

## РОЛЬ ГЕНА *ACE* (АНГИОТЕНЗИН-ПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА) В РАЗВИТИИ АНКИЛОЗИРУЮЩЕГО СПОНДИЛИТА

**В. Мордовский,**  
**Е. Капустина,** кандидат медицинских наук,  
**С. Никулина,** доктор медицинских наук, профессор,  
**А. Чернова,** доктор медицинских наук,  
**Т. Потупчик,** кандидат медицинских наук  
 Красноярский государственный медицинский университет  
 им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого  
**E-mail:** vasek220@mail.ru

*Представлены результаты исследования роли гена ангиотензинпревращающего фермента в русской популяции у пациентов с анкилозирующим спондилитом.*

**Ключевые слова:** ревматология, анкилозирующий спондилит, ген АПФ, I/D гена *ACE*.

Анкилозирующий спондилит (АС) является системным ревматическим заболеванием, повреждающим осевую скелет. Он вызывает боли воспалительного характера в спине, приводящие к структурным и функциональным нарушениям и снижению качества жизни [7]. АС – наследственное заболевание, что подтверждено исследованиями у близнецов и семейными случаями наследования [4, 7]. У 80% пациентов выявлена сильная ассоциация между геном *HLA-B27* и АС, но он встречается и у здоровых людей (в 1–5% случаев) [3]. Положительный результат теста на наличие антигена *HLA-B27* повышает вероятность болезни, но только при характерной клинической картине [4, 7]. Ген ангиотензинпревращающего фермента (АПФ, или *ACE*, OMIM №106180) расположен на хромосоме 17q23.3. Ген кодирует фермент, выступающий в роле катализатора в реакции превращения ангиотензина I в физиологически активный пептид ангиотензин II. Ангиотензин II является мощным вазопрессором и стимулирующим пептидом для альдостерона, который регулирует кровяное давление и водно-электролитный баланс. Данный фермент в основном изучен как регулятор кровяного давления, но выполняет и многие другие физиологические функции [1].

В количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) с обратной транскрипцией (RT-PCR) Хармер и соавт. (2002) обнаружили особенно высокие уровни экспрессии *ACE1* в тканях подвздошной, тощей, двенадцатиперстной кишки, семенниках, в тканях легкого, легочных кровеносных сосудов и предстательной железы [3, 6]. Фермент АПФ является ключевым регулятором трансдукции сигнала при воспалительной реакции через систему ренин-ангиотензин, запуская ангиотензин II, при посредстве которого активируется транскрипция ядерного фактора каппа-би (NF-κB) и запускается продукция провоспалительных цитокинов, хемокинов и активных форм кислорода. Кроме того, фермент активирует выделение субстанции P и брадикинина, которые дают сосу-

дорасширяющий эффект, принимая таким образом участие в воспалительном процессе [3, 5, 8]. На турецкой популяции пациентов с АС А. Inanig (2012) и соавт. доказали взаимосвязь аллеля D гена АПФ и риск развития заболевания, а E. Inal и соавт. подтвердили наличие ассоциации полиморфизма гена I/D с развитием АС [4, 5]. По нашим сведениям, до сегодняшнего дня роль полиморфизма гена I/D АПФ в русской популяции пациентов с АС не изучалась, в связи с чем нами проведено такое исследование на базе поликлиники Краевой клинической больницы и ревматологического отделения Красноярской межрайонной клинической больницы №20 им. И.С. Берзона в период с июля 2014 г. по декабрь 2016 г. В исследование были включены 2 группы пациентов: 1-я – с АС (n=44), 2-я (n=618) – условно здоровые (контроль). Протокол исследования соответствовал этическим стандартам и одобрен локальным этическим комитетом Красноярского государственного медицинского университета (Протокол от 23.06.14 №16). Нами была разработана форма информированного согласия на участие в исследовании, подписанная каждым участником.

Критериями включения в основную группу являлись:

- соответствие российской версии модифицированных Нью-Йоркских классификационных критериев АС;
- возраст не моложе 18 лет;
- принадлежность к русской популяции;
- место рождения и основное место проживания – Сибирский федеральный округ;
- согласие на участие в исследовании;
- отсутствие хронических воспалительных заболеваний кишечника.

Критерии включения в группу контроля:

- соответствие по полу и возрасту основной группе;
- отсутствие хронических заболеваний;
- место рождения и основное место проживания – Сибирский федеральный округ;
- принадлежность к европейской популяции.

Участники исследования из группы контроля не состояли в родственных связях с пациентами основной группы. Для клинической оценки использовали протокол, основанный на Федеральных клинических рекомендациях по диагностике и лечению АС (апрель 2013 г., Москва). Генотипирование инсерционного полиморфизма проводили путем синтеза соответствующего фрагмента ДНК гена *ACE* методом ПЦР и анализа длины продуктов. Структура праймеров:

- прямой – 5'-GCCCT-GCAGG-TGTCT-GCAGC-ATGT-3';
- обратный – 5'-GGATG-GCTCT-CCCCG-CCTTG-TCTC-3'.

Смесь для ПЦР объемом 12,5 мкл включала в себя трис-НСI (рН 9,0) – 75 ммоль; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – 20 ммоль; Tween-20 – 0,01%, каждого праймера по 0,4 мкмоль; по 0,24 ммоль раствора каждого из 4 dNTP; MgCl<sub>2</sub> – 2,5 ммоль; 0,6 единицы Tag-полимераза; 0,5 мкг ДНК. Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 95°C – 1 мин; 58°C – 1 мин; 72°C – 1 мин – 10 циклов; 95°C – 25 с; 58°C – 25 с; 72°C – 25 с – 23 цикла. Продукт ПЦР в виде фрагментов амплифицированной ДНК – 597 пар нуклеотидов (аллель I) и 319 пар нуклеотидов (аллель D) – был визуализирован методом гель-электрофореза. В связи с тем, что аллель D нарабатывается преимущественно образцами, гомозиготными по короткому аллелю (DD), были использованы независимые ПЦР с пары праймеров, узнающей специфическую инсерционную последовательность нуклеотидов. Струк-

Таблица 1

Распространенность полиморфизмов гена АПФ в группе пациентов с АС и в контроле; n (%)				
Генотип	АС (n=44)	Контроль (n=618)	ОР (95% ДИ)	p
I/I	12 (27,3)	132 (21,4)	1,3807	0,3601
I/D	24 (54,5)	324 (52,4)	1,0889	0,7858
D/D	8 (16,7)	162 (26,2)	0,6255	0,2425

*Примечание.* ОР – относительный риск; ДИ – доверительный интервал.

Таблица 2

Клинико-лабораторная активность АС в зависимости от полиморфизмов гена АПФ				
Показатель	I/I	I/D	D/D	p
СРБ, мг/мл	16,9 (5,0–25,6)	30,1 (13–42)	33,5 (14,6–43,4)	p<0,005
Индекс BASDAI	3,3±1,4	3,5±1,6	4,1±1,6	–
Индекс BASFI	2,90±0,89	3,4±1,8	4,3±1,9	–

тура праймеров: прямой – 5'-TGGGA-CCACA-GCGCC-CGCCA-CTAC-3', обратный – 5'-TCGCC-AGCCC-TCCCA-TGCCC-ATAA-3'. Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 95°C – 30 с; 67°C – 30 с; 72°C – 30 с – 33 цикла. Наличие продукта ПЦР длиной 335 пн свидетельствовало о наличии аллеля I [2].

**Статистический анализ.** Мы использовали критерий  $\chi^2$  для вычисления разницы между основной и контрольной группами в распределении полиморфизма гена I/D АПФ, а также отношение шансов для анализа наличия ассоциации между АС и наблюдаемыми частотами генотипа в качестве меры риска развития АС.

Средний возраст пациентов на момент забора образца крови составил 41,5 года, продолжительность заболевания – 12,4 года, возраст начала заболевания – 29,7 года.

Все обследованные основной группы имели умеренную и выраженную клинико-лабораторную активность АС. Средний балл индекса BASFI основной группы больных АС составил 4,99, а индекс BASDAI – 4,87.

В результате генотипирования полиморфизмов гена АПФ у пациентов с АС получены следующие результаты (табл. 1): I/I – у 12 (27,3%), I/D – у 24 (54,5%) и D/D – у 8 (16,7%).

Мы не выявили статически значимых различий в распространенности генотипов I/I, I/D, D/D в основной и контрольной группах.

При проведении анализа клинико-лабораторной активности АС в зависимости от распределения полиморфизмов гена АПФ нами установлено, что у больных, имеющих аллель D, отмечен более высокий уровень в крови С-реактивного белка (СРБ) и соответственно – большая клинико-лабораторная активность АС (табл. 2).

Таким образом, нами не выявлено статически значимых различий распространенности генотипов I/I, I/D и D/D среди пациентов с АС и в контрольной группе.

Пациенты, имеющие аллель D, отличались более высокими показателями клинико-лабораторной активности заболевания, в связи с чем аллель D можно рассматривать в качестве фактора прогноза течения заболевания. Однако результаты исследования подлежат проверке на больших выборках пациентов.

\*\*\*

*Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.*

*Исследование поддержано грантом ФГБУ «Фонд содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере» (Фонд содействия инновациям), договор №6585ГУ/2015 от 08.07.15 (код 0014900), конкурс УМНИК 15-5.*

## Литература

- Ильин М.В., Розанов Д.В., Романов В.А. Влияние эналаприла на кислородзависимый метаболизм, апоптоз нейтрофилов и систему антиоксидантной защиты крови у больных анкилозирующим спондилитом // Курский научно-практ. вестник «Человек и его здоровье». – 2011; 2: 48–51.
- Эрдес Ш.Ф., Балабанова Р.М. Динамика заболеваемости анкилозирующим спондилитом в России и субботние школы по спондилоартритам // Научно-практ. ревматол. – 2013; 51 (2): 145–8. DOI:10.14412/1995-4484-2013-641.
- Ahmet Inanir, Serbulent Yigit, Sengul Tural et al. Significant association between insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene and ankylosing spondylitis // Molecular Vision. – 2012; 18: 2107–13.
- Brown M. Breakthroughs in genetic studies of ankylosing spondylitis // Rheumatology (Oxford). – 2008; 47: 132–7.
- Brown M., Kenna T., Wordsworth B. Genetics of ankylosing spondylitis – insights into pathogenesis // Nat. Rev. Rheumatol. – 2016; 12 (2): 81.
- Brown M. Progress in the genetics of ankylosing spondylitis // Briefings in functional genomics. – 2011; 10 (5): 249–57.
- Braun J., Sieper J. Ankylosing spondylitis // Lancet. – 2007; 369: 1379–90.
- Esra Erkol Inal, Orhan Görükmez, Selma Eroglu et al. Association of GSTM1, GSTT1, GSTP1-ILE105VAL and ACE I/D polymorphisms with ankylosing spondylitis // Rheumatol. Int. – 2016; 36 (1): 17–23.

### ROLE OF THE ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME (ACE) GENE IN THE DEVELOPMENT OF ANKYLOSING SPONDYLITIS

*V. Mordovsky; E. Kapustina, Candidate of Medical Sciences; Professor S. Nikulina, MD; A. Chernova; T. Potupchik, Candidate of Medical Sciences Prof. V.F. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University*

*The paper presents the results of investigating the role of the angiotensin converting enzyme gene in a Russian population of patients with ankylosing spondylitis.*

**Key words:** rheumatology, ankylosing spondylitis, angiotensin converting enzyme (ACE) gene, ACE I/D gene.