

© О.В. Кушнір, 2011

УДК 616.12 – 008.331.1 – 092

О.В. КУШНІР

Буковинський державний медичний університет, кафедра гігієни та екології, Чернівці

ПЕРИФЕРІЙНА ГЕМОДИНАМІКА У ХВОРИХ НА АРТЕРІАЛЬНУ ГІПЕРТЕНЗІЮ ЗАЛЕЖНО ВІД ПОЛІМОРФІЗМУ ДВОХ ГЕНІВ, ЗВ'ЯЗОК ІЗ ТЯЖКІСТЮ ДИСБІОЗУ КИШКИ

Проаналізовано стан периферійної гемодинаміки у пацієнтів із есенційною артеріальною гіпертензією (ЕАГ) та їх зв'язок із поліморфізмом генів *AGTR1* (A1166C), *ACE* (I/D) та дисбіозом кишки. Присутність D-алеля гена *ACE* характеризується вірогідно вищими рівнями середньодобового систолічного, діастолічного та пульсового артеріального тиску (САТ₂₄, ДАТ₂₄ і ПАТ₂₄). Носійство СС-генотипу гена *AGTR1* супроводжується вищими показниками САТ₂₄ і ПАТ₂₄. Тяжкість дисбіозу кишечника вірогідно корелює із САТ₂₄ у хворих на ЕАГ II і III стадій, носіїв D-алеля гена *ACE* та А-алеля гена *AGTR1*. Офісний САТ і ДАТ визначає тяжкість дисбіозу у носіїв DD-генотипу гена *ACE* та С-алеля гена *AGTR1*.

Ключові слова: есенційна гіпертензія, периферійна гемодинаміка, кишковий дисбіоз, гени

Вступ. Нейрогуморальна та гемодинамічна гіпотези активації ренін-ангіотензин-альдостеронової (РААС), eNOS і симпатoadреналової систем є класичними у патогенезі розвитку артеріальної гіпертензії (АГ) [2]. Однак блокада окремих ланок даних систем, наприклад за допомогою інгібіторів ангіотензин-перетворювального ферменту (І-АПФ) чи блокаторів кальцієвих каналів, у 25-75% не призводить до позитивного клінічного результату [7]. Це дає підстави думати, що важливу роль у патогенезі АГ відіграють інші механізми, зокрема генетичні чинники. Одно- чи полінуклеотидні заміни на певній ділянці хромосоми призводять до поліморфізму генів, у тому числі й активаторів РААС, чи eNOS, що в свою чергу проявляється фенотипово їх експресією на периферії та можливою специфічною відповіддю на фармакологічний препарат [1, 6]. Однак роль мутацій ключових генів, що кодують активність РААС, eNOS та симпатoadреналової систем, у реалізації АГ, змін структурно-функціонального стану міокарда, внутрішньосерцевої та периферійної гемодинаміки є не до кінця вивченими, а наявні результати досліджень іноді суперечливі [3, 4, 5, 12, 13].

Дискутується також питання змін кишкової мікрофлори під впливом стресового чинника, хронічного гемодинамічного перенавантаження мезентеріальних судин у хворих на АГ, органній ішемії, зворотного впливу бактеріальних токсинів на серцево-судинну систему через активацію цитокінового механізму [9]. Встановлено, що гіперекспресія прозапальних цитокінів асоціюється зі ступенем АГ, її тривалістю, ефективною корекцією тиску, і є предиктором порушення функції лівого шлуночка, набряку легень і розвитку кардіоміопатії [8]. В зв'язку з цим, нашу увагу привернули зміни периферійної гемодинаміки у хворих на АГ у контексті тяжкості дисбіозу кишечника та їх можливий зв'язок із поліморфізмом генів.

Мета дослідження. Вивчити стан периферійної гемодинаміки у пацієнтів із

есенційною артеріальною гіпертензією (ЕАГ) та їх зв'язок із поліморфізмом A1166C в гені рецептора ангіотензину II першого типу (*AGTR1*), I/D в гені ангіотензин-конвертуючого ферменту (*ACE*) та дисбіозом кишечника.

Матеріали та методи. Дослідження проводилися з дотриманням основних положень GCP (1996), Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (від 04.04.1997р.), Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964-2000) і Наказу МОЗ України №690 від 23.09.2009 р. Карта досліджень та формуляр інформованої згоди пацієнта були схвалені комісією з питань біомедичної етики Буковинського державного медичного університету МОЗ України (м. Чернівці).

Відбір пацієнтів та розподіл за групами за ураженням органів-мішеней і появою ускладнень ЕАГ здійснювали відповідно до класифікації вітчизняних та Європейських товариств кардіології та гіпертензії (ESC, ESH 2010) [2, 10]. Етап скринінгу пройшло 104 хворих на ЕАГ I-III стадій, котрі підписали інформовану згоду пацієнта на участь у дослідженні. Серед пацієнтів 48,1% (50) жінок і 51,9% (54) чоловіків, середній вік – 53,2±8,7 року, тривалість захворювання від 2-х до 30-и років (у середньому 16,85±7,50 року). Контрольну групу склали 20 практично здорових осіб відповідного віку та статі, які впродовж 3-6 місяців не хворіли на будь-які інфекційні захворювання.

Дослідження порожнинної мікрофлори дистального відділу товстої кишки проводили методом мікробіологічних кількісних та якісних досліджень наважки випорожнень обстежуваних за стандартним протоколом [11].

Офісний середній систолічний (САТ) та діастолічний (ДАТ), частоту серцевих скорочень (ЧСС) вимірювали згідно з рекомендаціями Американської асоціації кардіологів. 24-годинне моніторування АТ (ДМАТ) виконували на апараті "ABPE-02" ("SOLVAIG", Україна) за стандартним

протоколом: активація монітора кожних 15 хв у денний час (06.00-22.00) і кожні 30 хв. у нічний час (22.00-06.00). Аналіз показників поводити за допомогою програмного забезпечення даного апарату: аналізували середньодобовий САТ, ДАТ, пульсовий АТ (САТ₂₄, ДАТ₂₄, ПАТ₂₄) та ЧСС₂₄. Також всі хворі проходили комплекс обстежень: ЕКГ, Ехо-КГ, РЕГ, УЗО нирок, загальноклінічні та біохімічні аналізи, мікробіологічні дослідження мікрофлори кишки, консультації офтальмолога і невропатолога.

Алелі поліморфних ділянок вивчали шляхом виділення геномної ДНК із венозної крові обстежуваних із наступною ампліфікацією поліморфної ділянки за допомогою якісної полімеразної ланцюгової реакції на ампліфікаторі "Amplify-4L" (Москва). Дискримінацію алелей гена AGTR1 проводили за допомогою ендонуклеази рестрикції Dde I (HpyF31) ("Fermentas", США). Фрагменти ампліфікованої ДНК розділяли методом гель-електрофорезу й забарвлювали бромистим етидієм. Фрагменти візуалізували за допомогою УФ-випромінювача.

Статистичну обробку проводили за допомогою прикладних програм MS® Excel® 2003™, Primer of Biostatistics® 6.05 та Statistica® 7.0 (StatSoft Inc., США). Достовірність даних для незалежних вибірок вираховували із застосуванням t-критерію Student (розподіл за тестом Колмогорова-Смирнова був близьким до нормального); аналіз якісних ознак – за критерієм χ^2 (при частотах менше 5 – точний тест Фішера). Зв'язок показників – за допомогою рангової кореляції (r) за Spearman, параметричної – за Pearson. Різницю вважали вірогідною при $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. Частоту трапляння ЕАГ різних стадій залежно від поліморфізму генів ACE (I/D) та AGTR1 (A1166C) наведено у таблиці 1. Прогностична цінність позитивного результату появи ЕАГ II-III стадій у носіїв D-алеля гена ACE та C-алеля гена AGTR1 склала понад 90,0%, а при поєднанні 2-х "несприятливих" генотипів (DD- гена ACE та CC- гена AGTR1) – 100,0%.

Таблиця 1

Частота трапляння ЕАГ різних стадій залежно від генотипів генів ACE та AGTR1

Гени	Генотипи, n=104 (%)	ЕАГ I, n=14 (%)	ЕАГ II, n=42 (%)	ЕАГ III, n=48 (%)	χ^2 p
ACE (I/D)	DD, n=29 (27,9)	2 (6,9)	12 (41,4)	15 (51,7)	$\chi^2=41,9$ p<0,001
	I/D, n=56 (53,8)	5 (8,9)	23 (41,1)	28 (50,0)	
	II, n=19 (18,3)	7 (36,8)	7 (36,8)	5 (26,3)	
AGTR1 (A1166C)	AA, n=51 (49,0)	11 (21,6)	19 (37,2)	21 (41,2)	$\chi^2=16,7$ p=0,002
	AC, n=43 (41,3)	2 (4,6)	18 (41,9)	23 (53,5)	
	CC, n=10 (9,6)	1 (10,0)	5 (50,0)	4 (40,0)	

Примітки: 1. χ^2 p – вірогідність різниць показників за критерієм χ^2 . 2. n (%) – кількість (відсоток) спостережень за кожним генотипом.

За рівнем офісного АТ та ЧСС після відміни препаратів у носіїв DD-генотипу гена ACE САТ перевищував такий у хворих із I/D генотипом на 8,0% ($p < 0,04$), у пацієнтів із II-генотипом – на 13,2% ($p < 0,03$), у здорових осіб – на 27,8% ($p < 0,001$), при збереженні вагомої різниці між хворими з I/D- і II-генотипами ($p < 0,05$). За рівнем ДАТ суттєвих відмінностей між генотипами гена ACE не спостерігали. У носіїв CC-генотипу гена AGTR1 рівні офісного САТ і ДАТ були вищими на 6,1% і 7,4%, відповідно ($p < 0,05$), ніж у

пацієнтів із AA-генотипом, без суттєвих відмінностей із проміжним AC-генотипом. Показники ДМАТ залежно від тяжкості ЕАГ і поліморфізму аналізованих генів наведено у таблицях 2-3. САТ₂₄ у хворих на ЕАГ II і III стадій тяжкості (табл. 2) вірогідно перевищував такий у пацієнтів із ЕАГ I стадії – на 6,1% ($p < 0,05$) і 15,7% ($p < 0,02$), відповідно, зі збереженням вірогідної міжгрупової: САТ₂₄ у хворих на ЕАГ III був вірогідно вищим на 9,0% ($p < 0,05$), ніж у пацієнтів із ЕАГ II стадії.

Таблиця 2

Показники ДМАТ у хворих на ЕАГ залежно від ураження органів-мішеней, M±m

Показники ДМАТ	Контроль, n=20	ЕАГ I, n=14, 1 група	ЕАГ II, n=42, 2 група	ЕАГ III, n=48, 3 група
САТ ₂₄ , мм рт.ст	111,06±4,88	134,50±1,79 p=0,004	142,70±4,71 p=0,007 p ₁ <0,05	155,60±5,86 p=0,003 p ₁ <0,02 p ₂ <0,05
ДАТ ₂₄ , мм рт.ст	68,33±4,06	83,40±3,13 p=0,03	86,94±2,54 p=0,005	89,85±6,52 p<0,05
ПАТ ₂₄ , мм рт.ст	42,73±2,18	50,58±4,57	55,30±3,77 p<0,05	64,67±6,21 p<0,01 p ₁ <0,05
ЧСС ₂₄ , уд./хв	78,57±3,64	80,62±3,41	78,42±3,78	74,45±8,05

Примітки: 1. САТ₂₄, ДАТ₂₄, ПАТ₂₄ – систолічний, діастолічний, пульсовий середньодобовий АТ. 2. p – вірогідність різниць показників відносно контролю; p₁ – вірогідність різниць показників відносно пацієнтів 1 групи; p₂ – вірогідність різниць показників відносно пацієнтів 2 групи.

CAT₂₄ і ДАТ₂₄ (табл. 3) у гомозигот за D-алелем гена ACE перевищували такі у носіїв II-генотипу на 13,5% (p=0,01) і 18,8% (p<0,04), у носіїв I/D-генотипу – на 8,8% і 11,3% (p<0,05), відповідно. ЧСС₂₄ у носіїв DD-генотипу була більшою, ніж у хворих із II-генотипом на 16,3% (p<0,01). ПАТ₂₄ був вищим у носіїв D-алеля (I/D- і DD-генотипи), ніж у пацієнтів із II-генотипом на 13,2% (p=0,05) і 26,9% (p=0,02), при цьому зберігалась вірогідна різниця між носіями I/D і DD-генотипів на 15,7% (p<0,05).

За геном AGTR1 (табл. 3) виявили вищі показники CAT₂₄ і ПАТ₂₄ у носіїв CC-генотипу, ніж у хворих із A-алелем (AA- і AC-генотипи): за CAT₂₄ – на 11,6% (p<0,05) і 13,0% (p<0,02), відповідно, за ПАТ₂₄ – на 28,6% (p<0,03) і 21,9% (p<0,04), відповідно. Суттєвої різниці за ДАТ₂₄ між генотипами гена AGTR1 не спостерігали. Виявили превалювання ЧСС₂₄ у носіїв AA-генотипу над AC- на 11,9% (p=0,04), без вагомих відмінностей у денний і нічний періоди.

Таблиця 3

Показники ДМАТ у хворих на ЕАГ залежно від генотипів генів ACE та AGTR1

Гени	Генотипи, n=104 (%)	CAT ₂₄ , мм рт.ст.	ДАТ ₂₄ , мм рт.ст.	ПАТ ₂₄ , мм рт.ст.	ЧСС ₂₄ , уд/хв
Контроль, n=20		111,06±4,88	68,33±4,06	42,73±2,18	78,57±3,64
ACE (I/D)	II, n=19 (18,3), 1 гр.	134,60±3,70 p<0,005	78,55±3,25 p<0,05	47,45±3,05	74,90±1,50
	DD, n=29 (27,9), 2 гр.	155,64±6,25 p<0,004 p ₁ =0,01	96,70±4,20 p<0,01 p ₁ <0,04	64,90±4,75 p<0,01 p ₁ =0,02	89,55±1,95 p<0,03 p ₁ <0,01
	I/D, n=56 (53,8), 3 гр.	141,90±3,57 p<0,01 p ₂ <0,05	85,81±3,16 p<0,01 p ₂ <0,05	54,70±3,01 p<0,01 p ₁ =0,05 p ₂ <0,05	76,93±3,28 p ₂ <0,05
AGTR1 (A1166C)	AA, n=51 (49,0), 1 гр.	141,90±8,09 p<0,01	88,80±5,49 p<0,01	48,97±5,03	83,57±4,33
	AC, n=43 (41,3), 2 гр.	139,80±5,03 p<0,01	87,68±3,74 p<0,01	53,57±3,19 p<0,05	73,59±4,66 p ₁ =0,04
	CC, n=10 (9,6), 3 гр.	160,62±9,43 p<0,002 p ₁ <0,05 p ₂ <0,02	93,30±6,24 p<0,01	68,57±2,12 p<0,01 p ₁ <0,03 p ₂ <0,04	81,03±7,58

Примітки: 1. CAT₂₄, ДАТ₂₄, ПАТ₂₄ – систолічний, діастолічний, пульсовий середньодобовий АТ. 2. p – вірогідність різниць показників відносно контролю; p₁ – вірогідність різниць показників відносно пацієнтів 1 групи; p₂ – вірогідність різниць показників відносно пацієнтів 2 групи.

Кореляційні зв'язки тяжкості дисбіозу кишка із показниками периферійної гемодинаміки залежно від тяжкості ЕАГ наведено у таблиці 4. II-IV стадії дисбактеріозу кишка вірогідно корелювали із CAT₂₄ у хворих із ураженням органів-мішеней та ускладненнями (ЕАГ II і III). У носіїв D-алеля гена ACE тяжкість дисбіозу залежала від CAT₂₄ (r=0,72-0,82, p<0,001) і офісного САТ (r=0,31-0,88, p<0,022-0,001); ДАТ₂₄ визначав тяжкість

дисбіотичних змін у носіїв I/D-генотипу (r=0,53, p<0,001), а ДАТ офісний – у хворих із DD-генотипом (r=0,82, p<0,001). Залежно поліморфізму гена AGTR1: CAT₂₄ корелював із дисбіозом II-IV ступенів у пацієнтів із A-алелем (r=0,64-0,80, p<0,003-0,001), а показники офісних САТ і ДАТ визначали тяжкість дисбактеріозу у носіїв C-алеля (за САТ офісним – r=0,46-0,60, p<0,039-0,001; за ДАТ офісним r=0,44-0,64, p=0,002-0,001).

Таблиця 4

Кореляційні зв'язки (r) тяжкості дисбіозу кишка (II-IV стадії) із АТ залежно від стадій ЕАГ

Показники	ЕАГ					
	ЕАГ I, n=14		ЕАГ II, n=42		ЕАГ III, n=48	
CAT ₂₄	r=0,36	p>0,05	r=0,55	p=0,023	r=0,87	p=0,003
ДАТ ₂₄	r=0,14	p>0,05	r=0,26	p>0,05	r=0,50	p>0,05
САТ офісний	r=0,25	p>0,05	r=0,16	p>0,05	r=0,27	p>0,05
ДАТ офісний	r=0,17	p>0,05	r=0,25	p>0,05	r=0,17	p>0,05

Таким чином, наявність D-алеля гена ACE асоціюється з більшою частотою появи ЕАГ II і III стадій (p<0,001), вірогідно вищими рівнями

CAT₂₄, ДАТ₂₄ і ПАТ₂₄. Присутність AA-генотипу гена AGTR1 супроводжується частішою появою ЕАГ I стадії, без чіткої залежності між геноти-

пами даного гена за частотою ЕАГ II і III стадій, однак у носіїв СС-генотипу ЕАГ II стадії траплялися вірогідно частіше на 12,8%, ніж у хворих із АА-генотипом ($\chi^2=8,69$, $p=0,003$). Носійство СС-генотипу гена AGTR1 характеризується вищими показниками САТ₂₄ і ПАТ₂₄. Тяжкість дисбіозу кишки корелює із САТ₂₄ у хворих на ЕАГ II і III стадій ($r=0,55-0,87$, $p=0,023-0,003$), носіїв D-алеля гена ACE та А-алеля гена AGTR1. Офісний САТ і ДАТ визначає тяжкість дисбіозу у носіїв DD-генотипу гена ACE та С-алеля гена AGTR1.

Висновки. 1. Групою ризику частішої появи ЕАГ із ураженням органів-мішеней є носії D-алеля

гена ACE та СС-генотипу гена AGTR1. Наявність АА-генотипу гена AGTR1 асоціюється із частішою появою ЕАГ I стадії.

2. Присутність D-алеля гена ACE характеризується вірогідно вищими рівнями САТ₂₄, ДАТ₂₄ і ПАТ₂₄. Носійство СС-генотипу гена AGTR1 супроводжується вищими показниками САТ₂₄ і ПАТ₂₄.

3. Тяжкість дисбіозу кишки вірогідно корелює із САТ₂₄ у хворих на ЕАГ II і III стадій, носіїв D-алеля гена ACE та А-алеля гена AGTR1. Офісний САТ і ДАТ визначає тяжкість дисбіозу у носіїв DD-генотипу гена ACE та С-алеля гена AGTR1.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Пузырев В.П. Генетика артериальной гипертензии / В.П. Пузырев // Клиническая медицина. — 2003. — №1. — С.12—18.
2. Рекомендації Української асоціації кардіологів з профілактики та лікування артеріальної гіпертензії: посібник до Національної програми профілактики і лікування артеріальної гіпертензії // Артеріальна гіпертензія. — 2009. — № 1. — С. 38—75.
3. Сидорчук Л.П. Поліморфізм п'яти генів, комплекс "інтима-медіа" сонних артерій та ендотеліальна дисфункція у хворих на артеріальну гіпертензію / Л.П. Сидорчук // Укр. терапевт. журн. — 2009. — № 1. — С.76—84.
4. Целуйко В.Й. Влияние типа I/D полиморфизма гена ангиотензин-превращающего фермента на клиническое течение гипертонической болезни / В.Й. Целуйко, О.В. Пелецкая // Укр. кардіол. журн. — 2008. — №1. — С. 33—36.
5. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism predict development of metabolic syndrome / P. Palatini, G. Ceolotto, F. Dorigatti [et al.] // J. Hypertension. — 2007. — Vol. 25, № 2. — P.81—97.
6. Association of selected candidate Genes Polymorphisms with Essential Hypertension and Resistance to Therapy / Z. Hlubocka, M. Jachymova, K. Horky [et al.] // J. Hypertension. — 2006. — Vol.24, № 4. — P.16. — 95.
7. Cardiovascular pharmacogenetics in the SNP era / V. Mooser, D.M. Waterworth, T. Isenhour, L. Middleton // J. Thromb. Haemost. — 2003. — Vol.1, № 7. — P.1398—1402.
8. Cytokine levels in patients with different types of left ventricular hypertrophy / E.V. Levasheva, Z.D. Kobalava, Y.V. Kotovskaya [et al.] // J. Hypertension — 2006. — Vol.24, № 4. — P. 21—30.
9. Endotoxemia in congestive heart failure: highest levels in hepatic veins suggestive of intestinal bacterial and/or endotoxin translocation / T. Peschel, S.D. Anker, K. Ziegenbalg [et al.] // Eur. J. Heart Failure. — 2000. — Vol. 2, № 2. — P. 22—52.
10. ESC Guidelines Desk Reference. Compendium of abridged ESC Guidelines 2010 / [ESC and ESH Committee for Practice Guidelines]. — UK: Springer Healthcare, 2010. — 392 p.
11. King J.E. Digestive health / J.E. King. — USA: Mayo Clinic, 2000. — 194 p.
12. Left ventricular hypertrophy in relation to systolic blood pressure and the angiotensin converting enzyme I/D polymorphism in Chinese / A.P. Headley, Y. Li, L.H. Li [et al.] // J. Hypertension. — 2007. — Vol. 25, № 2. — P. 39—253.
13. The metabolic syndrome in relation to three candidate Genes in 6 European populations / V. Tikhonoff, K. Stolarz, E. Brand, K. Freson [et al.] // J. Hypertension. — 2006. — Vol. 24, № 4. — 145 p.

Стаття надійшла до редакції 31.03.2011

O.V. KUSHNIR

Bukovinian State Medical University, Hygiene and Ecology Department, Chernivtsi

PERIPHERAL HEMODYNAMIC IN PATIENTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION DEPENDING ON TWO GENES POLYMORPHISMS, CONNECTION WITH INTESTINAL DYSBIOSIS SEVERITIES

Peripheral hemodynamic in patients with essential arterial hypertension (EAH) in connection to genes polymorphisms AGTR1 (A1166C), ACE (I/D) and intestinal dysbiosis were evaluated. Presence of D-allele of ACE gene is characterized reliably higher levels of daily systolic, diastolic and pulse pressure (SBP₂₄, DBP₂₄, PBP₂₄). In CC-carriers of AGTR1 gene were higher levels of SBP₂₄ and PBP₂₄. Intestinal dysbiosis severities significantly correlate with SBP₂₄ in patients with EAH II and III grades, D-allele carriers of ACE gene and A-allele of AGTR1 gene. Office SBP and DBP determine intestinal dysbiosis severities in DD-genotype carriers of ACE gene and C-allele patients of AGTR1 gene.

Key words: essential hypertension, peripheral hemodynamic, intestinal dysbiosis, genes