

И.В. Севостьянова, Л.П. Воронина, Е.А. Полунина, И.Н. Полунин

**ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ СИНТАЗЫ
ОКСИДА АЗОТА НА СОСТОЯНИЕ СОСУДИСТОГО ЭНДОТЕЛИЯ
У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ**

ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздрава России

У больных БА с генотипом 4a/4b обнаружены признаки дисфункции эндотелия. Носительство полиморфного генотипа 4a/4b является маркером повышенного риска развития дисфункции эндотелия при бронхиальной астме, причем ассоциировано с более тяжелой дисфункцией.

Ключевые слова: бронхиальная астма, генотип, дисфункция эндотелия.

I.V. Sevostyanova, L.P. Voronina, E.A. Polunina, I.N. Polunin

**THE INFLUENCE OF POLYMORPHISM GENE OF ENDOTHELIAL SYNTHASE
OF NITROGEN OXIDE ON THE STATUS OF VASCULAR ENDOTHELIUM
OF PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA**

The characters of endothelium dysfunction have been found out in bronchial asthmatics with genotype 4a/4b. The carrier condition of polymorphic genotype 4a/4b was a marker of increased risk of endothelium dysfunction at bronchial asthma progress and it was associated with more serious endothelium dysfunction.

Key words: bronchial asthma, genotype, dysfunction of endothelium.

Введение. Одной из причин инвалидизации и высокой летальности больных бронхиальной астмой (БА) является вовлечение в патологический процесс сердца и сосудов [3]. В качестве первичного звена поражения сосудистой стенки рассматривается эндотелиальная дисфункция – одно из системных проявлений БА, развивающееся в ответ на воздействие ряда патогенетических повреждающих факторов заболевания. В последние десятилетия активно обсуждается роль полиморфизма 4a/4b в четвертом интроне гена эндотелиальной синтазы оксида азота (NO-синтазы) в развитии и прогрессировании заболеваний сердечно-сосудистой системы [1]. Считается, что в основе этого лежит дисфункция сосудистого эндотелия, в развитии которой велика роль данного полиморфизма. Также имеются данные об ассоциации полиморфизма 4a/4b гена эндотелиальной NO-синтазы и бронхиальной астмы [1]. В связи с этим представляется актуальным исследование влияния данного полиморфизма на состояние сосудистого эндотелия у больных бронхиальной астмой.

Цель: изучить полиморфизм гена эндотелиальной NO-синтазы у больных БА во взаимосвязях с показателями функциональной активности эндотелия.

Материалы и методы исследования. Под наблюдением находилось 276 пациентов в возрасте от 25 до 60 лет, поступивших на лечение в терапевтическое отделение ГБУЗ АО «Городская клиническая больница № 4 имени В.И. Ленина» с верифицированным диагнозом: бронхиальная астма, смешанная форма (инфекционно-зависимая и атопическая), фаза обострения. Средний возраст пациентов составил $41,1 \pm 2,7$ года.

Исследование функционального состояния сосудистого эндотелия проводилось методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ). Проводились функциональные пробы: две ионофоретические пробы (с последовательным использованием фармакологических стимулов: нитропруссид натрия и ацетилхолина).

Определение уровня натрийуретического пептида типа С (СНП) в образцах плазмы осуществлялось методом иммуноферментного анализа с помощью коммерческих тест систем «NT-proCNP» («Biomedica Medizinprodukte GmbH & Co KG», Австрия).

На основании данных ионофоретических проб и уровня СНП каждому пациенту сделано заключение о наличии и выраженности эндотелиальной дисфункции.

Генотипирование по полиморфному маркеру гена NOS3 проводили на геномной ДНК, выде-

ленной из цельной крови. Полиморфные участки гена NOS3 амплифицировали с помощью полимеразной цепной реакции. Аллели полиморфного участка eNOS4b/4a идентифицировали путем анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ).

Статистическую обработку данных проводили при помощи статистической программы Statistica 7.0 (Stat Soft Inc., USA) [2].

Для каждого показателя и групп наблюдений вычисляли: среднее значение и медиану, 5 и 95 процентиля. Для проверки статистических гипотез при сравнении числовых данных 2 несвязанных групп использовали U-критерий Манна-Уитни, при сравнении связанных групп – W критерий Вилкоксона. При сравнении качественных данных использовали критерий хи-квадрат (χ^2) Пирсона. В работе проводили расчет абсолютного риска (АР) события, повышения абсолютного риска (ПАР) развития события, относительного риска (ОР), повышения относительного риска (ПОР), отношения шансов (ОШ), доверительного интервала (ДИ) для ПАР, ДИ для ОР (по Katz), для ОШ (по Woolf). Критический уровень статистической значимости принимали 5 % ($p = 0,05$).

Результаты исследования и их обсуждение. В работе было установлено, что у больных БА имеет место нарушение функционального состояния сосудистого эндотелия, то есть дисфункция эндотелия различной степени выраженности, проявляющаяся снижением коэффициента эндотелиальной функции (КЭФ) и повышением уровня натрийуретического пептида типа С (СНП). В зависимости от выраженности ЭД выделены пациенты: с нормальным функциональным состоянием сосудистого эндотелия, имевшие значение $KЭФ \geq 1$, с умеренной дисфункцией сосудистого эндотелия – $KЭФ < 1$, но $\geq 0,8$ (без гиперпродукции СНП и с гиперпродукцией СНП) и с выраженной дисфункцией сосудистого эндотелия (ДЭ) – $KЭФ < 0,8$.

Была предпринята попытка проследить зависимость состояния сосудистого эндотелия у больных БА от наличия или отсутствия полиморфизма 4a/4b гена eNOS. Для этого было выделено 2 группы: больные БА с генотипом 4b/4b ($n = 155$ человек) и больные БА с полиморфным генотипом 4a/4b ($n = 121$ человек). В указанных группах было определено значение КЭФ и СНП. Значение КЭФ у больных БА с генотипом 4b/4b составило 1,12, что было статистически значимо ($p = 0,003$) ниже по сравнению с группой контроля. Обращало на себя внимание то, что значение медианы КЭФ в группе больных БА с генотипом 4b/4b было больше 1, что отражало отсутствие ДЭ, однако значение 5 процентиля было существенно меньше 1, что указывало на наличие в данной группе пациентов с ухудшением функционального состояния сосудистого эндотелия. Уровень СНП в группе больных БА с генотипом 4b/4b составил 6,77 пг/мл, что не имело статистически значимых различий с группой контроля ($p = 0,714$), однако значение 95 процентиля уровня СНП в группе больных БА с генотипом 4b/4b было выше по сравнению с контрольной группой. В группе больных БА с полиморфным генотипом 4a/4b значение КЭФ составило 0,83, что было статистически значимо ниже по сравнению с группой контроля ($p < 0,001$), а также БА с генотипом 4b/4b ($p = 0,001$). Уровень СНП в группе больных БА с полиморфным генотипом 4a/4b составил 11,95 [6,4; 35,86] пг/мл, что было статистически значимо выше, чем в группе контроля ($p < 0,001$) и в группе больных БА с генотипом 4b/4b ($p = 0,001$).

Таким образом, у больных БА с генотипом 4a/4b выявлены признаки ДЭ: уменьшение КЭФ и увеличение уровня СНП (медианы и 95 процентиля).

При изучении частоты встречаемости дисфункции эндотелия различной выраженности в группах больных БА с различными вариантами полиморфизма гена eNOS было установлено, что в группе больных БА с генотипом 4b/4b имели ДЭ 50 человек, что составило 32,3 % от числа пациентов в группе больных БА с генотипом 4b/4b и 18,1 % от общего числа обследованных пациентов и было статистически значимо меньше, чем пациентов, не имеющих ДЭ – 105 человек (67,7 %; 38 %), ($\chi^2 = 13,2$; $df = 1$; $p < 0,001$). При этом умеренную ДЭ без гиперпродукции СНП имели 19 человек (12,3 %; 6,9 %), что было статистически значимо меньше, чем пациентов без ДЭ ($\chi^2 = 44,3$; $df = 1$; $p < 0,001$). Умеренную ДЭ с гиперпродукцией СНП имели в группе больных БА с генотипом 4b/4b 22 человека (14,2 %; 7,9 %), что было статистически значимо меньше, чем пациентов без ДЭ ($\chi^2 = 39,9$; $df = 1$; $p < 0,001$), однако не имело статистически значимых различий с частотой встречаемости умеренной ДЭ без гиперпродукции СНП ($\chi^2 = 0,19$; $df = 1$; $p = 0,659$). Выраженную ДЭ имели в группе больных БА с генотипом 4b/4b 9 человек (5,8 %; 3,3 %), что было статистически значимо меньше, чем пациентов без ДЭ и пациентов с умеренной ДЭ с гиперпродукцией СНП ($\chi^2 = 39,9$; $df = 1$; $p < 0,001$ и $\chi^2 = 52,3$; $df = 1$; $p < 0,001$), однако не имело статистически значимых различий с частотой встречаемости умеренной ДЭ без гиперпродукции СНП ($\chi^2 = 3,28$; $df = 1$; $p = 0,07$). В группе

больных БА с генотипом 4a/4b число пациентов, имеющих ДЭ, было статистически значимо ($\chi^2 = 51,0$; $df = 1$; $p < 0,001$) меньше, чем число пациентов, не имеющих ДЭ, и составило 107 человек (88,42 %; 38,8 %) против 14 (11,6 %; 5,1 %), что статистически значимо отличалось от группы больных БА с генотипом 4b/4b ($\chi^2 = 38,03$; $df = 1$; $p < 0,001$). Умеренная ДЭ без гиперпродукции СНП наблюдалась у 9 больных БА с генотипом 4a/4b (7,4 %; 3,3 %), что не имело статистически значимых различий ($\chi^2 = 0,99$; $df = 1$; $p = 0,319$) с числом пациентов данной группы без ДЭ. Умеренная ДЭ с гиперпродукцией СНП встречалась у 46 больных БА с генотипом 4a/4b (38,1 %; 16,7 %), а выраженная ДЭ у 52 пациентов данной группы (42,9 %; 18,8 %), что в обоих случаях было статистически значимо больше ($\chi^2 = 12,38$; $df = 1$; $p < 0,001$ и $\chi^2 = 34,28$; $df = 1$; $p < 0,001$), чем в группе пациентов с генотипом 4b/4b.

Таким образом, были выявлены четкие различия частоты встречаемости ДЭ различной степени выраженности в зависимости от варианта генотипа NO-синтазы как в стадии обострения заболевания, так и после проведенного лечения.

Далее был произведен расчет рисков развития ДЭ у больных БА в зависимости от генотипа eNOS. Абсолютный риск (АР) развития ДЭ в группе больных БА с генотипом 4a/4b составил 0,88 или 88 %, а в группе больных БА с генотипом 4b/4b – 0,32 или 32 %. Повышение абсолютного риска (ПАР) развития ДЭ в группе больных БА с генотипом 4a/4b составило 0,56 или 56 %. Значение относительного риска (ОР) развития ДЭ в группе больных БА с генотипом 4a/4b относительно группы больных БА с генотипом 4b/4b составило 2,74. Значение ОР было больше 2,5, это позволило расценить его как высокий. Также на статистически значимое увеличение развития риска ДЭ в группе больных БА с генотипом 4a/4b относительно группы больных БА с генотипом 4b/4b указывало значение ДИ, больше 1, а также значение показателя ПОР (повышение относительного риска) больше 1, а именно – 1,47. Отношение шансов развития ДЭ в группе больных БА с генотипом 4a/4b относительно группы больных БА с генотипом 4b/4b составило 16,05 [95 % ДИ 8,35; 30,94]. То, что значение ДИ больше 1, указывает на статистически значимые различия по изучаемому признаку в группах больных БА с различными вариантами генотипа eNOS.

Заключение. У больных БА с генотипом 4a/4b выявлены признаки ДЭ: уменьшение КЭФ и увеличение уровня СНП. При изучении частоты встречаемости ДЭ у пациентов с различными вариантами гена eNOS было выявлено увеличение количества пациентов с ДЭ, в том числе большей выраженности в группе больных БА – носителей полиморфного генотипа 4a/4b. Это подтверждалось также повышением абсолютного и относительного риска развития ДЭ в группе больных с полиморфным генотипом 4a/4b (ПАР = 0,56; ПОР = 1,47) и высоким отношением шансов (ОШ = 16,05).

Список литературы

1. Баранов, В. С. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины / В. С. Баранов, Т. Э. Иващенко, Е. В. Баранова и др.; под ред. В. С. Баранова. – СПб. : ООО «Изд-во Н-Л», 2009. – 527 с.
2. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica / О. Ю. Реброва. – М. : Медиа-Сфера, 2002. – 312 с.
3. Федосеев, Г. Б. Бронхиальная астма / Г. Б. Федосеев, В. И. Трофимов. – СПб. : Нордмедиздат, 2006. – 308 с.

Севостьянова Ирина Викторовна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры внутренних болезней педиатрического факультета, ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздрава России, Россия, 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121, тел. (8512) 52-41-43, e-mail: agma@astranet.ru.

Воронина Людмила Петровна, доктор медицинских наук, доцент кафедры внутренних болезней педиатрического факультета, ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздрава России, Россия, 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121, тел. (8512) 52-41-43, e-mail: agma@astranet.ru.

Полунина Екатерина Андреевна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры внутренних болезней педиатрического факультета, ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздрава России, Россия, 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121, тел. (8512) 52-41-43, e-mail: agma@astranet.ru.

Полунин Иван Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный работник Высшей школы РФ, заведующий кафедрой нормальной физиологии, ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздрава России, Россия, 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121, тел. (8512) 52-41-43, e-mail: agma@astranet.ru.