

Ю. Л. Масленникова, П. В. Михайлов, А. В. Муравьев

Анализ кровотока в сосудах ног и роль молекулярных генетических маркеров ренин-ангиотензиновой системы у лиц с разным аэробным потенциалом организма

Работа выполнена в рамках реализации Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 гг.

Многие взаимосвязи разных показателей функций организма, лимитирующих транспорт кислорода в митохондрии клеток, остаются еще не до конца изученными. Было проведено исследование связей частоты полиморфных вариантов генетических маркеров ренин-ангиотензиновой системы и рядом характеристик регионарного кровообращения с помощью ультразвуковой доплерографии (УЗДГ) у лиц с разной величиной аэробного потенциала организма.

Ключевые слова: максимальное потребление кислорода, генетические маркеры, ультразвуковая доплерография, регионарный кровоток, скорость кровотока.

Yu. L. Maslennikova, P. V. Mikhailov, A. V. Muravyov

The Blood Flow Analysis in Lower Extremities and a Role of Molecular and Genetic Markers of the Renin-Angiotensin System

It is known that correlation between various functional characteristics of the organism is unclear. To clarify this problem the present study was made. Its aim was to investigate the frequency of polymorphic variants of genetic markers of the renin-angiotensin system and velocity parameters of regional blood flow by Doppler ultrasound in groups of young people with different values of body energy.

Keywords: maximum oxygen consumption, genetic markers, the velocity of blood flow.

Введение

Одним из основных лимитирующих звеньев общей аэробной работоспособности организма является кровообращение, осуществляющее транспорт дыхательных газов и субстратов и продуктов метаболизма [5, 9]. Для понимания механизмов формирования аэробного потенциала организма требуется комплексное его изучение, включая анализ системных, органных и клеточных факторов [5, 7, 8, 11]. Известно, что адаптационные возможности организма, определяющиеся величиной энергообеспечения, зависят от уникальных особенностей составляющих их генов [2, 3, 6]. Неблагоприятные сочетания аллельных вариантов в одной или нескольких генных сетях лежат в основе изменения функций организма, а порой и формирования их патологических трансформаций. В настоящее время изучена роль генетических детерминант ренин-ангиотензиновой системы, белковые продукты которой являются важными регуляторами кровяного давления, гомеостатической функции почек, определяют величину энергообеспечения [6, 9, 10, 12–14].

С учетом вышесказанного целью данного исследования было определение изменений кровотока в сосудах ног и частоты полиморфных вариантов генетических маркеров ренин-ангиотензиновой системы у лиц с разной величиной аэробного потенциала организма.

Материалы и методы исследования

Наблюдения проводили на здоровых молодых испытуемых обоего пола (n=138: женщин – 68, мужчин – 70, возраст – 18–27 лет), давших письменное информированное согласие на участие в исследовании. Нагрузочное тестирование было выполнено на кардиотесте «Аверон – КТ-02» (г. Челябинск) по стандартной методике, предложенной В. Л. Карпманом и др. (1989). Регистрировали систолическое артериальное давление (САД), частоту сердечных сокращений (ЧСС), двойное произведение (ДП) и максимальное потребление кислорода (МПК). На основе оценки МПК были сформированы по 4 группы у мужчин и женщин (табл. 1).

Таблица 1

Распределение испытуемых по уровню аэробной работоспособности (по величине МПК/кг массы тела) на группы (M±m)

Группы	пол	МПК (мл/мин/кг)
Группа 1 – «низкий уровень энергопотенциала»	М	27,15±3,30
	Ж	26,98±1,45
Группа 2 – «средний уровень энергопотенциала»	М	41,49±2,90
	Ж	35,80±0,79
Группа 3 – «повышенный уровень энергопотенциала»	М	55,23±8,91
	Ж	47,56±0,94
Группа 4 – «высокий уровень энергопотенциала»	М	69,44±4,62
	Ж	66,83±3,29

Обозначения: МПК – максимальное потребление кислорода; М – мужчины; Ж – женщины.

Параметры, характеризующие состояние регионарного кровообращения, определяли доплеровской ультразвуковой диагностической системой «DOPLEX-2500». Регистрировали показатели артерий обеих ног в местах их пальпации. Использовали УЗИ датчик АДС-4 (МГц) для подколенной артерии и АДС-8 (МГц) для большеберцовых артерий. На основе амплитудно-частотных данных кровотока были рассчитаны следующие скоростные характеристики для каждого сосуда: S (см / сек) – максимальная систолическая скорость; D (см / сек) – максимальная диастолическая скорость; M (см / сек) – средняя скорость за период пульса; Tц (сек) – время сердечного цикла (Ts2 – Ts1); HR – ЧСС x 60 / (Ts2 – Ts1). Определяли обобщенную пропускную способность сосудистого русла нижних конечностей.

У всех испытуемых для исследования брали венозную кровь натощак с использованием моновет (S-monovette) фирмы «SARSTEDT» (Германия) с антикоагулянтом (ЭДТА). Анализировали полиморфизм генов ACE (rs4340: 287 bp Ins/Del ангиотензин-превращающий фермент) и AGTR 1 (rs5186 angiotensin II receptor, vascular type 1 1166 A>C). Выделение ДНК проводили с использованием комплекта реагентов ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА (НПО ДНК-Технология). Поли-

меразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в 35 мкл реакционной смеси, содержащей 5 мкл образца ДНК. Замены одиночных нуклеотидов определяли с помощью детектирующего амплификатора ДТ-96 (ЗАО «НПФ ДНК-Технология», Россия).

Статистическую обработку полученных данных выполняли с использованием критерия t-Стьюдента. Частоту встречаемости полиморфных признаков определяли при помощи критерия Фишера.

Результаты исследования

Проведенное исследование позволило установить, что в группах с более высоким аэробным потенциалом проявлялись признаки «экономизации» функции сердечно-сосудистой системы в покое. Достоверные различия зафиксированы в группе 4 в сравнении с данными группы 1, где наблюдали меньшие средние величины ЧСС на 29 %, САД – на 9 %, ДП – 39 % и большую величину МПК (на 151,7 %; p<0,05).

Данные исследования периферического кровотока также свидетельствовали об его экономизации у лиц с более высокими значениями МПК (табл. 2 и 3).

Таблица 2

Средние обобщенные показатели скоростных характеристик периферического кровотока по данным доплерографии у испытуемых женского пола с разной величиной энергопотенциала (МПК/МТ)

параметры	1 группа	2 группа	3 группа	4 группа
S (см/сек)	37,92±0,9	41,12±1,9	34,31±2,05	28,88±0,97*
D (см/сек)	2,48±0,35	1,11±0,25	1,1±0,25	0,82±0,21*
M (см/сек)	9,5±0,59	8,77±0,9	6,7±0,58*	5,66±0,46*
Tц (сек)	0,7±0,006	0,79±0,04*	0,83±0,035*	0,879±0,07*
HR (уд/мин)	86,66±1,5	76,83±4,0*	71,7±2,79*	69,72±6,0*

Обозначение: * – p<0,05; S – максимальная систолическая скорость; D – максимальная диастолическая скорость; M – средняя скорость за период пульса; Tц – время сердечного цикла (Ts2 – Ts1); HR – ЧСС x 60 / (Ts2 – Ts1).

Таблица 3

Показатели скоростных характеристик периферического кровотока по данным доплерографии у испытуемых мужского пола с разной величиной энергопотенциала (МПК/МТ)

параметры	1 группа	2 группа	3 группа	4 группа
S (см/сек)	38,74±1,7	38,63±2,6	37,95±3,6	32,02±1,84*
D(см/сек)	1,75±0,22	1,617±0,4	1,39±3,6	0,945±0,43
M(см/сек)	8,2±0,67	8,06±1,9	7,05±0,93	5,52±0,76*
Tц (сек)	0,86±0,05	0,85±0,03	0,923±0,07	0,966±0,05*
HR(уд/мин)	74,76±3,0	70,88±2,8	68,63±7,9	64,6±3,85*

Обозначение: * – достоверность различия при $p < 0,05$; S – максимальная систолическая скорость; D – максимальная диастолическая скорость; M – средняя скорость за период пульса; Tц – время сердечного цикла ($Ts2 - Ts1$); HR – ЧСС x 60 / ($Ts2 - Ts1$).

Достоверные отличия параметров локального кровотока у мужчин обнаружены только в группах 1 и 4 – с «низким» и «очень высоким» энергопотенциалом (табл. 3).

Исследование полиморфных маркеров ренин-ангиотензиновой системы показало, что частота встречаемости I и D аллеля гена ACE, контролирующего процесс превращения ангиотензина, составляет, следовательно, 57 % и 43 %, что согласуется с популяционными данными для европейцев [2]. Частота распределения по гомозиготным и гетерозиготным генотипам равна соответственно 54 % (II и DD) 46 % (ID). Это не отличается существенно от данных, характерных для жителей других регионов (соответственно 49 %, 51 %) [9]. Анализ других данных исследования показал, что у женщин частота встречаемости I аллеля, ассоциированного с меньшей активностью фермента и инактивацией брадикинина,

была достоверно выше на 24 % ($p < 0,05$). Полученные данные не противоречат результатам других авторов в том, что у мужчин с генотипом DD уровень АД достоверно выше, чем у носителей генотипа II гена ACE [2, 14]. Хотя некоторые исследователи считают, что данный полиморфизм не является функциональным, а сцеплен с другим, более информативным полиморфизмом, гена [2, 10]. В нашем исследовании найдены достоверные отличия в частоте полиморфных вариантов этого гена в зависимости от величины энергопотенциала у женщин. Так, в группах 3 и 4 в сравнении с данными лиц группы 1 достоверно реже (на 28 %, $p < 0,05$) встречается D аллель гена ACE, ассоциированного с высоким уровнем плазменного ACE, высокой концентрацией ангиотензина II и высоким риском сердечно-сосудистых патологий (рис. 1).

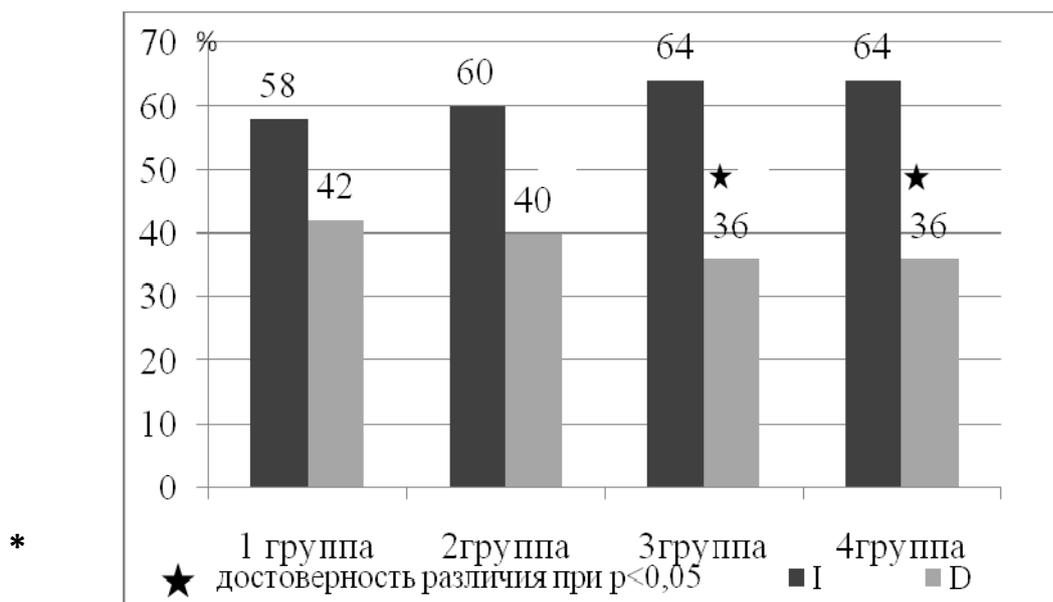


Рис. 1. Процентное соотношение частоты встречаемости I и D аллелей гена ACE в женских группах с разным уровнем энергопотенциала (МПК/МТ)

Анализ генотипов также обнаружил увеличение частоты встречаемости гомозиготного (II) и гетерозиготного (ID) вариантов в группах с большей величиной энергопотенциала (рис. 2).

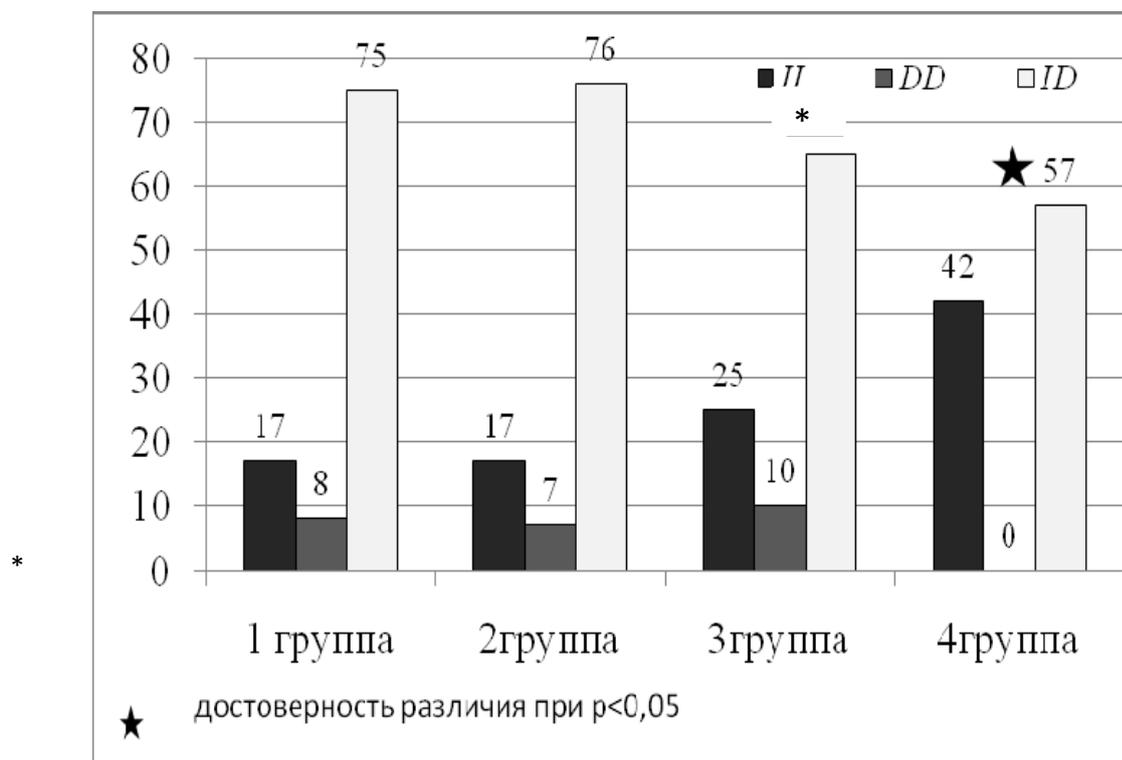


Рис. 2. Композиционный состав генотипов гена ACE в женских группах с разным уровнем энергопотенциала (МПК/МТ), где II и DD – частота встречаемости (в %) – гомозиготных вариантов, а ID – гетерозиготных

Частота встречаемости гомозиготного варианта DD достоверно не отличалась от контроля в группах женщин 2 и 3, а в группе 4 данный вариант не был обнаружен ни в одном из наблюдений, в то время как в мужских группах достоверных различий по данным полиморфным признакам в зависимости от энергопроизводительности не обнаружено.

Анализ данных о гене рецептора I типа к ангиотензину II (AGTRI), который обуславливает основные кардиоваскулярные эффекты, показал, что в смешанной группе испытуемых частота встречаемости аллельных и композиционных вариантов значимо не отличается от популяционных данных и составляет 80 % для A аллеля, 20 % для C аллеля, 70 % для гомозиготных генотипов и 30 % для гетерозиготного генотипа. Редкий гомозиготный вариант CC чаще встречался среди женщин и не был выявлен среди мужской подгруппы испытуемых. Вместе с тем у женщин достоверно реже на 39 % ($p < 0,05$) обнаруживается гомозиготный вариант AA гена AGTRI, и чаще встречается гетерозиготный вариант (на 47 %, $p < 0,05$). Таким образом, у мужчин преобладает

сильный гомозиготный вариант (AA) гена, отвечающего за кардиоваскулярные эффекты, при этом у женщин доминирует гетерозиготный вариант гена, который проявляет свою активность более мягко, хотя наличие даже одного C аллеля гена AGTRI существенно повышает его экспрессию и обуславливает увеличение плотности рецепторов ангиотензина.

Анализ полиморфных признаков гена рецептора I ангиотензина II в зависимости от пола и уровня энергопотенциала также выявил отсутствие достоверных отличий в мужских группах относительно контрольной группы. В группах женщин найдены достоверные отличия в сравнении с группой 1. Так, в первых трех группах соотношение частот аллелей A и C достоверно не отличалось, лишь в группе 4 соотношение аллелей было в пользу A аллеля (100 %), тогда как C аллеля не обнаружено. Рассмотрение композиционного состава показало, что в группах женщин с относительно высоким энергопотенциалом встречается чаще сильный гомозиготный вариант AA, реже – генотипы CC и AC (рис. 3).

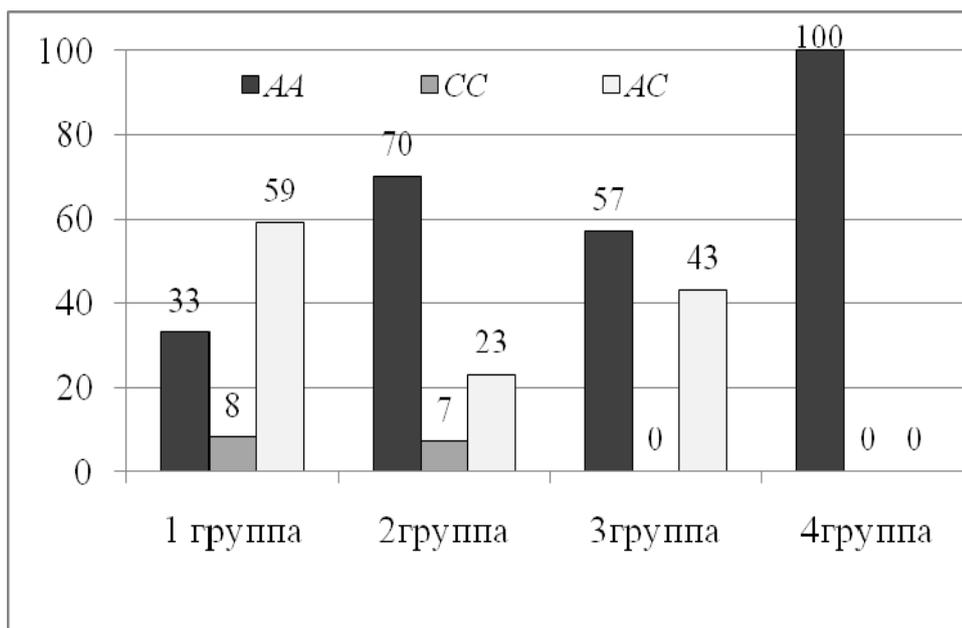


Рис. 3. Композиционный состав генотипов гена *AGTR1* в женских группах с разным уровнем энергопотенциала (МПК/МТ), где *AA* и *CC* – частота встречаемости (в %) – гомозиготных вариантов, а *AC* – гетерозиготных

Достоверные различия генотипов в сравнении с группой 1 обнаружены в группах 3 и 4, генотип *CC* отсутствовал в обеих группах. В группе 4 не встретились генотипы *CC* и *CA*, сердечно-сосудистый риск расценивается как низкий.

Таким образом, женщины группы 3 и в большей степени группы 4 (энергопотенциал «высокий» и «очень высокий», МПК/МТ более $47,56 \pm 0,94$ мл/мин/кг) характеризуются невысоким сердечно-сосудистым риском по данным анализа генетических маркеров, экономизацией функций центральной гемодинамики в покое и меньшей скоростью кровотока в бассейне нижних конечностей.

Заключение

Обнаружена взаимосвязь между уровнем аэробного потенциала организма, основными

скоростными характеристиками кровотока и частотой встречаемости полиморфных генетических маркеров ренин-ангиотензиновой системы (*ACE:rs4340: 287 bp Ins/Del* ангиотензин-превращающий фермент и *AGTR1:rs5186* angiotensin II receptor, vascular type 1 *1166 A>C*). Также показано, что эффективная аэробная работоспособность испытуемых сочеталась с большей частотой встречаемости *I* аллеля и генотипа *II ACE* гена и *A* аллеля и *AA* генотипа *AGTR1* гена.

Полученные данные демонстрируют некоторую связь величины аэробного потенциала организма испытуемых обоих полов с показателями, характеризующими периферический кровоток ног. При этом обнаружены некоторые гендерные отличия по большинству анализируемых параметров.

Библиографический список

1. Ахметов, И. И. Молекулярная генетика спорта [Текст] : монография / И. И. Ахметов. – М. : Советский спорт. – 2009. – 268 с.
2. Баранов, В. С. Геном человека и гены «предрасположенности» (Введение в предиктивную медицину) [Текст] / В. С. Баранов [и др.]. – СПб. : Интермедика, 2000. – 263 с.
3. Баранова, Е. И. Гипертоническая болезнь у женщин [Текст] / Е. И. Баранова, Н. П. Маслова. – СПб. : Изд-во СПбГМУ, 2000.
4. Елисева, Ю. Е. Ангиотензин-превращающий фермент, его физиологическая роль [Текст] / Ю. Е. Елисева // Вопросы медицинской химии. – 2001. – Т. 1. – С. 15.
5. Карпман, В. Л. Сердечно-сосудистая система и транспорт кислорода при мышечной работе : актовая речь [Текст] / В. Л. Карпман // Клинико-физиологические характеристики сердечно-сосудистой системы у спортсменов : сб., посвящ. двадцатипятилетию каф. спорт. медицины им. проф. В. Л. Карпмана. – М. : РГАФК, 1994. – С. 12–39.
6. Колчанов, Н. А. Интеграция генных сетей, контролирующих физиологические функции организма [Текст] / Н. А. Колчанов [и др.] // Вестник ВОГИС. – 2005. – Т. 9, № 2. – С. 179.

7. Осадчий, Л. И. Участие оксида азота в формировании реакций системной гемодинамики, вызываемых агентами, расширяющими кровеносные сосуды [Текст] / Л. И. Осадчий, Т. В. Балужева, И. В. Сергеев // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2008. – № 1(25). – С. 43–48.

8. Прогнозирование успешности соревновательной деятельности спортсменов с учетом генетических основ тренируемости [Текст] / под ред. В. А. Таймазова, С. Е. Бакулева // Ученые записки университета имени П. Ф. Лесгафта. – 2005. – Вып. 18. – С. 81–90.

9. Рогозкин, В. А. Генетические маркеры физической работоспособности человека [Текст] / В. А. Рогозкин, И. Б. Назаров, В. И. Казаков // Теория и практика физ.культуры. – 2000, № 12. – С. 33–36.

10. Iqbal .M.P, Mahmood S., Mehboobali N Assosiation stady of the angiotensin-converting ensim (ACE) gen

G 2350A dimorphism with myocardial infarction [Text] //Exp. Mol.Med. – 2004. – Vol.36. – №2 – P. 110–115.

11. Baker, L. The role of estrogen in cardiovascular disease / L. Baker, K. Meldrum, M. Wang et al [Text] // J Surg Res. – 2003. – 115. – P. 325–44.

12. Kiliszek, M. A1166C polymorphism of the angiotensin AT1 receptor (AT1R) gene alters endothelial response to statin treatment. [Text] // Clin Chem Lab Med. – 2007. – 45 (7). – P. 839–842.

13. Paul, M. Physiology of local renin-angiotensin systems [Text] // Physiol. Rev. – 2006. – Vol. 86. – P. 747–803.

14. Fornage M., Amos C.I., Kardina S. Variation in the region of the angiotensin-converting ensim gen influences interindividual differences in blood pressure levels in young white males [Text] // Circulation. – 1998. – Vol.97. – № 18. – P. 1773–1779.