

Полиморфизм гена ангиотензин-превращающего фермента у больных хроническим гломерулонефритом

Р.Р. Калиев, А.Б. Будаичева, А.А. Алдашев, М.М. Миррахимов
Кафедра терапевтических дисциплин Кыргызско-Российского Славянского университета, Кыргызстан, г. Бишкек

Gene polymorphism of angiotensin-converting enzyme in glomerulonephritis

R.R. Kaliev, A.B. Budaychieva, A.A. Aldashev, M.M. Mirrakchimov

Ключевые слова: полиморфизм, ген, ангиотензин-превращающий фермент, гломерулонефрит, холестерин.

Цель исследования. Изучить характеристику частотного распределения полиморфизма гена ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) и его связь с активностью АПФ в кыргызской популяции при гломерулонефрите (ГН).

Материал и методы. Нами обследовано 48 больных ГН в возрасте $34,08 \pm 1,9$ года и 48 практически здоровых лиц в среднем возрасте $34,98 \pm 1,94$ года. Амплификацию полиморфного участка гена АПФ проводили полимеразной цепной реакцией (ПЦР). Концентрация АПФ сыворотки крови и его активность определялись спектрофлуориметрическим методом.

Результаты. Полученное распределение генотипов II, ID и DD гена АПФ среди больных ГН и в группе здоровых лиц соответствовало равновесию Харди-Вайнберга: II – 20,8% (n = 10), ID – 66,7% (n = 32), DD – 12,5% (n = 6), аллель I – 54,1%, аллель D – 45,9% у пациентов с ГН; II – 33,3% (n = 16), ID – 52,1% (n = 25), DD – 14,6% (n = 7), аллель I – 59,3%, аллель D – 40,7% в контрольной группе. Однако существенной разницы в частоте генотипов и аллелей в указанных группах не обнаружено ($\chi^2 = 2,3$; $p > 0,05$).

Средние значения активности АПФ у больных ГН в сыворотке крови для каждого из генотипов II, ID и DD были $25,05 \pm 3,38$, $31,81 \pm 2,28$ и $41,25 \pm 5,65$ нг/мл соответственно. В то же время их средние значения в здоровой популяции были $23,68 \pm 0,99$, $31,4 \pm 1,73$ и $38,06 \pm 4,45$ нг/мл соответственно. Таким образом, активность АПФ в сыворотке крови у пациентов с ГН была гораздо выше при DD-генотипе по сравнению с активностью АПФ при II-генотипе ($p < 0,02$). В здоровой популяции также активность АПФ в сыворотке крови была гораздо выше у лиц с DD-генотипом по сравнению с активностью АПФ у лиц с II-генотипом и ID-генотипом ($p < 0,02$). Сравнительный анализ клинических и лабораторных данных больных ГН в зависимости от генотипа не выявил существенной разницы со стороны основных показателей. Между тем уровень общего холестерина сыворотки крови оказался значительно выше у больных ГН с DD-генотипом ($7,74 \pm 1,16$ ммоль/л) по сравнению с больными с II- ($4,69 \pm 0,36$ ммоль/л) и ID- ($5,09 \pm 0,36$ ммоль/л) генотипами ($p < 0,05$).

Заключение. Развитие ХГН в кыргызской популяции не ассоциируется с носительством какого-либо генотипа гена АПФ. В то же время у больных ХГН и у здоровых лиц с генотипом DD активность АПФ существенно выше, что сочетается с более высокой концентрацией ХС в сыворотке крови.

Aim. The frequency distribution of gene polymorphism of angiotensin-converting enzyme (ACE) and its correlation with ACE activity in kyrgyz population with glomerulonephritis (GN) were studied.

Material and methods. 48 GN patients $34,08 \pm 1,9$ years old and 48 healthy subjects were studied. A polymorphic site of ACE gene was amplified using polymerize chain reaction (PCR). ACE concentration and its activity were defined spectrofluorimetrically.

Results. The distribution of genotypes II, ID and DD of ACE gene among the patients with GN and in control group corresponded to the Hardy-Wainberg distribution: II – 20,8% (n = 10), ID – 66,7% (n = 32), DD – 12,5% (n = 6), allele I – 54,1%, allele D – 45,9% in patients with GN, and II – 33,3% (n = 16), ID – 52,1% (n = 25), DD – 14,6% (n = 7), allele I – 59,3%, allele D – 40,7% in control group. However, no significant difference in frequency of genotypes and alleles in the specified groups was revealed ($\chi^2 = 2,3$; $p > 0,05$).

The average values of ACE activity (ng/ml) in the patients with GN for each of genotypes II, ID and DD were $25,05 \pm 3,38$, $31,81 \pm 2,28$ and $41,25 \pm 5,65$, respectively. Their average value in control group was $23,68 \pm 0,99$, $31,4 \pm 1,73$ and $38,06 \pm 4,45$, respectively. Thus, ACE activity in patients with GN was much higher at DD-genotype in comparison with II-genotype ($p < 0,02$). In control group the ACE activity was much higher in the subjects with DD-genotype compared

Адрес для переписки: Кыргызская Республика, 720005, г. Бишкек, ул. Юнусалиева, д. 103. Калиев Рысбек Рысманбетович
Телефон: 996 312 625 708 (р.), 996 312 660 387 (факс)
E-mail: karys2002@mail.ru

to that in patients with II-genotype and ID-genotype ($p < 0,02$).

The total cholesterol level in patients with GN with DD-genotype ($7,74 \pm 1,16$ mmol/l) was significantly higher than in patients with II- ($4,69 \pm 0,36$ mmol/l) and ID- ($5,09 \pm 0,36$ mmol/l) genotypes ($p < 0,05$).

Conclusion. Development of CGN doesn't associate with ACE gene polymorphism in kyrgyz population. At the same time activity of ACE is much higher at the patients with CGN and in healthy persons with genotype DD. It's related with higher concentration of cholesterol in the serum.

На протяжении последнего десятилетия в нефрологии большое внимание уделяется вкладу генетических факторов в возникновение и прогрессирование нефропатий, в частности изучению полиморфных маркеров, относящихся к генам ренин-ангиотензин-альдостероновой системы. Описано, что ген АПФ, играющий важную роль в регуляции системной и локальной почечной гемодинамики [1], расположен в области q23 хромосомы 17. Обнаружено, что ген АПФ обладает полиморфизмом типа «вставка/отсутствие вставки» (I/D) в интроне 16. Длина аллеля I, содержащего вставку, составляет 480 пар нуклеотидов, а аллеля D – 190 пар нуклеотидов. Показано, что данный полиморфизм определяет уровень АПФ [13]. Так обнаружено, что у носителей генотипа DD выше концентрация фермента, чем у лиц с генотипом II [10]. Это наблюдение вызвало всплеск интереса к поиску ассоциации носительства аллеля D с прогрессирующим течением хронических заболеваний почек.

Цель исследования. Изучить характеристику частотного распределения полиморфизма гена АПФ и его связь с активностью АПФ в кыргызской популяции при ХГН.

Материал и методы. Нами обследовано 48 больных ХГН (31 мужчина и 17 женщин) в возрасте $34,08 \pm 1,9$ года. Длительность заболевания составляла $5,4 \pm 0,8$ года. Диагноз ХГН подтверждался стандартными клиническими исследованиями: анамнез, осмотр с измерением веса и артериального давления (по методу Короткова), общий анализ крови и мочи, суточная протеинурия, биохимические анализы крови (общий белок и белковые фракции, общий холестерин, креатинин, сахар, электролиты) на автоанализаторе «Beckman» (США), клубочковая фильтрация (проба Реберга–Тареева) и у части больных (5 человек) – пункционная биопсия почки. При морфологическом исследовании были выявлены следующие варианты гломерулонефрита: мезангиопролиферативный (у трех больных), мезангиокапиллярный и мембранозный (по одному случаю). На момент исследования все пациенты находились на симптоматической терапии. Контрольную группу составили 48 практически здоровых лиц, соответствующих по полу и возрасту основной группе.

Выделение геномной ДНК из венозной крови обследуемых осуществляли с использованием набора «Nucleon BACC3» (Amersham Pharmacia Biotech, Швеция). Амплификацию полиморфного участка гена АПФ проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) на амплификаторе «Maxi-Gene» (Stuart Scientific, Великобритания). Продукты ПЦР разделяли с помощью электрофореза в 2% агарозном геле. В работе использовали термостабильную ДНК-полимеразу «Platinum Tag DNA Polymerase» (Life Technologies – Gibco BRL, Великобритания). Синтетические олигонуклеотидные

праймеры были синтезированы «Genesys» (Великобритания). В результате амплификации полиморфного участка гена АПФ происходило образование двух продуктов длиной 190 п.н. (аллель D) и 480 п.н. (аллель I). Анализ электрофоретических гелей ДНК проводили на имидж-денситометре «Fluor-S Multimager» (Bio-Rad, США). Концентрация АПФ сыворотки крови и его активность определялись у всех исследуемых спектрофлуориметрическим методом на спектрофлуориметре «Hitachi – F-300» (Япония). Статистическая обработка проводилась с помощью определения χ^2 и критерия Стьюдента t.

Результаты исследования

Обнаруженное нами распределение аллелей гена АПФ у больных ХГН показало преобладание частоты встречаемости I-аллеля (табл. 1). Распределение генотипов II, ID и DD гена АПФ среди больных ХГН и здоровой кыргызской популяции соответствовало равновесию Харди–Вайнберга. Однако существенной разницы в частоте генотипов и аллелей в указанных группах не обнаружено ($\chi^2 = 2,3$; $p > 0,05$). Средние значения активности АПФ у больных ХГН в сыворотке крови для каждого из генотипов II, ID и DD были $25,05 \pm 3,38$, $31,81 \pm 2,28$ и $41,25 \pm 5,65$ нг/мл соответственно. Их средние значения в здоровой популяции соответствовали $23,68 \pm 0,99$, $31,4 \pm 1,73$ и $38,06 \pm 4,45$ нг/мл.

Согласно нашим данным, активность АПФ в сыворотке крови при генотипе DD как у больных ХГН, так и у здоровых лиц гораздо выше, чем у аналогичной подгруппы с II-генотипом (табл. 2, $p < 0,02$). У здоровых обнаружилась более высокая активность АПФ и при наличии генотипа ID.

У больных ХГН мы не нашли связи между полиморфизмом гена АПФ и уровнем системного АД (табл. 3). Обращает на себя внимание наличие лишь определенной тенденции к возрастанию уровня системного АД при сравнении лиц с генотипом II и генотипом DD.

При ХГН нам не удалось установить значимых различий между клиническими и лабораторными данными, с одной стороны, и генотипом АПФ – с другой (табл. 4). В то же время обращает на себя внимание более

Таблица 1
Распространенность генотипов и аллелей гена АПФ при хроническом гломерулонефрите и у здоровых (этнических кыргызов)

Генотип	Больные ХГН (n = 48)	Контрольная группа (n = 48)
II, %	20,8	33,3
ID, %	66,7	52,1
DD, %	12,5	14,6
I-аллель, %	54,1	59,3
D-аллель, %	45,9	40,7
$\chi^2 = 2,3, p > 0,05$		

Таблица 2

Сравнительная характеристика активности АПФ ($M \pm m$) при различных генотипах гена АПФ у больных ХГН и здоровых (этнических кыргызов)

Под-группы	Активность АПФ в МУ/мл/мин			р II-ID	р II-DD	р ID-DD
	II	ID	DD			
Больные с ХГН	25,05 ± 3,38	31,81 ± 2,28	41,25 ± 5,65	р > 0,05	р < 0,02	р > 0,05
Здоровые лица	23,68 ± 0,99	31,40 ± 1,73	38,06 ± 4,45	р < 0,02	р < 0,02	р > 0,05

Таблица 3

Сравнительная характеристика уровней системного артериального давления ($M \pm m$, в мм рт. ст.) у больных ХГН с различными генотипами гена АПФ

АД	II	ID	DD	р II-ID	р II-DD	р ID-DD
САД	151,5 ± 9,2	152,7 ± 5,5	164,2 ± 8,2	р > 0,05	р > 0,05	р > 0,05
ДАД	95,5 ± 6,3	97,7 ± 2,9	101,6 ± 10,1	р > 0,05	р > 0,05	р > 0,05

Таблица 4

Сравнительная характеристика клинико-лабораторных данных ($M \pm m$) больных ХГН с различными генотипами гена АПФ

Показатели	Генотип		
	II	ID	DD
Протеинурия (г/сут)	2,1 ± 1,2	2,7 ± 0,9	1,7 ± 1,0
Альбумины (от гн. %)	50,8 ± 2,8	47,9 ± 1,8	52,9 ± 2,3
Холестерин сыв. (ммоль/л)	4,69 ± 0,36	5,09 ± 0,36	7,74 ± 1,16*
Креатинин сыв. (ммоль/л)	99,6 ± 5,3	109,7 ± 11,6	86,3 ± 11,5
СКФ (мл/мин)	156,9 ± 15,9	141,4 ± 31,3	115,1 ± 16,5

Примечание. * наличие достоверных различий ($p < 0,05$) при сравнении с II-генотипом.

высокая сывороточная концентрация ХС и меньшее значение СКФ при DD-генотипе.

Обсуждение

В настоящее время опубликовано значительное число работ, посвященных изучению взаимосвязи полиморфизма гена АПФ с развитием ХГН. Однако данные этих исследований довольно противоречивы. Мы провели анализ полиморфизма гена АПФ у больных ХГН и у здоровых лиц в кыргызской популяции.

Роль полиморфизма гена АПФ при заболеваниях почек была рассмотрена в обзоре (10 исследований) G. Navis и соавт. [8]. В большинстве работ авторы пришли к заключению, что наличие D-аллеля определяет высокий риск прогрессирующей потери почечной функции, особенно у пациентов с сахарным диабетом. В то же время исследования пациентов с IgA-нефропатией и поликистозом почек дали разноречивые результаты. В большинстве из них исследователи не обнаружили связи полиморфизма гена АПФ с патогенезом ХГН [5, 9, 11].

В нашем исследовании мы также не выявили различий в полиморфизме гена АПФ среди этнически однородной группы больных ХГН и здоровых людей.

Функциональная значимость полиморфизма гена АПФ является объектом дискуссий. Сообщается, что у лиц с делеционным полиморфизмом (DD) плазменная активность АПФ в четыре раза выше, чем у лиц, гомозиготных по инсерционному аллелю [3, 10]. Также в ряде работ показано, что у носителей DD-генотипа отмечались значительно более высокие цифры артериального давления [12, 14]. В других исследованиях подобной

связи с уровнем артериального давления не выявлено [4, 7].

Мы обнаружили, что у больных ХГН с DD-генотипом отмечается значительно более высокая активность АПФ. Наряду с этим такая же взаимосвязь была выявлена и у здоровых лиц. Кроме того, нам не удалось выявить взаимосвязи полиморфизма гена АПФ с системным артериальным давлением при ХГН.

В отдельных исследованиях выявлена значительная ассоциация D-аллеля с высоким риском сердечно-сосудистой и цереброваскулярной патологии [2, 6]. Косвенным подтверждением такой взаимосвязи в нашем исследовании послужило обнаружение более высоких цифр общего холестерина сыворотки крови у больных ХГН с DD-генотипом.

Итак, развитие ХГН в кыргызской популяции не ассоциируется с носительством какого-либо генотипа гена АПФ. В то же время у больных ХГН и у здоровых лиц с генотипом DD активность АПФ существенно выше, что сочетается с более высокой концентрацией ХС в сыворотке крови. Возможно,

приблизительно в 25% случаев DD-генотипа DD стороны сердечно-сосудистой системы в форме атеросклеротического процесса. Нельзя также исключить, что будущие долгосрочные наблюдения за больными ХГН, принадлежащими к разным генотипам АПФ, с одной стороны, уровнем холестерина – с другой, могут обнаружить определенные особенности в вовлечении в патологический процесс не только сердечно-сосудистой системы, но, возможно, и почек.

Литература

1. Кутырина И.М., Тареева И.Е., Носиков В.В. и др. Изучение полиморфизма гена ангиотензин-превращающего фермента при хроническом гломерулонефрите. Тер. арх. 1999; 6: 94–96.
2. Cambien F, Poirier O, Leclerc L et al. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. Nature 1992; 359: 641–644.
3. Costerouse O, Allegrini J, Lopez M, Albenc-Gelas F. Angiotensin I Converting enzyme in human circulating mononuclear cells: Genetic polymorphism of expression in T-lymphocyte. Biochem J 1993; 290: 33–40.
4. Krege JK, Kim H.C., Moyer J.S. et al. Angiotensin converting enzyme gene mutations, blood pressure and cardiovascular homeostasis. Hypertension 1997; 29: 150–157.
5. Lau YK, Woo K.T., Choong H.L. et al. ACE gene polymorphism and disease progression of IgA Nephropathy in Asians in Singapore. Nephron 2002; 91: 499–503.
6. Losito A, Kalidas K, Santoni S. et al. Polymorphism of renin-angiotensin system genes in dialysis patients – association with cerebrovascular disease. Nephrol Dial Transplant 2002; 17: 2184–2188.
7. Matsubara M, Suzuki M, Kikuya M. et al. Angiotensin converting enzyme I/D polymorphism and hypertension: The Ohasama study. J of Hypertension 2002; 20: 1121–1126.
8. Navis G, Van Der Kleij F.G., De Zeeuw D., De Jong P.E. Angiotensin-Converting enzyme gene polymorphism has no influence on the

circulating renin-angiotensin-aldosterone system or blood pressure in normotensive subjects. *Circulation* 1995; 91: 2933–2942.

9. Ong-Ajyooth S, Ong-Ajyooth L, Limmongkon A. et al. The renin-angiotensin system gene polymorphisms and clinicopathological correlations in IgA nephropathy. *J Med Assoc Thai* 1999; 82: 681–689.

10. Rigat B, Hubert C, Alenc-Gelas F. et al. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 1990; 86: 1343–1346.

11. Schena F.P., D'Altri C., Cerullo G. et al. ACE gene polymorphism and IgA nephropathy: An ethnically homogeneous study and a meta-analysis. *Kidney Int* 2001; 60: 732–740.

12. Stefansson B, Ricksten A, Rymo L. et al. Angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism in malignant hypertension. *Blood*

Press 2000; 9: 1054–1059.

13. Tiret L, Rigat B, Visvikis S. et al. Evidence from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin-converting enzyme ACE gene controls plasma levels. *Amer J Hum Genet* 1992; 51: 197–205.

14. Van der Kleij F.G.H., De Jong P.E., Henning R.H. et al. Enhanced responses of blood pressure, renal function and Aldosterone to angiotensin I in the DD genotype are blunted by low sodium intake. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 1025–1033.

Влияние высокоминерализованной питьевой воды на состояние здоровья и функции почек детского населения Новосибирской области и Алтайского края

Г.И. Крашенинина¹, Е.М. Трофимович², Р.И. Айзман³

¹ Кафедра гигиены, Новосибирская государственная медицинская академия,

² Государственное учреждение «Новосибирский научно-исследовательский институт» МЗ РФ, отдел гигиены окружающей среды и здоровья населения,

³ Кафедра анатомии, физиологии и валеологии, Новосибирский государственный педагогический университет; г. Новосибирск

Effect of high-mineralized water on health state and renal functions in children from Novosibirsk and Altai regions

G.I. Krasheninina, E.M. Trofimovich, R.I. Aizman

Ключевые слова: здоровье, дети, заболеваемость, функция почек, высокоминерализованная питьевая вода.

Целью исследования было изучение состояния здоровья и функций почек у детей, проживающих на территории с высокоминерализованной питьевой водой. Изучена общая заболеваемость детского населения Искитимского (контроль) и Куйбышевского (р-н наблюдения) районов Новосибирской области, а также проведено углубленное медико-физиологическое обследование детей в возрасте 13–15 лет поселков Благовещенка (р-н наблюдения) и Павловск (контроль) Алтайского края. В районе наблюдения питьевая вода имела повышенные показатели минерализации, жесткости, содержания натрия, в контроле показатели качества воды источников питьевого водоснабжения соответствовали гигиеническим нормативам. Установлено, что у детей Куйбышевского района уровень общей заболеваемости выше, чем на контрольной территории. У детей поселка Благовещенка выявлено нарушение функций почек в ответ на водную нагрузку, преобладание гипертонического типа реакции сердечно-сосудистой системы на физическую нагрузку, отставание биологического возраста по сравнению с календарным. Делается вывод, что у детей, проживающих на территориях с высокоминерализованной питьевой водой, отмечаются рост общей заболеваемости, нарушения функции почек, сердечно-сосудистой системы, задержка процессов физического развития.

The aim of this study was to evaluate the health state and renal functions in children living in the areas with highly mineralized drinking water. The total sickness rate as well as extending medical and physiological examination was performed in 13–15-years-old children in two control (Iskitim and Pavlovsk) and two experimental (Kujbishev and

Адрес для переписки: 630126, г. Новосибирск, Вилюйская ул., д. 28. Педагогический университет. Айзман Роман Иделевич

Телефон: (3832) 68-05-81 (р.). Айзман Роман Иделевич

E-mail: aizman@jns.nspu.ru