

## ВЛИЯНИЕ ИНСЕРЦИОННО-ДЕЛЕЦИОННОГО ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА АНГИОТЕНЗИНПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА НА РАЗВИТИЕ И ТЕЧЕНИЕ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА

Проф. В. И. ЦЕЛУЙКО, И. В. КУЗНЕЦОВ, Е. П. МЕДВЕДЬ

### THE INFLUENCE OF INSERTION-DELETION GENE POLYMORPHISM OF ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME ON DEVELOPMENT AND COURSE OF ATHEROSCLEROTIC PROCESS

V. I. TSELUYKO, I. V. KUZNETSOV, E. P. MEDVED

*Харьковская медицинская академия последипломного образования,  
Центральная клиническая больница № 5 «Укрзалізниці»*

**Доказаны связь инсерционного полиморфизма гена ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) с его повышенной активностью в плазме крови, многосудистый характер атеросклеротического процесса в коронарных артериях и большая частота поражения экстракраниального отдела сосудов головного мозга с гемодинамическим стенозированием просвета. При этом частота и степень атеросклеротического поражения периферических артерий нижних конечностей не зависела от полиморфизма гена АПФ.**

*Ключевые слова: активность АПФ, инсерционно-делеционный полиморфизм, мультисосудистый атеросклероз, факторы риска.*

**The association of insertion polymorphism of angiotensin converting enzyme (ACE) gene and its increased activity in the blood plasma as well as multivascular character of atherosclerotic process in the coronary arteries and higher frequency of involvement of extracranial brain vessels with hemodynamic stenosis of the lumen were proven. The frequency and degree of atherosclerotic involvement of peripheral arteries of lower extremities did not depend on ACE gene polymorphism.**

*Key words: ACE activity, insertion-deletion polymorphism, multivascular atherosclerosis, risk factors.*

В настоящее время развитие атеросклероза рассматривают как взаимодействие многих взаимодействующих факторов, приводящих к повреждению эндотелия, инициации воспаления и липидной инфильтрации. Поэтому к наиболее эффективным методам профилактики и лечения атеросклероза относят борьбу с факторами риска [1–3]. Доказано, что контроль артериального давления (АД), уровня холестерина и отказ от курения дают возможность уменьшить риск сердечно-сосудистых осложнений в 12 раз. Однако есть предикторы изучаемой патологии, на которые мы повлиять не можем, так называемые немодифицируемые факторы риска: наследственность, возраст и пол [3].

Когда говорят о генетических основах атеросклероза, то прежде всего вспоминают о мутациях в генах, контролирующих липидный обмен: гены апобелков, рецепторов к липопротеидам низкой плотности (ЛПНП), липопротеидлипазы, белка — переносчика эфиров холестерина [4 – 6]. В то же время изучению мутации генов, влияющих на другие факторы атерогенеза, например функцию эндотелия, уделяется меньше внимания, хотя роль ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) в ее континууме убедительно доказана и, более того, установлено, что полиморфизм неко-

торых генов этой системы ассоциирован с повышенным риском развития атеросклероза и сердечно-сосудистых осложнений [7].

Целью настоящей работы явилось изучение влияния инсерционно-делеционного (I/D) полиморфизма гена АПФ на развитие и течение атеросклеротического процесса.

С этой целью нами были обследованы 103 больных с ангиографически верифицированным атеросклерозом коронарных артерий (КА). Средний возраст обследованных составил  $57,6 \pm 3,2$  года, 90,1% из них составляли мужчины. В группу контроля вошли 18 человек без признаков атеросклеротического поражения в каком-либо из сосудистых бассейнов (средний возраст  $57,7 \pm 2,4$  года, женщины составили 33%).

По данным нагрузочного тестирования (тредмил-тест) у 49,7% больных была верифицирована стабильная стенокардия напряжения II–III функционального класса по классификации Канадской ассоциации кардиологов, в том числе у 11% установлена безболевая ишемия. У 75,7% обследованных к моменту включения в исследование была проведена чрезкожная или хирургическая реваскуляризация миокарда, из них у 64% отсутствовали жалобы и результаты тредмил-теста

были отрицательными. В анамнезе болезни пациентов имелись данные о перенесенных инфаркте миокарда (ИМ) у 44,6%, ишемическом инсульте (ИИ) — у 10,4%. Большинство обследованных (76,9%) страдали сопутствующей артериальной гипертензией (АГ), а у 11,6% выявлен сахарный диабет 2-го типа.

Всем больным были проведены селективная коронароангиоэнтериография (СКВГ) по стандартной методике [8, 9], доплер-ультразвуковое исследование (ДУЗИ) периферических артерий нижних конечностей (ПАНК) и экстракраниального отдела сосудов головного мозга (ЭКСГМ) на аппарате Sono Scape SSI-5000 (Италия). Определяли лодыжечно-плечевой индекс (ЛПИ), комплекс интима-медиа (КИМ) в типичном месте по стандартным методикам [9, 10]. Морфологию каротидных бляшек и степень стеноза ЭКСГМ изучали по общепринятой методике [11]. Окружность талии, индекс массы тела (ИМТ) и показатели липидов крови определяли в соответствии с рекомендациями Европейского общества по изучению артериальной гипертензии и Европейского общества кардиологов [12, 13]. Активность АПФ оценивали кинетическим методом с использованием синтетического хромогенного субстрата фурил-акрилоил-фенилаланил-глицил-глицина производства SIGMA (США). Для изучения ферментативной реакции использовали биохимический автоматический анализатор ChemWell 2900 (длина оптического пути 1,0 см; 340 нм). Полиморфизм гена АПФ определяли в образцах соскоба эпителиальных клеток, взятого с внутренней поверхности щеки. ДНК выделяли с помощью набора для выделения ДНК-сорб-АМ (Ампли-сенс, Россия). Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в термоциклере «Терцик» (ДНК-Технология, Россия). Использовались праймеры, представленные в работе [14]. Учет результатов типирования проводили после проведения электрофореза в 1,5% агарозе и окраски этидием бромидом.

Статистическая обработка полученных данных проведена на персональном компьютере методом вариационной статистики с использованием программы «Microsoft Excel». Для оценки достоверности полученных результатов использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA), SPSS for Windows Release 14.0 (SPSS Inc. Chicago, Illinois). Статистически достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

Результаты изучения полиморфизма гена АПФ у обследованных больных позволили выявить три генотипа II, ID и DD. Распределение соответствовало равновесию Харди-Вайнберга. При этом удельный вес больных с доминированием делеций составил 81,2%. В контрольной группе преобладали лица с II генотипом (44%), в то время как среди больных с атеросклеротическим повреждением коронарных артерий (КА) гетерозиготные аллели ID составили 57%.

В зависимости от генотипа все больные были условно разделены на три группы: первую группу (гомозиготные аллели II) составили 19 пациентов, преимущественно мужчины (94,8%) среднего возраста ( $56,8 \pm 2,1$  года). Вторая группа (гетерозиготный тип ID) включала 53 больных (средний возраст  $59,1 \pm 3,2$  года), в основном также мужчины (92,4%). Третья группа (DD генотип) состояла из 29 пациентов (93,1% мужчин, средний возраст  $55 \pm 4,1$  года).

Как видно, по половому и возрастному составу группы достоверно не различались. Ввиду малочисленности группы контроля, мы не посчитали возможным проведение сравнения в группах больных с различными генотипами и соответствующими подгруппами контрольной группы.

При анализе факторов риска в группах больных с различными генотипами обращает на себя внимание большой удельный вес больных с висцеральным типом ожирения (оцениваемым по измерению окружности талии — у мужчин более 102 см, у женщин более 88 см). У больных с гомозиготной инсерцией абдоминальное ожирение наблюдалось в 54,9%, а при гомозиготных аллелях у 62,1% ( $p < 0,05$ ). Курение также достоверно чаще встречалось у лиц с гомозиготными аллелями DD (72,4%), по сравнению с обладателями II аллелей (26,3%). Полученные нами данные о связи генотипа с этой вредной привычкой согласуются с результатами F. M. Chung et al. [15], отметивших подобную зависимость. Больные с делеционным гомозиготным полиморфизмом чаще, чем с II аллелями, вели малоподвижный образ жизни (52,6% против 42,1%) и страдали артериальной гипертензией (82,6% против 77,8%). Провести сравнительную оценку тяжести течения артериальной гипертензии в зависимости от генотипа было невозможно, так как больные получали антигипертензивную терапию.

Оценку состояния липидного обмена в зависимости от полиморфизма гена АПФ мы проводили только у больных, которые в силу различных причин не принимали гипополипидемические препараты. При этом оказалось, что уровень общего холестерина (ОХ) был повышен во всех группах, в то время как у лиц с ангиографически интактными КА составил  $5,3 \pm 0,4$  ммоль/л. Наиболее высокий уровень ОХ при DD генотипе был равен  $6,3 \pm 0,3$  ммоль/л, наиболее низкий при II генотипе —  $6,0 \pm 0,6$  ммоль/л, а группа гетерозигот занимала промежуточное место —  $6,1 \pm 0,5$  ммоль/л.

Содержание холестерина ЛПНП также было достоверно выше у носителей D аллели по сравнению с II гомозиготами —  $2,5 \pm 0,3$  ммоль/л против  $3,1 \pm 0,2$  ммоль/л ( $p < 0,05$ ).

Поскольку в исследование были включены тяжелые больные с ангиографически верифицированным атеросклерозом КА, большинство из них уже перенесли ИМ или мозговой инсульт либо подверглись инвазивному вмешательству. Так, у 43 пациентов с II генотипом ИМ в анамнезе

наблюдался у 68,4%, у лиц с ID — у 72,2%, с DD — у 72,4%, т. е. достоверных различий в частоте не было выявлено. В то же время частота мозговых инсультов достоверно зависела от генотипа и его частота соответственно составила в первой группе 5,3%, во второй — 32,1%, и в третьей — 13,8%. Такие различия могут объяснить результаты изучения состояния ЭКСТМ, на которых мы остановимся ниже.

Наличие доказанного атеросклеротического процесса в КА явилось основанием для проведения немедикаментозного лечения — коронарного шунтирования (КШ) — у 61,2%, или стентирования — у 13,8% пациентов. Инвазивные вмешательства практически с одинаковой частотой выполнялись во всех группах, причем в первой группе стентирование выполнялось достоверно чаще — у 21%, во второй — у 13,2%, в третьей — у 13,8%.

При анализе выраженности атеросклеротического поражения в различных областях в зависимости от полиморфизма гена АПФ мы обратили внимание на то, что у носителей гетерозиготного генотипа, как правило, степень и характер поражения близки к группе носителей гомозиготного делеционного полиморфизма, поэтому, учитывая предыдущие исследования, свидетельствующие о доминантности признаков, обусловленных D аллелью [6], мы сочли целесообразным объединить вторую и третью группы (см. приведенную таблицу).

Результаты СКВГ свидетельствуют о том, что у носителя D аллеля достоверно чаще отмечается многососудистое поражение — 89,7%, по сравнению с 68,4% в группе больных с инсерционным гомозиготным полиморфизмом с более значительным сужением просвета КА (свыше 50% в 97,6% случаев у носителей D аллели). Более выраженные изменения прослеживаются и при анализе результатов ДУЗИ ЭСГМ. Так, повышение комплекса КИМ более 0,8 мм наблюдалось у 86,2% больных второй группы против 57,9% обследованных с гомозиготной инсерцией в гене АПФ.

Представляют интерес данные, свидетельствующие о том, что у носителей D аллели бляшки встречаются чаще, степень сужения КА выше, как правило, они более стабильные (возможно, появились раньше и уже успели «состариться»). В этой группе больных атеросклеротические бляшки локализуются в месте бифуркации ОСА и устье ВСА у 69,1% против 31,6% при II генотипе. В то же время у больных с инсерционным гомозиготным полиморфизмом удельный вес бляшек с нечеткими контурами и изъязвлениями выше (соответственно 22,2 и 5,6% против 6,5 и 3,6% у носителей D аллели).

Что касается ПАНК, то различия между группами с разными генотипами были менее существенными. Так, ЛПИ менее 0,9 в группе больных с инсерционным гомозиготным полиморфизмом встречался в 11,3%, у носителей D аллели — в 10,3% случаев.

Удельный вес больных, у которых были обнаружены атеросклеротические поражения ПАНК, в обследованных группах достоверно не различался — 52,7% против 58,8%, причем во второй группе преобладали атеросклеротические бляшки, не обуславливающие значимого сужения артерий — 51,7%, тогда как бляшки со степенью сужения более 50% составляли 13,8%.

В отличие от сонных артерий, нестабильные атеросклеротические бляшки в ПАНК чаще встречались при наличии делеции в гене АПФ.

Проведенные ранее исследования биохимических и фенотипических проявлений I/D полиморфизма гена АПФ показали, что наличие делеции сопровождается увеличением синтеза и активности АПФ, стимуляцией неАПФ-опосредованных путей образования ангиотензина II [17]. В своем исследовании мы установили четкую зависимость уровня АПФ от полиморфизма гена. Так, в группе больных с инсерционными гомозиготными аллелями активность АПФ составила 35,9 мкмоль/л/ч, у обладателей гетерозиготных аллелей 55 мкмоль/л/ч, у обладателей делеционных гомозигот 87,5 мкмоль/л/ч (все  $p < 0,05$ ). Повышение уровня и активности АПФ и, как следствие, ангиотензина II влечет за собой целый каскад нарушений, стимулирующих развитие и прогрессирование атеросклероза. Особенно отчетливо это прослеживается на коронарных и сонных артериях, где имеют место не только нарушение функции эндотелия и процессы ремоделирования, но и гемодинамические повреждения, обусловленные увеличением ударной волны, повышением турбулентности среднего центрального давления и т. д. В значительной степени это связано с теми негативными влияниями, которые наблюдаются при активации РААС.

Таким образом, полученные в проведенных исследованиях данные подтвердили наличие влияния полиморфизма гена АПФ на выраженность и распространенность атеросклеротического процесса. У носителей делеции в гене АПФ, как правило, наблюдается более агрессивное атеросклеротическое поражение: большая распространенность процесса, большее количество вовлеченных сосудов, мультифокальность поражения.

Результаты исследования позволяют сделать следующие выводы.

Среди больных с ангиографически верифицированным атеросклерозом коронарных артерий чаще, чем в контрольной группе, встречаются лица с делецией в гене АПФ.

Для обладателей гомозиготных аллелей гена АПФ характерно более частое наличие таких факторов риска, как абдоминальный тип ожирения, курение, артериальная гипертензия, по сравнению с носителями гомозиготных инсерций.

Наличие D аллели в гене АПФ связано с активностью АПФ в плазме: максимальное значение отмечается в группе с делеционным гомозиготным полиморфизмом (87,5 мкмоль/л/ч), минималь-

**Характеристика поражения различных сосудистых бассейнов  
в зависимости от генотипа АПФ**

Показатели	Полиморфизм гена АПФ		
	контроль, n = 18	II, n = 19	ID + DD, n = 82
<i>Характеристика инвазивных вмешательств в группах и активность АПФ</i>			
Активность АПФ, мкмоль/л/ч	57,5	35,9*	66,6*, ^
ИМ	16,7	68,4*	73,2*
КШ	0	52,6*	61,0*, ^
Стентирование	0	21,0*	13,8*, ^
<i>Морфологическая характеристика бляшек ЭКСГМ</i>			
Гомогенные гипозоногенные АТ бляшки	0	0	4,8*, ^
Гомогенные гиперэногенные АТ бляшки	0	11,1*	20,7*, ^
Гетерогенные с нечеткими контурами АТ бляшки	0	22,2*	6,5*, ^
Гетерогенные с четкими контурами АТ бляшки	0	5,6*	23,2*, ^
Гетерогенные с изъязвлением АТ бляшки	0	5,6	3,6
<i>Локализация бляшек в ЭКСГМ</i>			
Изолированно бифуркация ОСА	0	5,3	8,5*
Изолированно устье ВСА	0	5,3	1,2
Бифуркация ОСА + ВСА	0	31,6*	69,1*, ^
<i>Стенозирование просвета сосудов</i>			
≤ 50 %	0	42,1*	64,6*, ^
≥ 50 %	0	0	14,6*
<i>ЛПИ</i>			
ЛПИ < 0,9	0	10,3*	11,3*
<i>Характеристика бляшек ПАНК</i>			
Гомогенные гиперэногенные АТ бляшки	0	10,6*	18,3*, ^
Гетерогенные с нечеткими контурами АТ бляшки	0	10,6*	24,4*, ^
Гетерогенные с четкими контурами АТ бляшки	0	26,3*	22*
Гетерогенные с изъязвлениями АТ бляшки	0	5,3*	1,2*, ^
<i>Локализация бляшек сосудов ПАНК</i>			
Изолированно бифуркация бедренной артерии	0	10,5*	1,2*, ^
Подвздошные артерии	0	0	4,9*, ^
Подвздошная + бедренная артерия	0	52,6*	68,3*, ^
<i>Стенозирование просвета сосуда ПАНК</i>			
≤ 50 %	0	31,6*	43,9*, ^
≥ 50 %	0	21,1*	15,9*
<i>Характеристика распространенности поражения КА</i>			
Однососудистое	0	31,6*	11*, ^
Многососудистое#	0	68,4*	89,1*, ^
<i>Локализация обструкции КА</i>			
Проксимальные отделы КА	0	84,2*	65,9*, ^
Дистальные отделы КА	0	0	11*
Диффузное поражение КА	0	10,5*	23,2*, ^
<i>Степень стенозирования КА</i>			
≤ 50 %	0	15,9*	2,4*, ^
≥ 50 %	0	94,1*	97,6*

Примечание. \* –  $p < 0,05$  по сравнению с контролем; ^ –  $p < 0,05$  при сравнении первой и второй групп; # – стеноз ствола левой КА  $\geq 50\%$  рассматривали как двухсосудистое поражение [16]. АТ – атеросклеротические, ОСА – общая сонная артерия, ВСА – внутренняя сонная артерия, ЛПИ – лодыжечно-плечевой индекс; все данные, за исключением активности АПФ, – в процентах.

ное — при II полиморфизме (35,9 мкмоль/л/ч); в группе гетерозиготного полиморфизма активность фермента имеет промежуточное значение — 55,2% мкмоль/л/ч.

Существует связь между полиморфизмом гена АПФ и атеросклеротическим поражением, наличие делеции в гене АПФ ассоциировано с многосудистым поражением в коронарном бассейне со значительным сужением просвета КА.

У носителей D аллели гена АПФ чаще наблюдается атеросклеротическое поражение ЭКСГМ, в том числе стенозирующее в наиболее уязвимых местах.

Результаты ДУЗИ ПАНК сосудов нижних конечностей не показали влияния I/D генотипа на наличие и выраженность (частоту и степень сужения сосуда) атеросклеротического процесса. Однако удельный вес бляшек с признаками нестабильности выше у носителей D аллели.

#### Литература

1. Братусь В. В., Шумаков В. А., Талаева Т. В. Атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, острый коронарный синдром.— К.: Четверта хвиля, 2004.— 576 с.
2. Лутай М. И. Атеросклероз: современный взгляд на патогенез // Укр. кардіол. журн.— 2004, № 1.— С. 42–47.
3. Лутай М. И., Голикова И. П., Слободской В. А. Роль дисфункции эндотелия. Воспаления и дислипидемии в атерогенезе // Укр. кардіол. журн.— 2007.— № 5.— С. 37–47.
4. Целуйко В. И., Виноградова С. В. Роль I/D полиморфизма гена АПФ в развитии артериальной гипертензии // Укр. кардіол. журн.— 2002.— № 2.— С. 103–109.
5. Целуйко В. И., Чернышов В. А. Генетика артериальной гипертензии // Журн. АМН Украины.— 2000.— Т. 6, № 4.— С. 666–676.
6. Анализ полиморфизма гена АПФ у больных ИБС в московской популяции / М. И. Шадрин, П. А. Сламинский, О. В. Миросердова и др. // Генетика.— 2001.— № 1.— С. 112–116.
7. Свищенко Е. И., Безродная Л. В., Борткевич О. П. Эссенциальная артериальная гипертензия // Укр. мед. часопис.— 2008.— № 2 (64).
8. Seldinger S. Catheter replacement of the needle in percutaneous arteriography: a new technique // Acta Radiol.— 1953.— № 39.— P. 368–376.
9. Лелюк В. Г., Лелюк С. Э. Ультразвуковая ангиология.— М.: Реальное время, 2005.— 324 с.
10. Шумилина М. В. Комплексная ультразвуковая диагностика патологии периферических сосудов: Уч.-метод. руководство.— М.: НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН, 2007.— 310 с.
11. Carotid artery stenosis: grey-scale and Doppler US diagnosis — Society of radiologists in ultrasound consensus conference / E. G. Grant, G. B. Benson, G. L. Monrta et al. // Radiology.— 2003.— Vol. 229.— P. 340–346.
12. European Society of Cargiology / ESC, 2007; <http://www.escardio>.
13. European Society of Hypertension / ESH, 2007; <http://www.ESH.uk>.
14. Contribution of genetic polymorphism in the renin-angiotensin system to the development of renal complications in insulin-dependent diabetes: Genetique de la Nephropathie Diabetique (GENEDIAB) study group / M. Marre, X. Jeunemaitre, Y. Gallois et al. // J. Clin. Invest.— 1997.— № 99 (7)— P. 1585–1595.
15. Angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism is associated with smoking tobacco / F. M. Chung, Y. H. Yang, C. H. Chen et al. // J. Am. Coll. Cardiol.— 2005.— № 93 (5)— P. 602–606.
16. Коморовский Р. Р. Прогнозирование сердечных событий у пациентов с острым коронарным синдромом с сопутствующим поражением сосудов шеи // Укр. кардіол. журн.— 2006.— № 3.— С. 118–120.
17. Identification of new polymorphisms of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene, and study of their relationship to plasma ACE levels by two-QTL segregation-linkage analysis / E. Villard, L. Tiret, S. Visvikis et al. // Am. J. Hum. Genet.— 1996.— № 58.— P. 1268–1278.

Поступила 25.04.2008