиева Н.А., Смирнова Т.Ю., Новак М.С., Захарчук А.Г., Спивак И.М. Психологические состояния в популяции долгожителей северо-западного региона Российской Федерации и полиморфизма гена ангиотензин-превращающего фермента /Д.Л. Спивак и [др.] // *Ученые записки СПбГМУ им. академика И.П. Павлова*. – 2009. – 16(4). – С.111–114.

13. Matsubara M., Suzuki M., Fujiwara T., Kikuya M., Metoki H., Michimata M., Araki T., Kazama I. Angiotensin-converting enzyme I/D polymorphism and hypertension: the Ohasama study // *J. Hypertens.* – 2002. – Vol. 20. № 6. – P. 1121-1126.
14. Petranovic M., Skaric-Juric T., Narancic N., Tomas Z., Kajacic P., Milicic M., Barbalic M., Tomek-Roksandic S. Angiotensin-converting enzyme deletion allele is beneficial for the longevity of Europeans // *AGE.* – 2012. – № 34. – P. 583–595.