

РАДЬКОВ О. В., КАЛИНКИН М. Н.,
ЗАВАРИН В. В.

Состояние микроциркуляции и функции эндотелия у беременных с хронической артериальной гипертензией в зависимости от I/D-полиморфизма гена ангиотензинпревращающего фермента

Кафедра акушерства и гинекологии Тверской государственной медицинской академии
e-mail: unag@mail.ru

Реферат

Изучено состояние тканевого кровотока и функции эндотелия у беременных с хронической артериальной гипертензией (ХАГ) в динамике гестации в зависимости от I/D-полиморфизма гена ангиотензинпревращающего фермента (АПФ, АСЕ). Обследовано 98 беременных в I и III триместрах, из которых 64 больных ХАГ и 34 здоровых. Оценка скоростных показателей кровотока в сосудах кожи и эндотелийзависимой вазодилатации (ЭЗВД) выполнена с помощью ультразвуковой доплерографии с частотой излучения 25 МГц. I/D-полиморфизм гена АСЕ типировали методом анализа полиморфизма длин амплификационных фрагментов. Активность АПФ в плазме крови определяли иммуноферментным методом. Установлено, что скоростные характеристики и показатели ЭЗВД увеличиваются по мере прогрессирования гестации в обеих группах беременных. Нарушение функции эндотелия у больных ХАГ проявляется снижением показателей ЭЗВД, прогрессирующим к III триместру. Наибольшая активность АПФ отмечается у носителей генотипа DD-полиморфизма I/D-гена АСЕ, среди которых у больных ХАГ проявления эндотелиальной дисфункции наиболее выражены.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, эндотелиальная дисфункция, генетический полиморфизм, ангиотензинпревращающий фермент.

Radkov O. V., Kalinkin M. N., Zavarin V. V.

Peripheral microcirculation and endothelium function in pregnant women with chronic hypertension depending on angiotensin converting enzyme I/D-polymorphism

Tver State Medical Academy, Department of Obstetrics and Gynecology
e-mail: unag@mail.ru

Abstract

Peripheral microcirculation and endothelial function in women with chronic hypertension (CH) during pregnancy depending on angiotensin converting enzyme (ACE) I/D-polymorphism were studied. Thirty-four women with a normal course of pregnancy and 64 women with CH were evaluated. Peripheral microvascular responses were examined using the noninvasive technique of ultrasound Doppler flowmetry. The ACE I/D-polymorphism was detected with the use of the polymerase chain reaction. Serum activity of ACE was determined by immunoassay. Microvascular responses are enhanced during pregnancy in both groups. The decreased endothelium dependent vasodilatation in the microcirculation of CH women indicates abnormal endothelial function which progressed in the third term of pregnancy. Individuals with the DD-genotype of ACE I/D-polymorphism have the greatest serum ACE activity level. We found an association between the genotype DD and impaired endothelium dependent vasodilatation in hypertensive patients.

Keywords: arterial hypertension, endothelial dysfunction, gene polymorphism, angiotensin converting enzyme.

Введение

Хроническая артериальная гипертензия (ХАГ) у беременных представляет серьезную междисциплинарную медико-социальную проблему, связанную с крайне неблагоприятным влиянием высокого артериального давления (АД) на здоровье матери, плода и новорожденного. Периферическая вазодилатация и ангиогенез являются важнейшими компонентами физиологической адаптации к беременности [12]. Вместе с тем в условиях ХАГ материнский организм

сохраняет компенсаторный потенциал, направленный на поддержание адекватной микроциркуляции и функции эндотелия. Однако это бывает в полной мере возможным только при отсутствии поражения органов-мишеней и присоединения к ХАГ гестоза [11]. Тканевая перфузия находится под влиянием циркулирующих и тканевых компонентов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) [3]. При физиологической беременности концентрация

всех факторов РААС увеличивается, и только активность ангиотензинпревращающего (АПФ) фермента уменьшается. Вместе с тем нормальной гестации сопутствует снижение тканевой чувствительности к прессорным влияниям РААС, тогда как нарушение рецепции лежит в основе гипертензивных расстройств у беременных [3, 10]. Установлена генетическая неоднородность РААС [4], однако в этой связи остается неясным, влияет ли этот полиморфизм на особенности микроциркуляции и проявление эндотелиальной дисфункции у беременных, страдающих ХАГ.

Цель исследования

Изучить состояние микроциркуляции и функции эндотелия у беременных, страдающих ХАГ, в динамике гестации в зависимости от I/D-полиморфизма гена ангиотензинпревращающего фермента.

Материал и методы исследования

Обследованы 98 беременных, из которых 64 больных ХАГ (гипертонической болезнью I–II стадии) и 34 здоровых беременных (контрольная группа). Исследования выполнены в I (7–12 недель) и III (29–37 недель) триместрах беременности. Средний возраст в группах — 29,3±6,7 и 26,7±4,2 года соответственно. Среднесуточное систолическое АД у больных ХАГ составило 131,43±3,86 и 106,23±4,05 мм рт. ст. у здоровых беременных, а среднесуточное диастолическое АД — 80,22±4,15 и 64,38±1,7 мм рт. ст. (все $p < 0,05$). Больные получали гипотензивную терапию для достижения целевых значений АД и с учетом безопасности препаратов. Критерии исключения — III стадия гипертонической болезни, симптоматическая гипертензия, сахарный диабет.

Для оценки скоростных показателей кровотока использовали постоянно-волновую высокочастотную ультразвуковую доплерографию с помощью прибора «Минимакс-Допплер-К» (ООО «СП-Минимакс», Санкт-Петербург, РФ), снабженного датчиком с частотой излучения 25 МГц. Исследование прово-

РАДЬКОВ О. В., КАЛИНКИН М. Н., ЗАВАРИН В. В.

дилось в области ногтевого валика среднего пальца кисти. Анализировали Vs — максимальную систолическую скорость кровотока по кривой максимальной скорости (см/с). Для оценки эндотелийзависимой вазодилатации (ЭЗВД) использовалась ишемическая проба. Для этого на плечо накладывалась манжетка манометра, в которой нагнеталось давление до момента исчезновения спектра кровотока на мониторе аппарата. Компрессия плечевой артерии продолжалась 3 минуты. Запись доплерограммы после декомпрессии выполнялась через 30 секунд, 1, 2, 3, 4 и 5 минут.

Для типирования I/D-полиморфизма гена ангиотензинпревращающего фермента (ACE) выделение тотальной геномной ДНК пациенток из 100 мкл цельной венозной крови, стабилизированной ЭДТА, проводили сорбентным методом с использованием набора «Diatom DNA Prep 100» (ООО «Лаборатория «Изоген», РФ). I/D-полиморфизм Alu-повтора в 16 интроне (rs4340)-гена ACE типировали методом анализа полиморфизма длин амплификационных фрагментов с помощью набора реагентов «АмплиКит-ACE» (ООО «АмплиКит», Санкт-Петербург, РФ) с детекцией в агарозном геле. Активность АПФ в плазме крови определяли иммуноферментным методом («BCM Diagnostics», США).

Статистическая обработка материала выполнена с помощью пакета SPSS 16.0 for Windows (SPSS Inc., США). Распределение генотипов проверяли на соответствие закону Харди–Вайнберга. Частота генотипов и аллелей оценена критерием χ^2 . Данные представлены в виде $M \pm \sigma$. Для оценки статистической значимости различий применен дисперсионный анализ с последующим проведением множественных сравнений, включавшим критерии Даннета для равных и неравных дисперсий. Различия считались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Показатели линейной скорости кровотока в сосудах кожи у здоровых беременных увеличивались по

Значения линейной скорости кровотока у здоровых беременных и больных с хронической артериальной гипертензией при ишемической пробе, см/с

Таблица 1

Группа пациенток	Время						
	фон	30 с	1 мин	2 мин	3 мин	4 мин	5 мин
Здоровые, I триместр	16,17±3,6	17,90±4,5	17,51±2,05	16,24±1,8	15,75±2,2	14,88±2,3	15,47±3,5
Здоровые, III триместр	20,07±2,7	24,18±5,6 [#]	22,87±4,3 [#]	22,19±2,2 [#]	20,84±4,15 [#]	19,26±2,8	18,93±4,2
Больные, I триместр	16,26±3,0	17,68±3,25	16,88±2,6	16,17±1,9	15,75±3,6	14,88±3,1	15,47±2,3
Больные, III триместр	18,79±4,2	20,24±2,9	20,07±2,3	18,11±1,7	17,88±2,75	17,63±4,4	17,91±3,7

* — различие по данному показателю между здоровыми в I и III триместре статистически значимо ($p < 0,05$); # — различие по данному показателю между здоровыми в III триместре и больными статистически значимо ($p < 0,05$).

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Активность ангиотензинпревращающего фермента в зависимости от I/D-полиморфизма гена ACE у здоровых беременных и больных хронической артериальной гипертензией, Ед/л

Таблица 2

Группа пациенток	Генотип		
	II	ID	DD
Здоровые, I триместр	20,9±2,4	33,3±3,4	52,8±10,2*
Здоровые, III триместр	22,6±4,1	31,2±3,5	56,1±8,3*
Больные, I триместр	22,0±2,3	33,3±2,9	54,3±9,6*
Больные, III триместр	23,4±2,1	36,6±4,4	57,2±7,4*

* — различие по данному показателю между DD-генотипом и другими статистически значимо ($p<0,05$).

Эндотелийзависимая вазодилатация сосудов кожи в зависимости от I/D-полиморфизма гена ACE у здоровых беременных и больных хронической артериальной гипертензией, %

Таблица 3

Группа пациенток	Генотип		
	II	ID	DD
Здоровые, I триместр	16,4±2,4	15,1±0,9	12,6±3,6*
Здоровые, III триместр	20,6±2,1 [#]	22,5±3,3 [#]	20,1±1,9*
Больные, I триместр	11,9±3,0	12,2±1,6	8,7±2,3
Больные, III триместр	14,5±2,4	14,8±2,2	9,3±1,7

* — различие по данному показателю между DD-генотипом здоровых и больных статистически значимо ($p<0,05$);

[#] — различие по данному показателю между здоровыми в III триместре и больными статистически значимо ($p<0,05$).

мере прогрессирования гестации от I к III триместру ($p>0,05$) (табл. 1). Эти особенности микроциркуляции отражают механизмы гемодинамической адаптации к физиологической беременности, сопровождающие снижение общего периферического сопротивления сосудов [3, 12]. Показатели ЭЗВД у беременных в III триместре составили 21,4±4,7 % и превысили значения (15,3±2,3 %) в начале беременности ($p=0,03$). Время достижения фоновых скоростей кровотока в постшемическом периоде в I триместре 2 минуты, а в III — 4 минуты. Подобные свойства, характеризующие реактивную гиперемия, связаны с высокой активностью сосудорасширяющих стимулов на фоне депрессии нейрогенных и системных вазоконстрикторов на кожные сосуды в динамике нормальной гестации [3]. Скорость тканевой перфузии у больных ХАГ также увеличивалась при прогрессировании беременности ($p>0,05$) (табл. 1). ЭЗВД в III триместре гестации составила 14,6±1,9 % и была более выраженной, чем в I триместре, — 10,1±2,1 % ($p=0,06$). Фоновые показатели Vs у больных на протяжении всей беременности статистически значимо не отличались от группы контроля. Напротив, показатели ЭЗВД и скорость кровотока в 1, 2 и 3 минутах постшемического периода у здоровых в III триместре превосходили таковые у больных ХАГ ($p<0,05$). Продолжительность гиперемии среди больных во время беременности не изменялась и составила 2 минуты, что оказалось вдвое меньшим при сравнении со здоровыми в III триместре. Видимо, в данном случае играет роль повышенная чувствительность эндоте-

лия сосудов у больных ХАГ к вазопрессорам, таким как нейропептиды, ангиотензин II, эндотелин-1, которые активнее, чем у здоровых беременных, вызывают ответную вазоконстрикцию, сокращая время реактивной гиперемии [1, 13]. Уменьшение значений ЭЗВД при гипертензии является проявлением эндотелиальной дисфункции. Однако существует мнение, что увеличение вазодилатации, напротив, относится к предикторам эндотелиальных нарушений, предшествующих повышению АД у беременных и сопутствующих гипертензии [2], а также увеличивающих риск развития сердечно-сосудистых заболеваний после родов [5].

Распределение частот генотипов и аллелей у здоровых беременных и при ХАГ для I/D-полиморфизма гена ACE соответствовало закону Харди-Вайнберга. Частота генотипов и аллелей изучаемого полиморфизма в группах достоверно не различалась. Генотип DD отмечен у 8 (23,5 %) здоровых беременных и среди 18 (28,1 %) больных ХАГ, ID — 15 (44,1 %) и 32 (50,0 %), II — 11 (32,4 %) и 14 (21,9 %) соответственно. Аллель D — 31 (45,6 %) и 68 (53,1 %), I — 37 (54,4 %) и 60 (46,9 %) соответственно. Полученные результаты согласуются с мнением, что роль I/D- полиморфизма ACE для возникновения гипертензивной болезни остается предметом дискуссий [7], тогда как связь DD-генотипа этого полиморфизма с гестозом вполне установлена. Активность АПФ в плазме крови и фенотипические показатели функции эндотелия в зависимости от I/D-полиморфизма гена ACE представлены в табл. 2 и 3. Активность АПФ не

изменялась у здоровых беременных в динамике гестации, однако в подгруппе носителей DD-генотипа она была выше при сравнении с гетерозиготным вариантом и II гомозиготами ($p < 0,05$). Однако это не повлияло на ЭЗВД, которая в подгруппах генотипов как в I, так и в III триместрах статистически значимо не различалась. Вместе с тем, у здоровых небеременных женщин отмечается высокая корреляция между активностью АПФ и функцией эндотелия [6]. Видимо, во время нормальной беременности определяющим является доминирование нейрогенных и циркулирующих депрессорных влияний на регуляцию кровообращения в коже [2].

У больных ХАГ активность АПФ увеличивалась по мере прогрессирования гестации ($p = 0,1$), однако ее показатели значимо не превысили значений, полученных у здоровых беременных. Распределение активности АПФ в подгруппах генотипов I/D-полиморфного маркера гена ACE соответствовало группе контроля. Однако носители DD-генотипа среди больных ХАГ показали наименьшие значения ЭЗВД в сосудах кожи при сравнении с подгруппами других генотипов и здоровыми беременными ($p < 0,05$). В этой связи необходимо учесть, что реактивная кожная гиперемия является нейрогенной реакцией, опосредованно запуская каскад синтеза оксида азота эндоте-

РАДЬКОВ О. В., КАЛИНКИН М. Н., ЗАВАРИН В. В.

лием сосудов [8]. С другой стороны, артериальную гипертензию у беременных сопровождает состояние симпатической гиперактивности [9].

Учитывая синергизм вегетативной нервной системы и РААС, можно предположить, что тканевая чувствительность к прессорным факторам при ХАГ оказывается более выраженной и проявляется нарушением функции эндотелия. Таким образом, I/D-полиморфизм гена ACE влияет на особенности микроциркуляции и формирование эндотелиальной дисфункции при ХАГ у беременных.

Выводы

1. Скоростные характеристики в сосудах микроциркуляторного русла и показатели ЭЗВД увеличиваются по мере прогрессирования беременности.
2. Нарушение функции эндотелия у больных ХАГ проявляется снижением показателей ЭЗВД и продолжительности времени реактивной гиперемии.
3. Наибольшая активность АПФ отмечается у носителей генотипа DD-полиморфизма I/D-гена ACE.
4. Выраженность эндотелиальной дисфункции у больных гипертензией зависит от I/D-полиморфизма гена ACE, где наиболее низкие значения ЭЗВД установлены у носителей DD-генотипа.

Литература

1. Блощинская, И. А. Вазорегулирующая функция сосудистого эндотелия при физиологической беременности и гестозе / И. А. Блощинская, Т. А. Петричко, И. М. Давидович // Журн. акуш. и жен. болезн. 2003. Т. LII. 1. С. 26-32.
2. Anim-Nyame, N. A longitudinal study of resting peripheral blood flow in normal pregnancy and pregnancies complicated by chronic hypertension and pre-eclampsia / N. Anim-Nyame [et al] // Cardiovascular Research. 2001. 50. P. 603-609.
3. Anton, L. Systemic and uteroplacental renin-angiotensin system in normal and pre-eclamptic pregnancies / L. Anton, K. B. Brosnihan // Ther. Adv. Cardiovasc. Dis. 2008. 2 (5). P. 349-362.
4. Arcaro, G. ACE genotype and endothelium-dependent vasodilation of conduit arteries and forearm microcirculation in humans / G. Arcaro [et al] // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2001. 21 (8). P. 1313-1319.
5. Blaauw, J. Abnormal endothelium-dependent microvascular reactivity in recently preeclamptic women / J. Blaauw [et al] // Obstet. Gynecol. 2005. 105 (3). P. 626-632.
6. Butler, R. DD angiotensin-converting enzyme gene polymorphism is associated with endothelial dysfunction in normal humans / R. Butler [et al] // Hypertension. 1999. 33. P. 1164-1168.
7. Clark, C. J. Alpha-adducin and angiotensin I-converting enzyme polymorphisms in essential hypertension / C. J. Clark [et al] // Hypertension. 2000. 36 (6). P. 990-994.
8. Debbabi, H. Noninvasive assessment of endothelial function in the skin microcirculation / H. Debbabi [et al] // Am. Journ. of Hypertension. 2010. 23. P. 541-546.
9. Fischer, T. Pregnancy-induced sympathetic overactivity: a precursor of preeclampsia / T. Fischer [et al] // Eur. J. Clin. Invest. 2004. 34. P. 443-448.
10. Herse, F. Dysregulation of the circulating and tissue-based renin-angiotensin system in preeclampsia / F. Herse [et al] // Hypertension. 2007. 49. P. 604-611.
11. Hibbard, J. U. The arterial system in pre-eclampsia and chronic hypertension with superimposed pre-eclampsia / J. U. Hibbard [et al] // BJOG. 2005. 112 (7). P. 897-903.
12. Humar, R. Angiogenesis and hypertension: an update / R. Humar, L. Zimmerliand, E. Battagay // Jour. of Human Hypertension. 2009. 23. P. 773-782.
13. Lindstedt, I. H. Reduced responsiveness of cutaneous microcirculation in essential hypertension: a pilot study / I. H. Lindstedt [et al] // Blood Press. 2006. 15 (5). P. 275-280.