

Жолдошов К.Ы.

## ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА АНГИОТЕНЗИН-ПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА И ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВНУТРИПОЧЕЧНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ У БОЛЬНЫХ ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТОНИЕЙ

Носительство DD-генотипа гена ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) при эссенциальной артериальной гипертензии (ЭАГ) несмотря на прием ингибиторов АПФ приводит к нефросклерозу.

**Ключевые слова:** эссенциальная артериальная гипертензия, эналаприл, полиморфизм гена ангиотензин-превращающего фермента, триплексное сканирование сосудов почек.

*The carriage of DD-genotype of gene angiotensin-converting enzyme (ACE) at essential hypertension not looking at reception of inhibitors ACE leads to a nephrosclerosis.*

**Keywords:** essential hypertension, enalapril, polymorphism of gene angiotensin-converting enzyme, triplex scanning of vessels of kidneys.

В настоящее время ЭАГ является самым распространенным хроническим заболеванием в мире. Частота ее составляет от 27 до 55% среди населения разных стран. В Кыргызской Республике ЭАГ выявляется у 38,4% лиц старше 18 лет [1]. Результаты исследований последних лет убедительно показали, что активное лечение ЭАГ позволяет снизить общую смертность (на 30–45%) и смертность от сердечно-сосудистых заболеваний (на 35–40%), а также частоту развития инсульта (на 40–60%) и инфаркта миокарда (на 30–50%) [2].

Другой особенностью ЭАГ является неуклонное увеличение (почти втрое с 1982 по 1995 г.) частоты развития терминальной стадии почечных заболеваний и недостаточности кровообращения. В США и странах Западной Европы ЭАГ уже выступает причиной развития терминальной почечной недостаточности (ТПН) в 15–20% случаев, а по некоторым данным – до 30%. По наблюдениям Ю.Б. Белоусова, в России гипертоническая почка приводит к формированию хронической почечной недостаточности (ХПН) у 18–19% больных [3].

Традиционные лабораторные методы оценки функционального состояния почек становятся достаточно информативными лишь в том случае, когда нефункционирующими оказываются уже 60–70% нефронов. В связи с этим вопросы разработки методов ранней диагностики и лечения поражения почек при ЭАГ приобретают особое значение. Так, в последние годы серьезно исследуется внутривисочечная гемодинамика при заболеваниях почек различного генеза (диабет, гломерулонефрит, урологические заболевания). В большинстве научных работ предпочтение отдается изучению углозависимых доплерометрических параметров: индекса резистентности (RI) и пульсационного индекса (PI) [4]. При этом встречаются лишь единичные работы, посвященные изучению внутривисочечной гемодинамики у больных ЭАГ, данные которых порой весьма противоречивы.

Изучение гена АПФ, относящегося к ренин-ангиотензин-альдостероновой системе (РААС), у

больных ЭАГ перспективно, так как РААС играет ведущую роль в патогенезе повышения артериального давления (АД) и повреждения почечных сосудов. В то же время нет работ, посвященных анализу изменений гемодинамики почек при ЭАГ с учетом полиморфизма гена АПФ в популяции людей кыргызской национальности.

**Целью** работы явилось изучение влияния эналаприла на показатели внутривисочечной гемодинамики у больных эссенциальной артериальной гипертензией (ЭАГ) в зависимости от полиморфизма гена ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) в кыргызской популяции.

### Материал и методы исследования

Обследованы 83 пациента (44 мужчины и 39 женщины) с ЭАГ в возрасте от 18 до 64 лет (средний возраст –  $41,48 \pm 1,25$  лет). Длительность АГ составила в среднем  $57,10 \pm 6,08$  месяцев. На момент обследования уровень систолического артериального давления равнялся в среднем  $161,0 \pm 3,20$  мм рт. ст., а диастолического –  $100,39 \pm 1,85$  мм рт. ст. Распределение больных по степени АГ (в соответствии с классификацией ВОЗ) представлено в табл. 1.

Таблица 1

#### Характеристика больных в зависимости от степени артериальной гипертензии

Степень артериальной гипертензии	Количество больных (n=83)	% от общего количества больных
I (менее 160/100 мм рт. ст.)	13	15,66
II (160/100–180/110 мм рт. ст.)	19	22,89
III (более 180/110 мм рт. ст.)	51	61,45

Из табл. 1 следует, что свыше половины пациентов имели тяжелую степень АГ.

Таблица 2

#### Клиническая характеристика больных ЭАГ и контрольной группы

Показатель	Больные с ЭАГ (n=83)	Контрольная группа (n=30)
Соотношение муж : жен	44 : 39	16 : 14
Возраст (лет)	$41,48 \pm 1,25$	$37,97 \pm 2,89$
САД (мм рт. ст.)	$161,0 \pm 3,20$	$121,33 \pm 2,57$
ДАД (мм рт. ст.)	$100,39 \pm 1,85$	$77,20 \pm 1,55$
ЧСС (ударов в мин.)	$74,87 \pm 0,94$	$72,30 \pm 1,28$
Давность АГ (мес.)	$57,10 \pm 6,08$	–

Все пациенты получали ингибиторы АПФ – эналаприл, в дозе от 5 до 40 мг в зависимости от уровня АД. При не достижении целевого уровня АД, т.е. ниже чем 140/90 мм рт. ст. к лечению добавлялись препараты из групп β-блокаторов, антагонистов кальциевых каналов и/или диуретиков. За больными наблюдали в течение 5 лет.

В группу контроля вошли 30 практически здоровых лиц в возрасте от 20 до 67 лет, сопоставимых по полу и возрасту с больными ЭАГ (табл. 2).

Обследование пациентов включало: общеклинические анализы крови и мочи; пробу Нечипоренко; биохимические исследования сыворотки крови с измерением концентрации общего белка и его фракций, электролитов, глюкозы, креатинина, мочевой кислоты, общего холестерина, липопротеидов, трансаминазы; показатели, отражающие функциональное состояние почек (микроальбуминурия с помощью стандартной тест-полоски, суточная протеинурия и экскреция мочевой кислоты, скорость клубочковой фильтрации (СКФ), определенная по пробе Реберга-Тареева и/или рассчитанная по формуле Кокрофта-Гольта); электрокардиографию (ЭКГ), эхо-кардиографию (ЭХО-КГ), УЗИ и триплексное сканирование сосудов почек.

Критериями исключения пациентов из исследования служили наличие у них: вторичных форм артериальной гипертензии, сахарного диабета, гемодинамически значимых нарушений ритма, сердечной недостаточности II-IV функционального класса по NYHA и печеночной патологии.

Ультразвуковые исследования почек проводились на сканерах Acuson Sequoia 512 (Япония) с использованием конвексных и фазированных датчиков с частотами 2,5–5,0 МГц. Комплексное исследование осуществлялось в режиме триплексного сканирования с использованием импульсволновой доплерографии, режимов цветового и энергетического кодирования. Исследовались магистральные и интратенальные почечные артерии (сегментарные и междольевые) в проекции трех сегментов обеих почек. Определялись RI и PI, рассчитываемые автоматически по стандартным формулам. Исследование основных почечных сосудов проводилось с целью исключения их стеноза, аномалии количества и топографии. Пациенты с подозрением на реноваскулярную гипертензию исключались из исследования.

ДНК была выделена из лимфоцитов венозной крови с использованием набора для экстракции ДНК Nucleon VACC3 kit («Amersham Pharmacia Biotech», Швеция). Анализ I/D-полиморфизма гена АПФ производился методом полимеразной цепной

реакции (ПЦР) с использованием пары олигонуклеотидных праймеров 5'-CTGGAGACCACTCCCATCCTT-3' и 5'-TGGCCATCACATTCGTCAGAT-3'. В результате ПЦР-амплификации синтезировались фрагменты ДНК, содержащие в себе вставку (I-аллель) или не содержащие ее (D-аллель), размером ~490 п.н. и ~190 п.н. соответственно. Полученные ПЦР-продукты были разделены с помощью горизонтального электрофореза в 2% агарозном геле, содержащем бромистый этидий. Сканирование геля, визуализация и анализ результатов электрофореза производился на имидж-денситометре Fluor-S MultiImager («Bio-Rad», USA).

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием t-критерия Стьюдента. Данные представлены в виде  $M \pm m$ . При проверке статистических гипотез нулевая гипотеза отвергалась при уровне значимости менее 0,05. Все статистические процедуры осуществлялись с использованием пакетов прикладных программ Statistica for Windows 6.0 (StatSoft Inc., USA).

#### Результаты исследования и их обсуждение

Для изучения ассоциации I/D полиморфизма гена АПФ и изменения почечной гемодинамики все пациенты с ЭАГ были разделены на три группы: первая – носители II-генотипа, составили 19 больных в возрасте  $42,37 \pm 2,27$  лет; вторая – ID-генотипа, в нее вошли 50 пациентов в возрасте  $41,06 \pm 1,58$  лет. Третья группа – носители DD-генотипа, которая состояла из 14 субъектов, средний возраст их  $41,79 \pm 3,90$  лет. Исходно у всех больных почечная функция были сохранены, т.е. СКФ выше 60 мл/мин. (табл. 3).

Отягощенный наследственный анамнез по ГБ имели 42 человек (50,60%), клинически выраженную коронарную болезнь сердца – один человек (1,20%). 19 субъектов (22,89%) из числа всех обследованных – курили.

Индекс Кетле рассчитывался по стандартной формуле и составил  $30 \text{ кг/м}^2$  и более у 23 индивидуумов (27,71%), т.е. одна четверти больных имели ожирение разной степени.

Сравнительные характеристики показателей почечного кровотока у больных и здоровых лиц с различными генотипами гена АПФ приведены в табл.3 и 4.

Таблица 3

**Показатели пульсационного индекса у больных эссенциальной артериальной гипертензией с разными генотипами гена ангиотензин-превращающего фермента исходно и через 5 лет в сравнении со здоровыми лицами**

Уровень почечных артерий	Полиморфизм гена АПФ	Контрольная группа	Больные с ГБ		p между исх. и через 5 лет
			исходно	через 5 лет	
Сегментарные	II	$1,10 \pm 0,04$	$1,11 \pm 0,03$	$1,13 \pm 0,03$	
	ID	$1,04 \pm 0,08$	$1,16 \pm 0,02$	$1,20 \pm 0,02^*$	
	DD	$1,19 \pm 0,02$	$1,15 \pm 0,03$	$1,19 \pm 0,06$	
Междольевые	II	$1,06 \pm 0,05$	$0,95 \pm 0,03$	$0,90 \pm 0,04$	
	ID	$1,00 \pm 0,07$	$1,04 \pm 0,02$	$1,03 \pm 0,03$	
	DD	$1,04 \pm 0,06$	$1,03 \pm 0,04$	$1,02 \pm 0,05$	
Дуговые	II	$0,78 \pm 0,05$	$0,75 \pm 0,04$	$0,55 \pm 0,03^{**}$	0,0250
	ID	$0,82 \pm 0,04$	$0,78 \pm 0,02$	$0,76 \pm 0,04$	
	DD	$0,83 \pm 0,06$	$0,78 \pm 0,03$	$0,85 \pm 0,02$	

\*p<0,02; \*\*p<0,01 по сравнению с контрольной группой

Как видно из таб.3, индекс пульсации у больных с II-генотипом гена АПФ на уровне сегментарных артерий исходно оказался выше подобных параметров у индивидуумов из контрольной группы и на фоне приема эналаприла за 5 лет стал еще больше. В тоже время, в более мелких сосудах (междолковые и дуговые) эти же показатели исходно были низкими и в процессе наблюдения еще снижались, достигая достоверных значений на уровне дуговых артерий. У носителей ID-генотипа гена АПФ в более крупных артериях пульсационный индекс исходно был выше, чем у лиц контрольной группы и за 5 лет достигло максимального значения на уровне сегментарных артерий ( $p < 0,02$ ). Со снижением калибра сосудов (дуговые артерии) находилось низкие показатели, особенно через 5 лет, чем в контрольной группе. Напротив, у лиц с DD-генотипом 5 летний прием эналаприла привел к повышению исходно низких значения пульсационного индекса на уровне сегментарных, особенно на уровне дуговых артерий, который стал выше по сравнению с контрольной группой.

Таблица 4

**Показатели индекса резистентности у больных эссенциальной артериальной гипертонией с разными генотипами гена ангиотензин-превращающего фермента исходно и через 5 лет в сравнении со здоровыми лицами**

Уровень почечных артерий	Полиморфизм гена АПФ	Контрольная группа	Больные с ГБ		p между исх. и через 5 лет
			исходно	через 5 лет	
Сегментарные	II	0,65 ± 0,01	0,63 ± 0,01	0,63 ± 0,01	
	ID	0,63 ± 0,01	0,64 ± 0	0,64 ± 0	
	DD	0,67 ± 0,01	0,65 ± 0,01	0,67 ± 0,01	
Междолковые	II	0,62 ± 0,01	0,60 ± 0,01	0,59 ± 0,01	
	ID	0,60 ± 0,01	0,61 ± 0,01	0,60 ± 0,01	
	DD	0,63 ± 0,02	0,62 ± 0,01	0,64 ± 0,02	
Дуговые	II	0,56 ± 0,02	0,54 ± 0,01	0,50 ± 0*	0,0499
	ID	0,56 ± 0,01	0,55 ± 0,01	0,53 ± 0,01*	
	DD	0,57 ± 0,02	0,56 ± 0,01	0,58 ± 0,02	

\* $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой

У больных с II-генотипом гена АПФ на более крупных почечных сосудах индекс резистентности были ниже, чем у субъектов из контрольной группы. Особенно, низкие показатели находились на уровне междолковых артериях повторно обследованных пациентов. Тогда как, у лиц – носителей D-аллеля гена АПФ имели тенденции к повышению.

На уровне наименьших почечных артериях (дуговых) индекс резистентности исходно у всех групп больных были ниже, чем контрольной группы. В течение 5 лет у носителей I-аллеля гена АПФ эти показатели еще снизились, достигая достоверных значений. В то же время, наоборот, у пациентов с DD-генотипом резистентность сосудов стала выше, чем у лиц из контрольной группы.

Исходя из полученных результатов, можно предположить, что при ЭАГ и наличии D-аллеля гена АПФ склеротические изменения более выражены на уровне мелких сосудов, и нарастает индекс резистентности и пульсации мелких почечных артериях.

По мнению Y. Makino, J.F. Platt и соавт. прогрессирование ХПН неизбежно сопряжено с изменениями внутрпочечных артериол и капилляров, а также тубулоинтерстициального компонента, что приводит к повышению периферического циркуляторного сопротивления и проявляется ростом сопротивления почечного кровотока [5].

#### Выводы

1. Прием эналаприла у больных ЭАГ – носителей II-генотипа гена АПФ приводит к расширению сосудов и снижению индекса резистентности и пульсации.
2. Пациенты ЭАГ с DD-генотипом гена АПФ, несмотря на прием эналаприла имели сужения паренхиматозных артерий почек, что сопровождается повышением индекса резистентности и пульсации при повторном обследовании.

#### Литература:

1. Полупанов А.Г., Халматов А.Н., Ческидова Н.Б., Романова Т.А. Эпидемиология артериальной гипертензии у сельских жителей Кыргызстана. Центральнo-Азиатский Медицинский журнал 2006; XII(6): 328–331.
2. Medical Research Council Working Party. MRC trial of treatment of mild hypertension: principal results. BMJ. 1985; 291: 97–104.
3. Белоусов Ю.Б. Поражение органов-мишеней при артериальной гипертонии. Тер. архив. 1997; 69: 12–15.
4. Ishimura E., Nishizawa Y. Intrarenal hemodynamic abnormalities in diabetic nephropathy measured by duplex Doppler sonography. Kidney Int. 1997; 51(6): 192–207.
5. Makino Y., Ogawa M., Ueda S. et al. Intrarenal arterial Doppler sonography in patients with various renal disease: correlation of resistive index with biopsy findings. Nippon Jinzo Gakkai Shi. 1992; 34(2): 207–212.