

Роль генетических факторов в оценке кардиоваскулярного риска у пациентов с сочетанным течением хронического обструктивного заболевания легких и хронического панкреатита

Ключевые слова:

хроническое обструктивное заболевание легких, хронический панкреатит, ген ангиотензинпревращающего фермента, ген ангиотензиногена.

Хронизация воспалительного процесса в организме индивидуума осуществляется при «сбоях» в механизмах функционирования гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы — в результате нарушения обратной связи при формировании патологии. Данные изменения в большинстве случаев являются следствием генетических нарушений, которые обуславливают возникновение патологического процесса.

В настоящее время доказано, что развитие большинства заболеваний является генетически детерминированным и любая нозологическая форма, относящаяся к категории хронического неинфекционного заболевания внутренних органов, есть итог взаимодействия различных генов. Попытки идентифицировать единый ген при конкретной нозологии не увенчались успехом. Такой результат объяснялся тем, что многоликость клинических проявлений, прогрессирование патологии и возникновение осложнений — процесс мультифакторный и контролируется полиморфным набором генов, каждый из которых имеет индивидуальную, только ему присущую направленность. Поэтому попытки установить полиморфизм генов, ответственных за развитие конкретного процесса, продолжается и до настоящего времени.

Однако современная клиническая практика такова, что изолированное лечение одной нозологической формы у каждого конкретного больного практически невозможно. Коморбидное течение заболеваний внутренних органов может вносить определенные коррективы в последовательность и выраженность клинической симптоматики, темпы прогрессирования процесса и формирования осложнений.

К таким заболеваниям внутренних органов, которые входят в группу социально значимых и хроническое прогрессирующее течение которых приводит к развитию осложнений и ухудшению качества жизни, относят хроническое обструктивное заболевание легких (ХОЗЛ). В мире зарегистрировано более 210 млн таких больных, однако довольно значительная их часть не обращается к врачу, считая появление кашля с мокротой и одышки только результатом длительного курения [7, 11]. Другими факторами, определяющими его распространенность, являются особенности климата и бурные темпы развития производств,



**Н.М. Железнякова¹,
М.С. Кишеня²**

¹ Харьковский национальный медицинский университет

² Донецкий национальный медицинский университет имени Максима Горького

КОНТАКТНА ІНФОРМАЦІЯ

Железнякова Наталія Мерабівна
к. мед. н., докторант кафедри внутрішньої медицини №1 та клінічної фармакології

61022, м. Харків, просп. Леніна, 4
Тел. (050) 590-49-66
E-mail: nmz25@mail.ru

Стаття надійшла до редакції
30 січня 2013 р.

выделяющих в атмосферу поллютанты. Метеозависимость больных ХОЗЛ, активация патологического процесса при контакте с бактериальной и особенно вирусной инфекцией обуславливает частые обострения патологического процесса в бронхолегочной системе и, тем самым, его прогрессирование.

В тоже время, как уже было сказано, ХОЗЛ достаточно часто сочетается с другими заболеваниями внутренних органов, которые могут оказывать негативное влияние на общую тяжесть состояния [7, 11]. Многие факторы риска ХОЗЛ являются таковыми и для развития другой патологии, а развивающиеся при этом патологические изменения, такие как системное воспаление, рассматриваются в качестве предикторов манифестации различных заболеваний внутренних органов. Среди таковых определенное место отведено хроническому панкреатиту (ХП). Достаточно частое сочетание указанных нозологий не является случайным и обусловлено не только значительной их распространенностью. И бронхолегочная система, и поджелудочная железа (ПЖ) обладают тропизмом к ряду патогенных факторов, среди которых: курение, злоупотребление алкоголем, воздействие ряда других химических и физических агентов, вирусной инфекции и т. д. Но действие данных факторов осуществляется в генетически детерминированном организме, что определяет дальнейшее течение и прогноз заболевания.

Несмотря на включение в патологический процесс различных органов и систем при ХОЗЛ и ХП, выделяют так называемые системные блоки (органы-мишени), поражение которых наблюдается при обоих заболеваниях. К таким органам-мишеням относят сердечно-сосудистую систему, вовлечение которой может предопределить прогноз у данной категории больных. Общеизвестным и доказанным является факт, что сердечно-сосудистые события занимают лидирующее место среди патологии, которая сопутствует ХОЗЛ, и выступают в роли наиболее значимой его коморбидности [1, 7, 11].

Что же касается ХП, то здесь краеугольным камнем является проблема внешнесекреторной недостаточности ПЖ как ведущего проявления заболевания. Так, исследованиями последних лет было показано, что развитие экскреторной недостаточности, характеризующееся прогрессирующим уменьшением массы тела и формированием недостаточности питания, ассоциируется с повышенным риском развития осложнений со стороны других органов и систем, а особенно сердечно-сосудистых событий [2, 4, 5]. Данный тезис нашел отражение и в последних Реко-

мендациях Европейского общества кардиологов по профилактике сердечно-сосудистых заболеваний (пересмотр 2012 г.), в которых отмечено, что нельзя исключить влияние недостатка массы тела на увеличение кардиоваскулярной заболеваемости и смертности [6]. Данное обстоятельство приобретает особое значение в условиях сочетанного течения ХП и ХОЗЛ, что и послужило основой для проведения данной работы.

Цель исследования — установить распространенность полиморфизма генов ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) и ангиотензиногена (AGT) у больных хроническим обструктивным заболеванием легких и хроническим панкреатитом, определить их ассоциации с течением патологического процесса и риском развития кардиоваскулярных событий.

Материалы и методы

В исследовании приняло участие 72 больных с изолированным течением ХОЗЛ (группа сравнения) и 76 пациентов с сочетанным течением ХОЗЛ и ХП (основная группа). Обе представленные группы были идентичны по возрасту, полу и длительности анамнеза. Средний возраст пациентов с сочетанной патологией составил ($47,9 \pm 5,8$) года, причем в группе преобладали мужчины (48 человек — 63,2 %). При изолированном течении ХОЗЛ данный показатель был равен ($49,2 \pm 6,1$) года, при этом лица мужского пола были в большинстве (45 пациентов — 62,5 %). Распределение больных ХОЗЛ по степени нарушения функции внешнего дыхания проводили согласно последнему пересмотру «Глобальной инициативы по ХОЗЛ» (GOLD, 2011), в котором представлена глобальная стратегия по диагностике, ведению и лечению таких больных [7].

В работе принимали участие пациенты с I и II степенью тяжести патологии; больные с тяжелым течением ХОЗЛ (III и IV степень) к исследованию не привлекались. Так, 25 (32,9 %) пациентов с ХОЗЛ и ХП имели I степень, 51 (67,1 %) больной — II степень заболевания; в группе сравнения данные значения составили 25 (34,7 %) и 47 (65,3 %) пациентов соответственно.

Постановка диагноза ХП проводилась согласно протоколам оказания медицинской помощи по специальности «Гастроэнтерология» (приказ МОЗ Украины № 271 от 13.06.2005 г.), что предполагало комплексный анализ клинико-anamnestических данных, результатов УЗ исследования и оценку экскреторной (путем определения эластазы-1 в кале) и инкреторной (при проведении глюкозотолерантного теста (ГТТ)) функции ПЖ. При этом во всех случаях была зарегистри-

рована легкая (21 человек — 27,6 %) или средняя (55 пациентов — 72,4 %) степень тяжести экскреторной недостаточности органа. Больных с наличием инкреторной недостаточности ПЖ к работе не привлекали.

Контрольные результаты исследований были установлены при обследовании 50 практически здоровых лиц аналогичного пола и возраста, что позволило их сопоставить.

ДНК-диагностику проводили в отделе молекулярно-генетических исследований ЦНИЛ ДонНМУ имени Максима Горького.

Одним из доказанных генетических маркеров сердечно-сосудистой патологии на сегодняшний день является инсерционно-делеционный полиморфизм (I/D) гена АПФ (ACE) [3, 8]. В настоящее время известно более двух десятков полиморфных вариантов гена, однако функционально наиболее значимым является инсерционно-делеционный полиморфизм в 16 интроне.

В 16 интроне гена АПФ, который расположен на 17q23p хромосоме, может быть (I-insertio) или отсутствовать (D-deletio) фрагмент ДНК, который состоит из 263–287 пар Alu последовательностей. Об изменениях в данном гене судят по соотношению генотипов и увеличению патологических (D/D) мутаций в нем.

Другим генетическим маркером кардиоваскулярного риска рассматривается ген AGT, который является одним из основных регуляторов уровня артериального давления и водно-солевого гомеостаза [8–10].

Ген AGT находится в коротком плече 1-й хромосомы (1q42-q43). В настоящее время описано более 30 полиморфных вариантов этого гена. В качестве генетических маркеров сердечно-сосудистой патологии чаще всего выделяют два его полиморфизма — M235T и T174M, в отношении которых установлена связь с риском развития кардиоваскулярных событий [9, 10].

ДНК выделяли из лейкоцитов крови с помощью реагента «ДНК-экспресс-кровь». В работе использовали диагностические тест-системы «SNP-экспресс» ACE Alu Ins/Del I > D (НПФ, Литех, Россия). Анализ полиморфных ДНК-локусов проводили методом полимеразной цепной реакции синтеза ДНК с последующей электрофоретической детекцией.

Реакция проводилась при следующих условиях: первичная денатурация при 93 °C в течение 1 мин, после которой следовали 35 циклов, состоящих из денатурации — 93 °C, 10 с, отжига праймеров — 64 °C, 10 с, элонгации — 72 °C, 20 с. ПЦР проводили на амплификаторе Gene Amp® PCR System 2400 (Applied Biosystems). Детекцию амплифицированных фрагментов произво-

дили путем электрофореза в 3 % агарозном геле, окрашенном в бромистом этидии. Визуализацию результатов осуществляли в ультрафиолетовом трансиллюминаторе «TFX-20.M» («Vilber Lourmat», Франция).

Оценку риска, частот генотипов, аллелей и доверительных интервалов определяли при использовании программ Microsoft Excel. Разницу в частотах аллелей и генотипов между группами оценивали с помощью критерия χ^2 . Об ассоциации аллелей или генотипов с предрасположенностью к заболеваниям судили по величине отношения риска (OR) с доверительными интервалами (CI). Статистическую обработку проводили с помощью прикладной программы «Statistica 6.0».

Результаты и обсуждение

Проведенное исследование показало, что одной из возможных предпосылок для формирования эндотелиальной дисфункции у больных ХОЗЛ является изменение полиморфизма гена АПФ, для которого характерно преобладание носителей D-аллелей. Так, в группе контроля генотипический ряд гена АПФ был представлен следующим образом: генотип I/I регистрировали у 8 (16 %) пациентов, генотип I/D — у 27 (54 %) и патологический генотип D/D — у 15 (30 %) лиц. У больных с изолированным ХОЗЛ распределение генотипов соответствовало: 18,1 % (13 больных), 45,8 % (33 пациента) и 36,1 % (26 человек). То есть у пациентов с изолированным ХОЗЛ в 1,7 раза чаще наблюдается патологический D/D генотип по сравнению с группой здоровых лиц, однако при статистическом анализе достоверных различий в распределении генотипов не выявлено ($df = 2$, $\chi^2 = 0,801$, $p = 0,669$).

При сочетании ХОЗЛ и ХП генотипические соотношения гена АПФ имели несколько другую картину, что проявлялось уменьшением количества пациентов с нормальным I/I генотипом до 11,8 % (9 больных) и увеличением патологических мутаций (D/D генотип) — 43 больных (56,6 %). При этом генотип I/D был установлен в 24 случаях (31,6 %). Статистический анализ данных показал достоверные различия в распределении генотипов гена АПФ между пациентами с сочетанной патологией и изолированным ХОЗЛ ($df = 2$, $\chi^2 = 6,233$, $p = 0,044$). Распределение частот генотипов и аллелей в группах соответствовало уравнению Харди Вайнберга (РХВ).

Характеристика генотипических девиаций полиморфизма гена ACE Alu Ins/Del у пациентов с ХОЗЛ и ХП по сравнению с показателями здоровых лиц приведена в табл. 1.

Таблиця 1. Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов гена АПФ у больных основной и контрольной группы

Генотипы	Больные (n = 76)		Контроль (n = 50)		p (F)	OR	CI	χ^2	df	p (χ^2)
	n	%	n	%						
I/I	9	11,8	8	16,0	0,503	0,705	0,252—1,971	8,760	2	0,01308
I/D	24	31,6	27	54,0	0,012	0,393	0,188—0,822			
D/D	43	56,6	15	30,0	0,003	3,040	1,428—6,476			

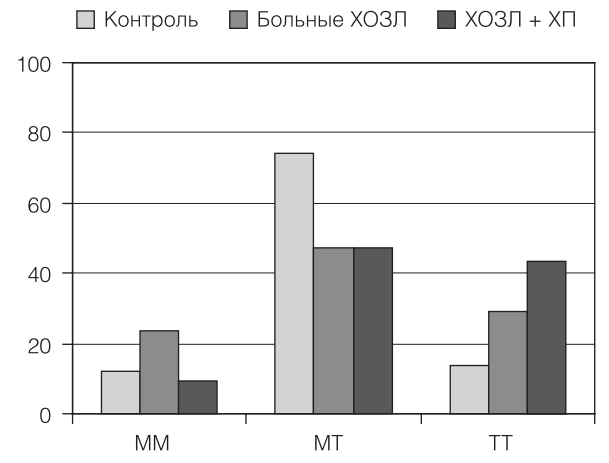
Проведенное сопоставление патологического D/D генотипа с тяжестью течения заболевания в группе с сочетанной патологией показало, что в большинстве случаев (39 человек — 90,7 %) данный генотип был присущ пациентам со II степенью выраженности бронхиальной обструкции, которые имели среднюю степень тяжести внешнесекреторной недостаточности ПЖ. Также на долю таких больных приходилось 33,3 % наблюдений I/D генотипа, в то время как генотип I/I у данной категории пациентов не встречался.

Практически у всех больных с патологическим D/D генотипом наблюдалось снижение массы тела и более частые обострения как ХОЗЛ, так и ХП. Также было показано, что носители аллеля D полиморфизма гена АПФ достаточно часто (41 пациент — 61,2 %) отмечали в анамнезе эпизоды повышения АД (САД — $(153,3 \pm 8,7)$ мм рт. ст., ДАД — $(97,1 \pm 5,3)$ мм рт. ст.), тахикардию (47 человек — 70,2 %), а в 34,3 % случаев (23 пациента) — перебои в работе сердца.

Таким образом, наличие у большинства пациентов основной группы, которые имели II степень ХОЗЛ и среднюю степень тяжести экскреторной недостаточности ПЖ, патологического мутантного генотипа D/D гена АПФ позволяет сделать вывод о значительном повышении риска развития сердечно-сосудистых событий у данной категории больных.

Исследование вариантов гена АГТ у лиц контрольной группы показало, что генотип MM гена M235T составил 12 % (10 человек), генотип MT — 74 % (32 особы) и генотип TT — 14 % (8 лиц). В то же время у пациентов с ХОЗЛ наблюдалось количественное перераспределение генотипов. Так, частота встречаемости аллелей гена АГТ M235T составила: MM — 23,6 % (17 лиц), MT — 47,2 % (34 пациента) и TT — 29,2 % (21 человек). Таким образом, у больных ХОЗЛ в 2,1 раза чаще, чем в группе здоровых лиц, выявляли гомозиготы с патологическим генотипом TT гена АГТ M235T.

При сочетанной патологии ХОЗЛ и ХП отмечено увеличение количества лиц с патологическим генотипом. Так, MM генотип регистрировали у 7 пациентов (9,2 %), MT — у 36 (47,4 %) и

**Рис. 1.** Частота встречаемости аллелей гена АГТ M235T у обследованных больных и в группе контроля, %

TT генотип — у 33 (43,4 %). То есть патологический генотип TT у данной группы больных встречался в 4,1 раза чаще, чем в контрольной, и в 1,6 раза чаще группы сравнения (рис. 1). При этом различия в распределении генотипов гена АГТ M235T в основной группе были достоверными как по сравнению с группой контроля ($df = 2$, $\chi^2 = 11,117$; $p = 0,004$), так и по отношению к пациентам с изолированным ХОЗЛ ($df = 2$, $\chi^2 = 6,787$; $p = 0,033$). Распределение частот генотипов и аллелей соответствовало уравнению Харди Вайнберга (РХВ).

При анализе полиморфизма M235T гена АГТ было отмечено, что статистически достоверными являлись значения OR в группе с аллельным вариантом TT (табл. 2). Обнаруженная связь неблагоприятного варианта гена АГТ с развитием ХОЗЛ, видимо, отражает роль данного полиморфизма в запуске окислительного стресса и стимуляции экспрессии провоспалительных цитокинов за счет повышенного уровня ангиотензина II. У лиц с аллельным вариантом 235MT и с генотипом 235MM распределение частот не имело статистической достоверности (табл. 2).

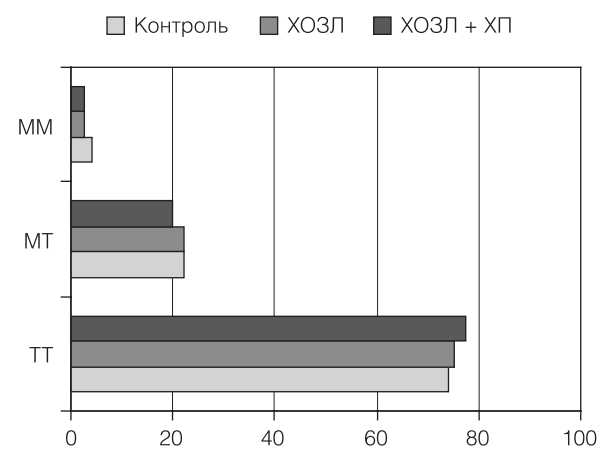
При исследовании частоты встречаемости гена АГТ T174M у здоровых лиц были получены следующие результаты: TT генотип регистрировали у 74,0 % (37) обследованных, MT — у 22 % (11) и

Таблиця 2. Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера M235T гена AGT у больных основной и контрольной группы

Генотипы	Больные (n = 76)		Контроль (n = 50)		p (F)	OR	CI	χ^2	df	p (χ^2)
	n	%	n	%						
MM	7	9,2	10	20,0	0,083	0,406	0,143—1,15			
MT	36	47,4	32	64,0	0,067	0,506	0,243—1,053	11,117	2	0,00403
TT	33	43,4	8	16,0	0,001	4,029	1,668—9,73			

Таблиця 3. Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера T174M гена AGT у больных основной и контрольной группы

Генотипы	Больные (n = 76)		Контроль (n = 50)		p (F)	OR	CI	χ^2	df	p (χ^2)
	n	%	n	%						
TT	59	0,776	37	0,740	0,639	1,219	0,531—2,799			
TM	15	0,197	11	0,220	0,759	0,872	0,363—2,093	0,305	2	0,89678
MM	2	0,026	2	0,040	0,668	0,649	0,088—4,761			

**Рис. 2.** Частота встречаемости аллелей гена AGT T174M у обследованных больных, %

MM — у 4,0 % (2). В группе больных ХОЗЛ данный вариант гена AGT был несколько иным и частоты встречаемости аллелей распределились следующим образом: TT генотип определяли у 54 (75,0 %) больных, MT — у 16 (22,2 %) человек и MM — у 2 (2,8 %) пациентов. При этом наличие ХП не оказывало существенного влияния на аллельный полиморфизм, и распределение генотипов соответствовало: 77,6 % (59 больных), 19,8 % (15 пациентов) и 2,6 % (2 человека) соответственно (рис. 2).

Таким образом, при сравнении распределения частот аллелей полиморфизма T174M гена AGT в контрольной группе и группах обследованных больных не было получено достоверных различий, что позволило сделать вывод об отсутствии роли этого полиморфизма в патогенезе ХОЗЛ и

развитии сердечно-сосудистых событий у таких пациентов (табл. 3).

Таким образом, тестирование гена AGT показало, что вариант полиморфизма T174M не имеет клинико-диагностического значения у данной категории больных.

Выводы

Развитие и течение хронического обструктивного заболевания легких, а также его сочетание с хроническим панкреатитом происходит в условиях перераспределения генотипов гена АПФ и полиморфизма M235T гена AGT, характеризующегося преобладанием их патологических вариантов.

Увеличенные показатели патологических генотипов D/D (56,6 %) гена АПФ и T/T (43,4 %) полиморфизма M235T гена AGT ассоциируются с тяжестью хронического обструктивного заболевания легких и хронического панкреатита и свидетельствует о наличии значительной генетической предрасположенности к развитию сердечно-сосудистых событий у данной категории больных.

При исследовании полиморфизма T174M гена AGT у пациентов с изолированным хроническим обструктивным заболеванием легких и при его сочетании с хроническим панкреатитом патогенетических ассоциаций не установлено.

Перспективы дальнейших исследований. Перспективным направлением является исследование других маркеров сердечно-сосудистого риска у больных с коморбидностью хронического обструктивного заболевания легких и хронического панкреатита и сопоставление полученных результатов с представленными данными.

Список літератури

1. Березин А.Е. Хроническая обструктивная болезнь легких и кардиоваскулярный риск // Украинський медичний часопис.— 2009.— № 2 (70).— С. 62—68.
2. Молчанов Д. Современные тенденции в лечении заболеваний поджелудочной железы с внешнесекреторной недостаточностью. По материалам IV Украинской гастроэнтерологической недели, 22—23 сентября 2011 г., г. Киев // Медична газета «Здоров'я України».— 2011.— № 19 (272).— С. 66—67.
3. Шевченко О.В., Свистунов А.А., Бородулин В.Б. и др. Генетические основы патогенеза эссенциальной артериальной гипертензии // Саратовский научно-медицинский журнал.— 2011.— Т. 7, № 1.— С. 83—87.
4. Dominguez-Munoz J.E. Pancreatic exocrine insufficiency: diagnosis and treatment // Journal of Gastroenterology and Hepatology.— 2011.— Suppl. 2— P. 12—16.
5. Dominguez-Munoz J.E., Iglesias-Garcia J. Oral pancreatic enzyme substitution therapy in chronic pancreatitis: is clinical response an appropriate marker for evaluation of therapeutic efficacy? // Journal of the Pancreas (Online).— www.joplink.net— 2010.— Vol. 11, N 2.— P. 158—162.
6. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012) // European Heart Journal.— 2012.— N 33.— P. 1635—1701.
7. From the Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of COPD, Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) 2011. Available from: <http://www.goldcopd.org/>.
8. Fox C.S., Heard-Costa N.I., Vasan R.S. et al. Genomewide linkage analysis of Weight Change in the Framingham Heart Study // J. Clin. endocrinol. Metab.— 2005.— Vol. 15.— P. 3197—3201.
9. Kanat O. et al. Renin-angiotensin system polymorphisms and coronary artery surgery patients // Asian Cardiovasc. Thorac. Ann.— 2005.— N 13.— P. 153—156.
10. Sethi A.A., Nordestgaard B.G., Gronholdt M.L. et al. Angiotensinogen single nucleotide polymorphisms, elevated blood pressure, and risk of cardiovascular disease // Hypertension.— 2003.— N 6.— P. 102—111.
11. World Health report. World Health Organization. Available from URL: <http://www.who.int/respiratory/copd/en/>.

Н.М. Железнякова, М.С. Кишеня

Роль генетичних факторів в оцінці кардіоваскулярного ризику в пацієнтів із поєднаним перебігом хронічного обструктивного захворювання легень і хронічного панкреатиту

У статті представлено результати дослідження генетичних маркерів кардіоваскулярного ризику в пацієнтів з ізольованим хронічним обструктивним захворюванням легень (ХОЗЛ) та в разі його поєднання із хронічним панкреатитом. Виявлено, що при коморбідній патології достовірно частіше спостерігаються патологічні генотипи: D/D гена АПФ і T/T поліморфізму M235T гена ангіотензиногену. Виявлено асоціацію вказаних генних мутацій із тяжкістю перебігу коморбідної патології, а саме ступенем ХОЗЛ та зовнішньосекреторної недостатності підшлункової залози. Отримані дані дають підстави припустити наявність підвищеного кардіоваскулярного ризику в цієї категорії хворих.

N.M. Zhelezniakova, M.S. Kishenya

The role of genetic factors in the assessment of cardiovascular risk in patients with combined course of COPD and chronic pancreatitis

The article presents the results of a study of genetic cardiovascular risk markers in patients with isolated COPD and COPD, combined with chronic pancreatitis. It has been shown that in case of comorbidity were significantly more often revealed pathological genotypes: D/D of ACE gene and T/T of M235T polymorphism of angiotensinogen gene. An association between these gene mutations and degree of COPD and severity of exocrine pancreatic insufficiency has been revealed. These data indicate the presence of increased cardiovascular risk in these patients.