

## РОЛЬ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА ЕЛАСТИНУ У ФОРМУВАННІ АНЕВРИЗМИ ВИСХІДНОЇ АОРТИ НА ПРИКЛАДІ ПАЦІЄНТІВ З АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ

Захарова В.П., Досенко В.Є.<sup>1</sup>, Руденко О.В., Костів М.Ю.<sup>1</sup>, Кравченко І.М.

*ДУ «Національний інститут серцево-судинної хірургії імені М.М. Амосова НАМН» (Київ)*

<sup>1</sup> *ДУ «Інститут фізіології імені О.О. Богомольця НАМН» (Київ)*

В роботі представлені результати генетичного дослідження поліморфізму гена еластину в зразках біологічного матеріалу 57 хворих на аневризму висхідної аорти (АВА) і артеріальну гіпертензію (АГ) та 100 пацієнтів з АГ без АВА. Показано, що наявність аденінової алелі у гені еластину в пацієнтів з АВА та АГ супроводжується морфологічними змінами аортальної стінки. Результати дослідження дозволяють припустити, що наявність аденіну у складі пар аденін-аденін або аденін-гуанін у гені еластину (16 екзон) може бути фактором ризику розвитку як АГ, так і АВА.

**Ключові слова:** *аневризма висхідної аорти, еластин, поліморфізм гена, артеріальна гіпертензія.*

Однією з основних функцій аорти, крім транспортної та розподільчої, є функція зниження систолічного градієнту тиску крові, яка надходить з лівого шлуночка серця в пульсуючому режимі, але на рівні капілярів (нутритивної ланки судинної системи) повинна набувати характеру рівномірного ламінарного потоку [1]. Аорта, особливо початкові її відділи, мають виражену здатність до розширення в момент систоли, що збільшує таким чином об'єм своєї порожнини і знижує рівень систолічного тиску крові. В момент діастолі, завдяки еластичним властивостям аортальної стінки, порожнина аорти зменшується, що сприяє підвищенню діастолічного тиску. Ця демпферна функція стінки аорти забезпечується в основному еластином, який входить до складу еластичних мембран медії. Тому при виникненні технологій, які дозволяють вивчати генетичні аспекти багатьох фізіологічних та патологічних процесів, еластин став першим об'єктом, який піддався генетичному дослідженню. Raybold M.C. зі співавторами [2] відкрили поліморфізм гена еластину (ser 422 gly elastin gene) по аденіну (A) та гуаніну (G) у 16 екзоні з трьома можливими варіантами пар основ: A-A, A-G, G-G. У 2001 р. O. Hanon із співавторами [3] показав, що у носіїв алелі A (генотипи A-G і особливо A-A) судини еластичного типу після 50 років стають більш жорсткими, ніж у генотипу G-G. Причому ця закономірність не поширюється на судини м'язового типу, що належать до резистивної ланки кровоносної системи і спрямовані на адаптування до умов центральної гемодинаміки, до регіональних метаболічних потреб і за необхідності мають забезпечувати генералізовані реакції для підтримки центральної гемодинаміки.

**Мета роботи** – визначити роль поліморфізму гена еластину щодо формування АВА на прикладі пацієнтів з АГ.

**Матеріал та методи.** Матеріалом для гістологічного дослідження були стінки аорти, отримані під час оперативного лікування хворих на АВА. Парафінові зрізи, виготовлені за загальноприйнятою методикою, обробляли гематоксиліном і еозинном, пікрофуксином за Ван Гізоном для диференціювання колагенових і м'язових волокон, фукселином за Вейгертом для селективного виявлення еластичних мембран, MSB – для визначення

компонентів крові. На заморожених зрізах, забарвлених суданом, досліджували ліпід-вміщуючі структури. Мікроскопія проводилася на системі для аналізу відеозображень з мікроскопом Olympus за програмою DP.

Генетичне дослідження (генотипування) проводили для вивчення поліморфізму гена еластину (*ELN*) шляхом визначення алельного поліморфізму Gly<sub>422</sub>→Ser (rs2071307). Цей етап дослідження виконували у відділі загальної та молекулярної фізіології (керівник О.О. Мойбенко) Інституту фізіології імені О.О. Богомольця НАН України. Матеріалом дослідження були парафінові зрізи стінки аорти пацієнтів, які страждають на АА на фоні АГ (основна група), а також відбитки букального епітелію та венозна кров здорових людей (контроль) і хворих на АА без АГ (група порівняння) (табл. 1). За віковими та гендерними ознаками достовірних розбіжностей між групами не було.

Таблиця 1

**Розподіл за групами контингенту осіб, які досліджені на поліморфізм гена еластину**

Групи	Показники				
	АГ	АВА	Кількість	чол./жін.	Вік
Контроль	---	---	92	62/30	56,7±9,1
Основна	+	+	57	38/19	57,1±6,4
Порівняння	+	---	100	65/35	54,8±8,3

ДНК екстрагували за допомогою наборів TaqMan® Sample-to-SNP™ (Applied Biosystems, Foster City, USA), для чого до біологічних зразків додавали 60 мкл лізуючого розчину, витримували 5 хв. при 95°C, піпетували та додавали 60 мкл стабілізуючого розчину. Алельний поліморфізм Gly<sub>422</sub>→Ser гена еластину (*ELN*) визначали на апараті 7500 Fast Real-time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, USA) із застосуванням TaqMan® SNP Assay C\_1253630\_1\_, а також TaqMan® GTXpress™ Master Mix, до складу якого входять AmpliTaq® Fast DNA Polymerase, нуклеотидтрифосфати (dNTPs), Tracking Dye and ROX™ Dye. Ампліфікаційна суміш складалася з 12,5 мкл TaqMan® GTXpress™ Master Mix, 1,25 мкл TaqMan® SNP Assay C\_1253630\_1\_, 6,25 мкл деіонізованої води (DNase-free water) та 5 мкл екстрагованої ДНК. До програми ампліфікації увійшло 50 циклів (денатурація – 92°C, 15 с, гібридизація та елонгація – 63°C, 1 хв.), після чого проводився аналіз по дискримінації алелей.

Отримані дані обробляли статистично з використанням програм Origin 7.0 та Excel 2000. При цьому вірогідність відмінностей визначали за  $\chi^2$ -критерієм. Значення  $p < 0,05$  вважали достовірним.

**Результати дослідження.** Генетичне дослідження матеріалу дозволило отримати наступні варіанти гена еластину (табл. 2).

В контрольній групі домінував змішаний варіант гена (А-Г), становлячи 45,65% усієї кількості (92) спостережень. Варіант G-G спостерігали у 35,9% випадків. У групі хворих з АВА та АГ аденінові генотипи зареєстровані у 84,2% випадків (42,1% – А-А та 42,1% – А-Г). Найбільш сприятливий за прогнозом G-G генотип склав у основній групі менш 15,8%.

Неочікуваними були результати, які характеризували групу гіпертензивних пацієнтів без АВА. 68% з них належало до аденін-аденінового генотипу, 24 – до аденін-гуанінового. І лише у 8% спостережень ген еластину не містив аденіну (варіант G-G) у 16 екзоні. Ці

Розподіл груп за варіантами гена еластину

Варіанти гена еластину		Група		
		Контроль	АВА+АГ	АГ без АВА
А-А	n	17	24	68
	%	18,48	42,1	68
А-Г	n	42	24	24
	%	45,65	42,1	24
G-G	n	33	9	8
	%	35,87	15,8	8
Сума	n	92	57	100
	%	100	100	100

дані відкривають нові підходи до вивчення механізмів розвитку так званої есенціальної гіпертензії та її впливу на формування АВА.

У людей з адениновим варіантом гена еластину з віком підвищується жорсткість стінок аорти та артерій еластичного типу [3]. Унаслідок цього в крупних судинах зберігається значний систоло-діастолічний градієнт АТ. У цих умовах резистивні судини, які забезпечують ламінарний кровоток у капілярах, змушені оперативно реагувати спазмом-розслабленням на кожний серцевий цикл. Така гіперфункція артерій м'язового типу призводить до гіпертрофії їх медії та гіперплазії інтими, часто – із значним звуженням просвіту. Фіброз робить таку трансформацію судин незворотною. Оскільки описані зміни мають системний характер, вони значно підвищують загальний периферійний опір кровотоку, що призводить до стійкого підвищення АТ. Висока гіпертензія у ригідній висхідній аорті призводить до пошкодження її структур та формування АВА, особливо при наявності додаткових факторів ризику.

Ремоделювання дрібних артерій із скороченням їх просвіту у хворих на АГ є загальновідомим фактом. Але завжди було прийнято вважати, що це явище є вторинним стосовно АГ відомого (наприклад, ниркового) або невідомого генезу. Наведені тут дані вказують на існування більш складних патогенетичних зв'язків і спонукають до подальших досліджень.

Вивчаючи гістологічні препарати аортальних стінок хворих основної групи (АВА + А-Г), ми визначили, що в осіб із аденином у гені еластину (А-А та А-Г) у 54,2% та 70,8% спостережень відповідно в медії зустрічаються фрагментовані еластичні мембрани з конденсованим бугорчастим фібриліновим каркасом. Фрагменти мембран при цьому створюють своєрідний хаотичний малюнок.

Серед пацієнтів основної групи – носіїв генотипу G-G випадків визначення еластичних мембран подібного вигляду було всього 11,1%. Але серед них було 66,6% хворих з ознаками запалення в стінці аорти, тоді як у генотипів, які містили в гені еластину аденин, дані про запальний процес присутні тільки у 16,6% (А-А) та 12,5% (А-Г) випадків. Це свідчить про наявність додаткових етіологічних факторів у розвитку АВА, особливо при найбільш сприятливому (G-G) варіанті гена еластину.

У більшості препаратів, які містили фрагментовані, дезорієнтовані еластичні мембрани, видно, що простір між фрагментами заповнюється колагеном з поступовим розвитком

ком поширених ділянок фіброзу. В осіб генотипу G-G ця ознака зустрічається у 65,6% спостережень, генотипу A-G – в 79,2% та при генотипі A-A – в 75% випадків.

Генетичні розбіжності цих даних нівелюються тим, що при АГ існують додаткові фактори, які призводять до фіброзу стінки аорти, а саме: в адвентиції помічається перебудова артерій, які живлять зовнішні шари медії.]

При гістологічному дослідженні грубі товстостінні судини зі звуженими просвітами знайдені у 62,5% гістологічних препаратів аорти хворих генотипу A-A, у 58,3% – генотипу AG і в 66,6% випадків – гуанінового (G-G) генотипу. Зміни vasa vasorum із приблизно однаковою частотою в різних генотипах (A-A – 45,8%, A-G – 41,6%, G-G – 44,4%) супроводжувалися розвитком гіпоксичного ламінарного некрозу із подальшим фіброзом медії. У деяких полях зору на межі між ділянками фіброзу та свіжими вогнищами некрозу спостерігалися ознаки розшарування медії. Приблизно в половині випадків при всіх генотипах на периферії АВА відмічалися ділянки, які мали вигляд перерозтягнутих, колабованих лінійних структур, на тлі яких звичайно формувалися мікроегнища некрозу гладком'язових клітин та фіброзу. Ці зміни можна розцінювати як наслідок довготривалого механічного перевантаження структур аортальної стінки в умовах хронічної АГ.

Таким чином, у деяких людей існує індивідуальна, генетично зумовлена схильність до формування АВА, пов'язана із АГ. Але, незалежно від генотипу суб'єкта, процес аневризмоутворення може поглиблюватися іншими факторами ризику.

### **Висновки**

1. Генотипи, що містять аденін в 16 екзоні гена еластину, є чинником ризику розвитку АГ.
2. Наявність аденінової алелі в гені еластину в пацієнтів з АВА та АГ супроводжується редукцією еластину і гіперплазією фібрилінів у еластичних мембранах стінки аорти (у 54,16% при генотипі A-A і в 70,83% при генотипі A-G). При генотипі G-G еластичні мембрани із редукованим еластичним компонентом зустрічалися лише в 11,11% спостережень.
3. Додатковою ланкою патогенезу АВА при АГ є гіпоксичне пошкодження аорти внаслідок потовщення стінок та звуження просвітів vasa vasorum.

### **Література**

1. Ситар Л.Л. Аневризми грудної аорти (клініка, діагностування, лікування): монографія / Л.Л.Ситар. – Тернопіль: ТДМУ, 2011. – 168 с.
2. Raybould M.C. Two new polymorphism in the human elastine gene (ELN) / M.C. Raybould, A.J. Birley, M.A. Hulten // Hum Genet. – 1994. – № 93. – P. 475–476.
3. Aging, carotid artery distensibilit, and the Ser422Gly Elastin Gene Polymorphin in humans / Oliver Hanon, Vu Luong, Jean Jacques Mourad et al. // Hypertension. – 2001. – № 38. – P. 1185–1189.

## **РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ЭЛАСТИНА В ФОРМИРОВАНИИ АНЕВРИЗМЫ ВОСХОДЯЩЕЙ АОРТЫ НА ПРИМЕРЕ ПАЦИЕНТОВ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ**

**Захарова В.П., Досенко В.Е., Руденко Е.В., Костов М.Ю., Кравченко И.Н.**

В работе представлены результаты генетического исследования полиморфизма гена эластина в образцах биологического материала 57 больных с АВА и АГ и 100 пациентов с АГ без АВА. Показано,

что наличие адениновой аллели в гене эластина у пациентов с АВА и АГ сопровождается морфологическими изменениями аортальной стенки. Результаты исследования позволяют предположить, что наличие аденина в составе пар аденин-аденин или аденин-гуанин в гене эластина (16 экзон) может быть фактором риска развития как АГ, так и АВА.

**Ключевые слова:** *аневризма восходящей аорты, эластин, полиморфизм гена, артериальная гипертензия.*

## **GENE ELASTINE POLYMORPHISM ROLE IN THE FORMING OF ASCENDING AORTA ANEURYSMS IN PATIENTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION**

**Zakharova V.P., Dosenko V.E., Rudenko E.V., Kostiv M.Yu., Kravchenko I.N.**

The results of genetic study of elastine polymorphism gene in biological probes of 57 patients with ascending aortic aneurysms (AAA) and arterial hypertension (AH) and 100 patients with arterial hypertension (AH) without AAA are presented. It is rotined that presence of adenine allele in the elastine gene in patients with AAA and AH is accompanied by the morphological changes of aortic wall. Research results allow to assume that presence of adenine in composition pairs adenine-adenine or adenine-guanune in the gene of elastine (16 ekzone) can be the risk factor of development of both AH and AAA.

**Key words:** *ascending aortic aneurysm, elastine, gene polymorphism, arterial hypertension.*