

АНАЛИЗ АССОЦИИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ И РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВОЙ СИСТЕМЫ С ЛЕГОЧНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ

Уклистая Т.А.¹, Галимзянов Х.М.¹, Полунина О.С.¹, Перова Н.Ю.¹, Уклистая Е.А.¹

¹ГБОУ ВПО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Астрахань, Россия (414000, Астрахань, ул. Бакинская, 121), e-mail: uklistaya.tatyana@yandex.ru

Целью исследования было изучение частоты встречаемости генотипов и аллелей генов интерлейкина-1 β C3953T, фактора некроза опухоли- α G-308A, ангиотензинпревращающего фермента I/D, рецептора ангиотензина-II тип I у больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) в зависимости от наличия легочной гипертензии. Проведено обследование 40 больных ХОБЛ и 30 практически здоровых лиц. Среднее давление в легочной артерии рассчитывали по данным доплерэхокардиографии (формула A. Kitabatake). Анализ полиморфных локусов генов проводили методом полимеразной цепной реакции. Установлено, что аллель T, генотип CT полиморфизма C3953T гена интерлейкина-1 β и генотип ID полиморфизма I/D гена ангиотензинпревращающего фермента ассоциировались с повышением риска развития легочной гипертензии у больных ХОБЛ (относительный шанс (ОШ)=8,1, доверительный интервал (ДИ) 1,8–37,6; ОШ=6,0, ДИ 1,1–31,6; ОШ=5,7, ДИ 1,3–24,5 соответственно). Уровень среднего давления в легочной артерии у больных ХОБЛ носителей генотипа CC полиморфного локуса C3953T гена интерлейкина-1 β был статистически значимо более низким по сравнению с носителями генотипов CT (p=0,020) и TT (p=0,008).

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, легочная гипертензия, полиморфизм генов

ANALYSIS OF ASSOCIATION OF POLYMORPHISM OF GENES OF PROINFLAMMATORY CYTOKINES AND THE RENIN-ANGIOTENSIN SYSTEM WITH PULMONARY HYPERTENSION IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

Uklistaya T.A.¹, Galimzyanov H.M.¹, Polunina O.S.¹, Perova N.Y.¹, Uklistaya E.A.¹

¹State budget educational institution of higher professional education «Astrakhan state medical university», Astrakhan, Russia (414000, Astrakhan, Bakinskaya Street, 121), e-mail: uklistaya.tatyana@yandex.ru

The aim of the study was to investigate the frequency of genotypes and alleles of interleukin -1 β C3953T, tumor necrosis factor- α G-308A, angiotensin-converting enzyme I/D, angiotensin-II receptor type I in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) depend-simosti on the presence of pulmonary hypertension. The study involved 40 patients with COPD and 30 healthy subjects. Average pulmonary arterial pressure was calculated according to Doppler (Formula A.Kitabatake). Analysis of polymorphic loci of genes was performed by polymerase chain reaction. It was found that the T allele, genotype CT C3953T polymorphism of interleukin -1 β and ID genotype polymorphism I/D angiotensin converting enzyme gene associated with increased risk of pulmonary hypertension in patients with COPD (relative odds ratio (OR) — 8,1, confidence interval (CI) 1,8–37,6; OR — 6,0, CI 1,1–31,6; OR — 5,7, CI 1,3–24,5 respectively). The level of the average pressure in the pulmonary artery in patients with COPD genotype CC C3953T polymorphic locus gene of interleukin-1 β was significantly lower compared with the CT genotype (p = 0,020) and TT (p = 0,008).

Keywords: chronic obstructive pulmonary disease, pulmonary hypertension, gene polymorphism

Одним из серьезных осложнений хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) является развитие легочной гипертензии и формирование хронического легочного сердца [7]. При ХОБЛ легочная гипертензия обнаруживается у 25–40% больных [5]. Легочная гипертензия и легочное сердце определяют клинику, течение и прогноз ХОБЛ, ухудшают качество жизни, приводят к ранней инвалидности и смерти больных [1]. Диагностика легочной гипертензии на ранних этапах является весьма трудной задачей, а лечение

сформировавшегося легочного сердца представляет собой сложную, порой малоперспективную задачу [2]. В последнее десятилетие в формировании вторичной легочной гипертензии большое значение придается воспалению, оксидативному стрессу, дисфункции эндотелия, активации ренин-ангиотензиновой и симпатoadреналовой систем [2, 3, 4]. Некоторые исследователи полагают, что восприимчивость к развитию вторичной легочной гипертензии имеет генетическую основу [6]. В связи с этим привлекает внимание изучение полиморфизма генов, продукты которых могут участвовать в патогенезе легочной гипертензии.

Цель исследования

Изучить ассоциацию между полиморфизмом генов провоспалительных цитокинов, ренин-ангиотензиновой системы и вторичной легочной гипертензией у больных ХОБЛ жителей Астраханской области.

Материалы и методы исследования

В исследование были включены 40 пациента с ХОБЛ (мужчин 33, женщин 7) и 30 практически здоровых лиц (мужчин 19, женщин 11). Вторая стадия ХОБЛ диагностирована у 9, третья – у 17, четвертая – у 14 человек. Среди больных ХОБЛ по данным доплерэхокардиографии 20 пациентов имели легочную гипертензию (мужчин 14, женщин 6, средний возраст $57,1 \pm 9,8$ лет), а 20 – нет (мужчин 19, женщин 1, средний возраст $61,6 \pm 9,6$ лет). Группы больных в зависимости от наличия легочной гипертензии были сопоставимы по возрасту, длительности заболевания, индексу курения. Допплерэхокардиографию проводили на ультразвуковом анализаторе «Vivid 7» (GE Vingmed Ultrasound AS, Норвегия). Среднее давление в легочной артерии (СрДЛА) рассчитывали по формуле А. Kitabatake (1983). Критерием наличия легочной гипертензии считали повышение СрДЛА в условиях покоя выше 25 мм. рт. ст. Генетическое исследование выполнялось в лаборатории пренатальной диагностики наследственных болезней Института Акушерства и гинекологии им Д.О. Отта (г. Санкт-Петербург). Был изучен полиморфизм в 4 генах: интерлейкин-1 β (IL-1 β) (C3953T), фактор некроза опухоли- α (TNF- α) (G-308A), ангиотензинпревращающий фермент (ACE) (I/D), рецептор ангиотензина II тип I (AT2RI) (A1166C). ДНК выделяли из ядер лимфоцитов цельной венозной крови. Определение полиморфных вариантов генов проводили методом полимеразноцепной реакции. Определение интерлейкина-1 β , фактора некроза опухоли- α в сыворотке крови проводили иммуноферментным методом с использованием коммерческих наборов реагентов ProCon IL-1 β , и TNF- α (производства ООО «Протеиновый контур», Санкт-Петербург, Россия). Статистическая обработка данных выполнена с помощью пакета прикладных программ «Statistica for Windows» v. 7.0. Для сравнения частот признаков между различными группами использовали метод χ^2 , а также двухсторонний точный критерий

Фишера для небольших выборок. Об ассоциации факторов риска, аллелей или генотипов с патологическим фенотипом судили по величине отношения шансов (ОШ).

Результаты исследования и их обсуждение

На начальном этапе исследования была определена частота встречаемости аллелей и генотипов изучаемых полиморфизмов у практически здоровых лиц и больных ХОБЛ жителей Астраханской области. Распределение генотипов в группе практически здоровых лиц проверялось на его соответствие равновесию Харди—Вайнберга. Наблюдаемые частоты генотипов полностью соответствовали ожидаемым. Кроме того, был проведен сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов в группе практически здоровых лиц у мужчин и женщин. Анализ полученных данных свидетельствует об отсутствии значимых различий в распределении частот встречаемости генотипов и аллелей изученных полиморфизмов генов у больных ХОБЛ и практически здоровых жителей Астраханской области. У практически здоровых жителей Астраханской области не выявлено значимых различий в распределении частот встречаемости генотипов и аллелей изученных полиморфизмов генов в зависимости от пола.

В дальнейшем проанализировано распределение частот генотипов и аллелей полиморфных вариантов генов провоспалительных цитокинов и ренин-ангиотензиновой системы у больных ХОБЛ в зависимости от наличия легочной гипертензии (табл. 1).

Таблица 1

Частота распределения полиморфных вариантов генов провоспалительных цитокинов и ренин-ангиотензиновой систем у больных ХОБЛ в зависимости от наличия легочной гипертензии

Поли морф изм генов	Гено тип/ Алле ль	Практически здоровые (n=30) (абс/%)	Больные ХОБЛ без ЛГ (n=20) (абс/%)	Больные ХОБЛ с ЛГ (n=20) (абс/%)	Уровень значимост и р
		1	2	3	
IL-1β (C3953T)	CC	18/60,0	18/90,0	10/50,0	P ₁₋₂ 0,066
	CT	11/36,7	2/10,0	8/40,0	P ₁₋₃ 0,566
	TT	1/3,33	0/0	2/10,0	P ₂₋₃ 0,019
	C	47/78,3	38/95,0	28/70,0	P ₁₋₂ 0,045
	T	13/21,7	2/5,0	12/30,0	P ₁₋₃ 0,480 P ₂₋₃ 0,006
TNF-α (G-308A)	GG	21/70,0	18/90,0	17/85,0	P ₁₋₂ 0,247
	GA	9/30,0	2/10,0	2/10,0	P ₁₋₃ 0,133
	AA	0/0	0/0	1/5,0	P ₂₋₃ 0,598
	G	51/85,0	38/95,0	36/90,0	P ₁₋₂ 0,105
	A	9/15,0	2/5,0	4/10,0	P ₁₋₃ 0,341 P ₂₋₃ 0,338
ACE (I/D)	II	6/20,0	7/35,0	1/5,0	P ₁₋₂ 0,492
	ID	18/60,0	10/50,0	17/85,0	P ₁₋₃ 0,153
	DD	6/20,0	3/15,0	2/10,0	P ₂₋₃ 0,038

	I	30/50,0	24/60,0	19/47,5	P ₁₋₂ 0,437
	D	30/50,0	16/40,0	21/52,5	P ₁₋₃ 0,967 P ₂₋₃ 0,370
AT2R1 (A1166C)	AA	15/50,	8/40,0	9/45,0	P ₁₋₂ 0,196
	AC	15/50,0	10/50,0	11/55,0	P ₁₋₃ 0,942
	CC	0/0	2/10,0	0/0	P ₂₋₃ 0,349
	A	45/75,0	26/65,0	29/72,5	P ₁₋₂ 0,393
	C	15/25,0	14/35,0	11/27,5	P ₁₋₃ 0,963 P ₂₋₃ 0,630

Установлены значимые различия в распределении частот генотипов и аллелей по полиморфному локусу С3953Т гена IL-1 β ($p=0,019$, $p=0,006$ соответственно) и в распределении частот генотипа по полиморфизму I/D гена ACE ($p=0,038$) у больных ХОБЛ с легочной гипертензией и при ее отсутствии. Аллель Т, генотип СТ полиморфизма С3953Т гена IL-1 β и генотип ID полиморфизма I/D гена ACE ассоциировались с повышением риска развития легочной гипертензии у больных ХОБЛ (ОШ=8,1, доверительный интервал (ДИ) 1,8–37,6; ОШ=6,0, ДИ 1, 1–31,6; ОШ=5,7, ДИ 1,3–24,5 соответственно).

Выявлен статистически значимо более низкий уровень СрДЛА (23,0; 22,0:29,0) у больных ХОБЛ носителей генотипа СС полиморфного локуса С3953Т гена IL-1 β по сравнению с носителями генотипов СТ (28,0; 27,0:32,0) ($p=0,020$) и ТТ (36,0; 30,0:42,0) ($p=0,008$). Больные ХОБЛ носители генотипа II полиморфного локуса I/D гена ACE имели более низкие средние значения СрДЛА (22,0; 18,5:24,0) ($p=0,025$) по сравнению с носителями генотипа ID (28,0; 23,0:31,0).

Полиморфизм генов может быть одним из механизмов, участвующих в формировании индивидуальной вариабельности уровня продукции тех или иных белков. Представлялось интересным изучить сопоставление полиморфизмов изучаемых генов с уровнем цитокинов у больных ХОБЛ (табл. 2). Уровень интерлейкина-1 β в крови был более высокий у лиц — носителей генотипа СТ ($p=0,014$) и ТТ ($p=0,009$) по полиморфизму С3953Т гена IL-1 β , чем у носителей генотипа СС. Не выявлено значимых различий в уровне интерлейкина-1 β в крови у носителей генотипов СТ и ТТ ($p=0,385$). Носители генотипа ТТ по полиморфизму С3953Т гена IL-1 β имели более высокий уровень фактора некроза опухоли- α в сыворотке крови, чем носители генотипа СТ ($p=0,022$) и СС ($p=0,022$). Больные ХОБЛ носители генотипа GA по полиморфизму G-308A имели значимо ($p=0,041$) более высокий уровень фактора некроза опухоли- α в сыворотке крови. Отмечен статистически значимо ($p=0,009$) более высокий уровень интерлейкина-1 β в крови у носителей генотипа ID полиморфного локуса I/D гена ACE по сравнению с носителями генотипа II. Уровень интерлейкина-1 β в крови у носителей генотипа AA полиморфного локуса A1166C гена AT2R1 был значимо выше, чем у носителей генотипа AC ($p=0,038$) и СС ($p=0,025$).

Таблица 2

Уровни цитокинов в зависимости от полиморфизма генов у больных ХОБЛ

Показатель		Интерлейкин-1 β пг/мл	Фактор некроза опухоли- α , пг/мл
Ген	Генотип		
IL-1 β (C3959T)	CC (n=28)	66,1 (31,1:92,9)*	5,5 (0:24,7)
	CT (n=10)	117,7 (49,5:122,2)	19,3 (10,2:31,4)
	TT (n=2)	127,8 (110,6:145,0)	64,2 (29,6:98,7)*
TNF- α (G-308A)	GG (n=32)	82,1 (46,3:110,6)	11,5 (0:23,4)*
	GA (n=4)	65,2 (28,9:111,3)	66,4 (31,6:72,7)
	AA (n=1)	145	98,7
ACE (I/D)	II (n=8)	37,1 (21,9:74,6)*	0 (0:14,0)
	ID (n=27)	90,2 (57,2:115,2)	21,4 (0:35,6)
	DD (n=5)	30,0 (25,6:120,1)	0 (0:18,9)
AT2R1 (A1166C)	AA (n=17)	101,1 (70,1:121,4)*	18,9 (10,2:29,6)
	AC (n=21)	62,1 (41,2:91,4)	0 (0:25,9)
	CC (n=2)	31,1 (30,0:32,1)	31,6 (0:63,1)

* $p < 0,05$ (между генотипами по полиморфизму одного гена)

Выводы

Полученные результаты позволяют раскрыть некоторые новые аспекты предрасположенности к развитию у больных ХОБЛ легочной гипертензии и подтверждают данные литературы о возможном участии генетических факторов. В проведенном исследовании полиморфизм генов интерлейкина-1 β C3953T и ангиотензинпревращающего фермента I/D был связан с формированием легочной гипертензии и уровнем интерлейкина-1 β в крови.

Список литературы

1. Авдеев С.Н. Легочная гипертензия при хронической обструктивной болезни легких // Consilium medicum. – 2004. – Т. 6. — № 1. – С. 14–17.
2. Задионченко В.С. Дисфункция эндотелия и процессы апоптоза у больных хроническим легочным сердцем / В.С. Задионченко, Н.Б. Холодкова, О.И. Нестеренко, И.В. Погонченкова, А.М. Щикота // Российский кардиологический журнал. – 2007. — № 1. – С. 84–89.
3. Кароли Н.А., Ребров А.П. Некоторые механизмы развития легочной гипертензии у больных с хроническими обструктивными заболеваниями легких // Терапевтический архив. — 2005. — № 3. — С. 87–93.
4. Наконечников С.Н. Воспалительные механизмы в патогенезе различных форм легочной гипертензии: Автореф. дис. д.м.н. — М., 2011. — 46 с.

5. Неклюдова Г.В. Роль эндотелиальной дисфункции и ремоделирования сосудов легких в формировании легочной гипертензии у больных хронической обструктивной болезнью легких и идиопатическим легочным фиброзом: Автореф. дис. д.м.н. — М., 2010. — 47 с.
6. Сарыбаев А.Ш. Клинико-функциональная характеристика и принципы лечения высокогорной легочной гипертензии: Автореф. дис. д.м.н. — Бишкек, 2002.- 48 с.
7. Хронические обструктивные болезни легких / Под ред. А.Г. Чучалина. — М.: Бином, 2000. – 509 с.

Рецензенты:

Попов Е.А., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой поликлинического дела и скорой медицинской помощи с курсом семейной медицины ГБОУ ВПО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Астрахань;

Астахин А.В., д.м.н., профессор кафедры факультетской терапии и профессиональных болезней с курсом последипломного образования ГБОУ ВПО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Астрахань.