

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра биохимии

ПОТАПЕЙКО
Сергей Александрович

Влияние полиморфизма генов CYP11B1/B2 на функционирование ренин-ангиотензин-альдостероновой системы

Дипломная работа

Научный руководитель:
кандидат химических наук,
ст. научный сотрудник
Гайдукевич И.В.

Допущена к защите

« ____ » ____ .2020 г.
Зав. кафедрой биохимии
кандидат биологических наук,
_____ Семак И.В.

Минск, 2020

РЕФЕРАТ

Дипломная работа, 40 страниц, 14 рисунков, 8 таблиц, 29 источников.

РЕНИН-АНГИОТЕНЗИН-АЛЬДОСТЕРОНОВАЯ СИСТЕМА, CYP11B1, CYP11B2, ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОЛИМОРФИЗМЫ, ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ, ГИПЕРАЛЬДОСТЕРОНИЗМ.

Объект исследования: ДНК людей с предполагаемыми полиморфизмами генов *CYP11B1* и *CYP11B2*.

Цель исследования: разработка методик на основе ПЦР-анализа для определения некоторых полиморфизмов генов *CYP11B1* и *CYP11B2*, которые впоследствии можно применять для дифференциальной диагностики причин гиперальдостеронизма и других нарушений функционирования РААС.

Методы исследования: молекулярно-биологические, аналитические.

В результате проведенного литературного обзора выяснено, что ренин-ангиотензион-альдостероновая система (РААС) влияет на постоянство объема крови человека и на концентрацию в ней ионов калия и натрия. Полиморфизмы генов *CYP11B1* и *CYP11B2* могут вызывать нарушения функционирования РААС на генетическом уровне, что является одной из причин возникновения артериальной гипертензии. Если происходит химеризм генов *CYP11B1/B2*, то индукция такого химерного гена, кодирующего ферменты биосинтеза альдостерона, будет происходить под контролем АКТГ, а не ангиотензина 2, что нарушает нормальное функционирование РААС. В случае полиморфизма -344 Т/С гена *CYP11B2* может произойти изменение ответа гена *CYP11B2* на стероидогенный фактор транскрипции (SF-1), потому что аллель С связывает SF-1 сильнее, чем аллель Т, приводя к усилению продукции альдостерона, что в свою очередь связано с артериальной гипертонией, а также с фиброзом и гипертрофией миокарда и с риском гипертензивных осложнений беременности.

Были подобраны системы олигонуклеотидных праймеров и проведена оптимизация их условий для детекции химеризма генов *CYP11B1* и *CYP11B2* и полиморфизма -344Т/С гена *CYP11B2* методом полимеразной цепной реакции. Эффективность системы, разработанной для идентификации полиморфизма -344Т/С гена *CYP11B2* была доказана путем тестирования на образцах ДНК8 различных людей, что означает, что данная система может быть использована в лабораторной практике.

Область применения результатов исследования: биохимия, генетика, молекулярная биология, медицина.

РЭФЕРАТ

Дыпломная праца, 40 старонак, 14 малюнкаў, 8 табліц, 29 крыніц.

РЭНІН-АНГІЯТЭНЗІН-АЛЬДАСТЭРОНАВАЯ СІСТЭМА, *CYP11B1*, *CYP11B2*, ГЕНЕТЫЧНЫЯ ПАЛІМАРФІЗМЫ, ПАЛІМЕРАЗНАЯ ЛАНЦУГОВАЯ РЭАКЦЫЯ, ГІПЕРАЛЬДАСТЭРАНІЗМ.

Аб'ект даследавання: ДНК людзей з меркаванымі палімарфізмамі генаў *CYP11B1* і *CYP11B2*.

Мэта даследавання: распрацоўка метадык на аснове ПЦР-аналізу для вызначэння некаторых палімарфізмаў генаў *CYP11B1* і *CYP11B2*, якія пасля можна ўжываць для дыферэнцыяльнай дыягностыкі прычын гіперальдостеронізма і іншых парушэнняў функцыянавання РААС.

Метады даследавання: малекулярна-біялагічныя, аналітычныя.

У выніку праведзенага літаратурнага агляду высветлена, што рэнін-ангіятэнзін-альдастэроновая сістэма (РААС) уплывае на сталасць аб'ёму крыві чалавека і на канцэнтрацыю ў ёй іёнаў калія і натрыя. Палімарфізмы генаў *CYP11B1* і *CYP11B2* могуць выклікаць парушэнні функцыянавання РААС на генетычным узроўні, што з'яўляецца адной з прычын узнікнення артэрыяльнай гіпертэнзіі. Калі адбываецца хімерызм генаў *CYP11B1/B2*, то індукцыя такога хімернага гена, які кадуе ферменты біясінтэзу альдастэрона, будзе адбывацца пад кантролем АКТГ, а не ангіятэнзіна 2, што парушае нармальнае функцыянаванне РААС. У выпадку палімарфізму -344Т/С гена *CYP11B2* можа адбыцца змена адказу гена *CYP11B2* на стероідагенны фактар транскрыпцыі (SF-1), таму што алель С звязвае SF-1 мацней, чым алель Т, прыводзячы да ўзмацнення прадукцыі альдастэрона, што ў сваю чаргу звязана з артэрыяльнай гіпертаніяй, а таксама з фібразам і гіпертрафіяй міякарда і з рызыкай гіпертензіўных ускладненняў цяжарнасці.

Былі распрацаваны сістэмы алігануклеатыдных праймераў і праведзена аптымізацыя ўмоў ампліфікацыі для дэтэкцыі хімерызма генаў *CYP11B1* і *CYP11B2* і палімарфізму -344Т/С гена *CYP11B2* метадам палімеразнай ланцуговай рэакцыі. Эфектыўнасць сістэмы, распрацаванай для ідэнтыфікацыі палімарфізму -344 Т / С гена *CYP11B2* была даказана шляхам тэставання на узорах ДНК 8 розных людзей, што азначае, што дадзеная сістэма можа быць выкарыстана ў лабараторнай практыцы.

Вобласць прымянення вынікаў даследавання: біяхімія, генетыка, малекулярная біялогія, медыцына.

ABSTRACT

Graduate work, 40 pages, 14 figures, 8 tables, 29 sources.

RENIN-ANGIOTENSIN-ALDOSTERONE SYSTEM, CYP11B1, CYP11B2, GENETIC POLYMORPHISMS, POLYMERASE CHAIN REACTION, HYPERALDOSTERONISM.

Object of study: DNA of people with estimated polymorphisms of the *CYP11B1* and *CYP11B2* genes.

Objective of study: development of methods based on PCR analysis to determine certain polymorphisms of the *CYP11B1* and *CYP11B2* genes, which can subsequently be used for the differential diagnosis of the causes of hyperaldosteronism and other impaired functioning of the RAAS.

Research methods: molecular biological, analytical.

As a result of a literature review, it was found that the renin-angiotension-aldosterone system (RAAS) affects the constancy of human blood volume and the concentration of potassium and sodium ions in it. Polymorphisms of the *CYP11B1* and *CYP11B2* genes can cause impaired functioning of the RAAS at the genetic level, which is one of the causes of arterial hypertension. If the chimerism of the *CYP11B1/B2* genes occurs, then the induction of such a chimeric gene encoding aldosterone biosynthesis enzymes will occur under the control of ACTH rather than angiotensin 2, which disrupts the normal functioning of the RAAS. In the case of the -344 T / C polymorphism of the *CYP11B2* gene, a change in the response of the *CYP11B2* gene to the steroidogenic transcription factor (SF-1) may occur, because the C allele binds SF-1 more strongly than the T allele, leading to an increase in aldosterone production, which is associated with arterial hypertension, as well as with fibrosis and myocardial hypertrophy and with the risk of hypertensive pregnancy complications.

Systems of oligonucleotide primers were selected and their conditions were optimized for detecting the chimerism of the *CYP11B1* and *CYP11B2* genes and the -344 T / C polymorphism of the *CYP11B2* gene by polymerase chain reaction. The effectiveness of the system designed to identify the -344 T / C polymorphism of the *CYP11B2* gene was proven by testing on DNA samples of 8 different people, which means that this system can be used in laboratory practice.

Scope of the research results: biochemistry, genetics, molecular biology, medicine.