

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему

УДК [616-035-2:616-08-039.32]+616.12-008.331.1

DOI

## АНАЛІЗ КЛІНІЧНИХ ТА ГЕНЕТИЧНИХ ДЕТЕРМІНАНТ НЕЕФЕКТИВНОГО ЛІКУВАННЯ У ПАЦІЄНТІВ З АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ

©С. А. Тихонова, В. П. Пісковацька, В. Б. Яблонська

Одеський національний медичний університет

**РЕЗЮМЕ.** Поліморфізм промоторної ділянки гена альдостеронової синтази *CYP11B2* -344C/T (rs1799998) відіграє одну із ключових ролей у модуляції об'єм- і натрійзалежних механізмів АГ. Пошук маркерів ефективності антигіпертензивної терапії (АГТ) обумовлений частим недосяганням цільових рівнів АТ незалежно від характеру, дози антигіпертензивних препаратів (АГП), прихильності пацієнта до лікування. Метою роботи було визначити роль поліморфізму -344C/T гену *CYP11B2* в поєднанні з традиційними ФР у контролі АТ у пацієнтів з АГ II–III ст. Обстежено 93 пацієнти у віці (61,1±8,9) років з АГ II–III ст. Пацієнти були поділені на 2 групи: 1 гр. (n=38) – пацієнти з цільовим рівнем АТ на фоні АГТ, 2 гр. (n=55) – пацієнти с АТ ≥135/85 мм рт. ст. Всім пацієнтам виконували стандартні клініко-лабораторні дослідження, оцінювали ФР, виконували генотипування з визначенням гаплотипу -344C/T *CYP11B2*. Групи пацієнтів з різними рівнями АТ були зіставні за частотою модифікованих ФР, кількісним, якісним складом АГТ. У групі осіб з неконтрольованою АГ частка курців, а також пацієнтів з супутнім цукровим діабетом 2 типу була достовірно вищою, порівняно з пацієнтами 1 гр. Аналіз частот алельних варіантів гену -344C/T *CYP11B2* показав, що частка пацієнтів, які мають Т-монозиготний генотип, була достовірно вищою серед пацієнтів 2 гр. Наявність Т-алеля і ТТ-генотип -344C/T *CYP11B2* в поєднанні з множинними ФР асоціювалась з недостатнім контролем АТ, незалежно від АГТ.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** артеріальна гіпертензія, мононуклеотидний поліморфізм -344 C/T гену альдостеронсинтази *CYP11B2*, ефективність антигіпертензивної терапії.

**Вступ.** Альдостерон – ключовий ефектор ренін-ангіотензин-альдостеронової системи (РААС), що регулює артеріальний тиск (АТ), електролітний обмін, модулює реакції запалення та атерогенезу. В численних дослідженнях, як у популяціях здорових нормотензивних осіб, так й у пацієнтів із різними стадіями артеріальної гіпертензії (АГ) було показано, що поліморфізм промоторної ділянки гену альдостеронової синтази *CYP11B2* -344C/T (rs1799998) значно впливає на концентрацію сироваткового альдостерону та ренін-альдостеронове співвідношення [1]. Дані щодо потенційного впливу гаплотипу *CYP11B2* на ефекти антигіпертензивних препаратів (АГП) різних класів фрагментарні та неоднозначні, навіть у межах однієї популяції. Х. Jiang та співавт. показали сприятливу відповідь на монотерапію 12,5 мг гідрохлоротіазиду протягом 4 тижнів у популяції китайських пацієнтів з гіпертензією, що мали СС-алельний варіант -344C/T поліморфізму гену *CYP11B2*, порівняно із СТ та ТТ генотипами [2]. Інше дослідження, проведене у 2011 р. Y. Li та співавт. навпаки, продемонструвало відсутність асоціації генотипу (СС: 67%; ТС: 34%; ТТ: 21%; p<0,05) із ступенем зниження АТ у китайській субпопуляції Хан у відповідь на призначення гідрохлоротіазиду [3]. В дослідженні 2002 р. J. Orllepp та співавт. було показано більш значуще зниження діастолічного АТ у відповідь на терапію 8 або 16 мг кардесартану у носіїв С-алеля. Гаплотип гену із високою вірогідністю обумовлював відповідь на антигіпертензивну терапію (АГТ) та досягнення цільового діастолічного АТ <85 мм рт. ст. (СС: 67%; ТС: 34%; ТТ: 21%; p=0,005) [4]. У дослідженні SILVHIA

було продемонстровано більш значне зниження систолічного АТ у пацієнтів з гіпертрофією лівого шлуночка (ГЛШ), що мали ТТ-гаплотип *CYP11B2*, у відповідь на прийом ірбесартану, порівняно із носіями С-алеля, а також відсутність взаємозв'язку між алельним варіантом *CYP11B2* та антигіпертензивним ефектом атенололу [5].

Пошук потенційних фармакогенетичних маркерів варіантів відповіді на антигіпертензивну терапію зумовлений низькою частотою досягнення цільових рівнів АТ серед гіпертензивних хворих внаслідок причин, не пов'язаних із некоректним вибором АГП, його дозуванням або комплаєнсом пацієнтів.

**Мета дослідження:** визначення ролі мононуклеотидного поліморфізму гену альдостеронової синтази -344C/T *CYP11B2* на тлі визнаних факторів кардіоваскулярного ризику (ФР) та аналіз їх асоціативного зв'язку із ефективністю контролю АТ у пацієнтів з АГ II–III стадій на етапі надання вторинної або спеціалізованої медичної допомоги.

**Матеріал і методи дослідження.** На базі клініки реконструктивної та відновної медицини (Університетська клініка) ОНМедУ обстежено 93 пацієнти з АГ II–III ст. з різною ефективністю АГТ. Недостатній контроль АТ на тлі рекомендованих доз АГП був основною причиною направлення пацієнтів до спеціалізованого етапу надання медичної допомоги та їх включення в дослідження. Цільовими рівнями АТ вважали ≤135/85 мм рт. ст. [6]. Не включали пацієнтів із вторинною АГ, відомою непереносимістю АГП 1 ряду. Пацієнтів було поділено на 2 групи відповідно до рівнів офісно-

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему

го АТ на момент включення в дослідження: 1 гр. (n=38) – пацієнти з цільовим рівнем АТ на тлі АГТ, 2 гр. (n=55) – пацієнти з рівнем АТ  $\geq 135/85$  мм рт. ст. Усім пацієнтам виконували клінічні, лабораторні та інструментальні обстеження згідно з Наказом МОЗ України № 384 (2012 р.) [7]. Оцінювали наявні ФР – статус курця, вживання алкоголю у кількості, що перевищує 2 дози на день для чоловіків та 1 дозу для жінок, відсутність фізичної активності  $\geq 4$  годин на тиждень, присутність у раціоні на регулярній основі надлишку солі ( $>5$  г/добу), насичених та/або трансжирів, гіперкалорійну дієту, недостатнє вживання клітковини [8], надмірну масу тіла або ожиріння, його тип, супутні порушення вуглеводного обміну.

Пацієнтам виконували генотипування з визначенням мононуклеотидного поліморфізму -344С/Т гену *CYP11B2*. Обов'язковою умовою для виконання генетичних досліджень було отримання інформованої згоди пацієнта на забір та подальший аналіз зразка генетичного матеріалу. Генетичний матеріал було отримано шляхом булакального мазка. Виділення ДНК з клітин булакального епітелію виконували за модифікованою методикою із застосуванням розчину іонообмінної смоли Chelex [9]. Концентрацію та чистоту препарату ДНК визначали на спектрофотометрі (Nanophotometr, Implen), відібравши аліквоту 5 мкл безпосередньо з пробірки з розчином ДНК. Алейні варіанти *CYP11B2* (-344С/Т) визначали методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів. Ампліфікацію виконували на ампліфікаторі CFX96 (BIO-RAD, США) в 20 мкл буферного розчину (Fermentas, Литва) та 100 нм кожного олігонуклеотидного праймера, 100–150 нг ДНК. Продукти ПЛР перевіряли за допомогою електрофорезу в 1% агарозному гелі із забарвленням бромистим етидієм та безпосередньою візуалізацією в УФ-світлі. Для ідентифікації продуктів ампліфікації застосовували маркер молекулярної ваги ДНК pUC19: Msp1.

Отримані дані статистично опрацьовували із застосуванням пакета програмного забезпечення STATISTICA 10.0 (StatSoft, USA). Визначення середніх значень (M) та стандартних відхилень ( $\pm SD$ ), достовірність розбіжностей між групами розраховували на базі функцій ANOVA-статистики, достовірність розбіжностей відносних частот – із застосуванням калькулятора вірогідностей.

**Результати й обговорення.** Середній вік пацієнтів у дослідженні складав (61,1 $\pm$ 8,9) років. Переважну частину досліджуваної групи склали жінки (64,5 %), що є певною особливістю дослідження. Середня тривалість захворювання на АГ склала (11,2 $\pm$ 7,1) років. Більша частина пацієнтів

(61,3 %) мали ожиріння абдомінального типу. Майже половина пацієнтів (45,2 %) репрезентували високий кардіоваскулярний ризик через перенесені серцево-судинні події або наявність  $\geq 3$  ФР. Високою була частка пацієнтів із ГЛШ (69,9 %) та пацієнтів із поєднаним ураженням церебральних та коронарних артерій, – кожний третій пацієнт у дослідженні.

Понад половина хворих (59,1%) на момент включення в дослідження не досягли цільових рівнів АТ, незважаючи на прийом максимально переносимих рекомендованих доз АГП. За середньою кількістю призначених АГП групи були зіставними – в середньому 2 препарати на 1 пацієнта. Суттєвих відмінностей не було й у якісному складі терапії, зокрема кількості комбінацій АГП 1 ряду та їх характеру (табл. 1). Пацієнтам 1 та 2 груп на момент включення в дослідження однаково часто призначали інгібітори ангіотензинперетворювального ферменту, блокатори рецепторів ангіотензину II, бета-блокатори, антагоністи кальцію, діуретики, а також АГП 2 ряду у складі комбінованої терапії.

Таблиця 1. Оцінка антигіпертензивної терапії у пацієнтів із різними рівнями АТ на момент включення в дослідження

Характеристики АГТ	1 гр. (n=38)	2 гр. (n=55)	P
Середня кількість АГП 1 ряду на 1 пацієнта	2,21 $\pm$ 0,81	2,22 $\pm$ 0,88	0,950
Пацієнти, які отримують монотерапію, %	18,4	21,8	0,721
Пацієнти, які отримують $\geq 2$ АГП, %	81,6	78,2	0,663

Групи пацієнтів із різними рівнями АТ були зіставними за статтю та частотою модифікованих ФР (табл. 2). Водночас частка курців була достовірно більшою в групі осіб з неконтрольованою АГ. Пацієнти 2 гр. частіше мали супутній цукровий діабет 2 типу, ніж пацієнти із оптимальним контролем АТ (1 гр.). Таким чином, ретельне урахування і корекція модифікованих ФР та корекція супутніх порушень вуглеводного обміну є важливим компонентом ефективності АГТ.

При аналізі частотного розподілу алейних варіантів поліморфізму гену *CYP11B2* визначено, що частка пацієнтів, які мали Т-монозиготний генотип, була достовірно вищою серед хворих із з нефективним контролем АГ (2 гр.). Можна припустити, що носії ТТ-генотипу *CYP11B2* мають гіперпродукцію альдостерону на фоні зміненої експресії гену та гіперактивацію натрійзалежних механізмів АГ в поєднанні із множинними ФР [10, 11].

Таблиця 2. Частота модифікованих та немодифікованих ФР у пацієнтів в дослідженні

Фактори ризику	1 гр. (n=38)	2 гр. (n=55)	P
Чоловіча стать, %	26,3	41,8	0,135
Сімейний анамнез АГ, %	86,8	90,9	0,554
Сімейний анамнез ранніх ССЗ*, %	21,1	38,2	0,081
Куріння, %	26,3	38,2	0,040
Зловживання алкоголем, %	10,5	18,1	0,307
Малорухливий спосіб життя, %	68,4	43,6	0,017
Зловживання харчовою сіллю, %	65,8	56,4	0,384
Дієта, багата насиченими жирами, %	76,3	78,2	0,821
Гіперкалорійна дієта, %	60,5	60	0,987
Недостатнє вживання клітковини, %	36,8	32,7	0,682
Ожиріння, %	55,3	65,5	0,331
Цукровий діабет 2 типу, %	10,5	30,9	0,020

Примітка: \* – анамнез раннього серцево-судинного захворювання (ССЗ) визначався як задокументована серцево-судинна подія у родичів 1-го порядку у віці  $\leq 55$  років для чоловіків та  $\leq 60$  років для жінок.

При порівнянні частоти ФР носії монозиготних генотипів СС та ТТ були зіставними як за модифікованими, так і за немодифікованими ФР.

Отримані результати ілюструють зв'язок між генетичними факторами, які є маркерами гіперактивації РААС із залученням об'єм-натрій-залежних механізмів АГ, в поєднанні з такими ФР

як тютюнопаління, цукровий діабет 2 типу, з незадовільними результатами лікування АГ.

Слід зазначити, що потенційним обмеженням даного дослідження є оцінка модифікованих ФР, що базується на суб'єктивній думці пацієнта щодо власного способу життя, харчових звичок, фізичної активності тощо.

Таблиця 3. Розподіл мононуклеотидних поліморфізмів -344С/Т CYP11B2 у пацієнтів із УОМ та різними рівнями АТ на тлі антигіпертензивного лікування

Мононуклеотидний поліморфізм -344С/Т CYP11B2	1 група (n=38)		2 група (n=55)		P
	абсолютне число	%	абсолютне число	%	
СС	24	63,2	24	43,6	0,057
СТ	10	26,3	10	18,2	0,354
ТТ	4	10,5	21	38,2	0,003

Таблиця 4. Алельна частота поліморфізму -344С/Т гену CYP11B2 у групах пацієнтів із різними рівнями АТ

Алель -344 С/Т	1 група (n=38)	2 група (n=55)	P
-344 С	0,76	0,53	0,024
-344 Т	0,24	0,47	

### Висновки

1. У пацієнтів з АГ II–III стадій виявлені клінічні та генетичні маркери, які асоціюються з неефективністю лікування антигіпертензивними препаратами 1 ряду.

2. Серед пацієнтів, які не досягали цільових рівнів АТ, була достовірно вищою частка осіб, які палять, мають супутній цукровий діабет 2 типу, ніж в групі пацієнтів із оптимальним контролем АТ при еквівалентному антигіпертензивному лікуванні.

3. Наявність Т-алеля та гомозиготність за -344С/Т CYP11B2 асоціювалася із недостатнім контролем АТ незалежно від кількісного та якісного складу антигіпертензивної терапії.

### Перспективи подальших досліджень.

Продовження досліджень з визначення клініко-генетичних портретів гіпертензивних пацієнтів, які не досягають ефективного контролю АТ на тлі стандартної АГТ, з метою індивідуалізованого лікування для більш ефективної профілактики ураження органів-мішеней та ускладнень АГ.

ЛІТЕРАТУРА

1. Modulation of aldosterone levels by -344 C/T CYP11B2 polymorphism and spironolactone use in resistant hypertension / V. Fontana, A. De Faria, N. Barbaro [et al.] // J. Am. Soc. Hypertens. – 2014. – № 8. – P. 146–151.
2. Effect of renin-angiotensin-aldosterone system gene polymorphisms on blood pressure response to antihypertensive treatment / X. Jiang, H. Sheng, G. Lin [et al.] // Chin Med J. – 2007. – № 120. – P. 782–786.
3. Interaction of ACE and CYP11B2 genes on blood pressure response to hydrochlorothiazide in Han Chinese hypertensive patients / Y. Li, Y. Zhou, P. Yang [et al.] // Clin. Exp. Hypertens. – 2011. – № 33. – P. 141–146.
4. Variants of the CYP11B2 gene predict response to therapy with candesartan / J.R. Ortlev, P. Hanrath, V. Mevissen [et al.] // Eur. J. Pharmacol. – 2002. – № 445 (1–2). – P. 151–152.
5. Aldosterone synthase (CYP11B2) -344 C/T polymorphism is related to antihypertensive response: result from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation versus Atenolol (SILVHIA) trial / L. Kurland, H. Melhus, J. Karlsson [et al.] // Am. J. Hypertens. – 2002. – Vol. 15 (5). – P. 389–393.
6. Clinical practice guidelines for the management of hypertension in the community a statement by the American Society of Hypertension and the International Society of Hypertension / M. Weber, E. Schiffrin, W. White [et al.] // J. Hypertens. – 2014. – № 32. – P. 3–15.
7. Уніфікований клінічний протокол медичної допомоги «Артеріальна гіпертензія» [Електронний ресурс] / [М. К. Хобзей, В. З. Нетяженко, Л. І. Божко та ін.] // МОЗ України. – 2012. – Режим доступу до ресурсу: [http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn\\_20120524\\_384.html](http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20120524_384.html).
8. Адаптована клінічна настанова, заснована на доказах «Артеріальна гіпертензія» [Електронний ресурс] / [М. К. Хобзей, В. З. Нетяженко, Л. І. Божко та ін.] // МОЗ України. – 2012. – Режим доступу до ресурсу: [http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn\\_20120524\\_384.html](http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20120524_384.html).
9. Walsh P. S. Chelex 100 as a Medium for Simple Extraction of DNA for PCR-Based Typing from Forensic Material / P. S. Walsh, D. A. Metzger, R. Higuchi. // BioTechniques. – 2013. – № 54. – P. 134–139.
10. Association of the -344T/C aldosterone synthase gene variant with essential hypertension / Z. Hlubocká, M. Jáchymová, S. Heller [et al.] // Physiol. Res. – 2009. – № 58. – P. 785–792.
11. Cheng X. Association between aldosterone synthase CYP11B2 polymorphism and essential hypertension in Chinese: A meta-analysis / X. Cheng, G. Xu // Kidney Blood Press Res. – 2009. – № 32. – P. 128–140.

## CLINICAL AND GENETIC MARKERS OF INEFFECTIVE ANTIHYPERTENSIVE TREATMENT IN HYPERTENSIVE PATIENTS

©S. A. Tykhonova, V. P. Piskovatska, V. B. Iablonska

Odesa National Medical University

**SUMMARY.** CYP11B2 promotor region polymorphism -344C/T (rs1799998) plays one of the key roles in volume and electrolyte balance modulation in hypertension. Relevant pharmacogenetic research is tending to find genetic markers, associated with ineffective high BP control, not related to drug dose, administration regimen or patient's compliance. The study aimed to evaluate the role of -344C/T CYP11B2 polymorphism in combination with traditional cardiovascular risk factors in hypertensive patients with hypertension stages II-III and variable blood pressure control. 93 hypertensive patients aged 61.1±8.9 years were divided into groups according to BP levels: 1st group (n=38) – patients achieving goal BP levels under antihypertensive treatment, 2nd group (n=55) – patients with BP levels ≥135/85 mm Hg, taking maximal tolerated registered doses of antihypertensive agents. Apart from standard clinical evaluation, assessment involved cardiovascular risk factors and -344C/T CYP11B2 SNP genotyping. Groups were comparable by modifiable risk factors and number of males, quality and quantity of antihypertensive agents. In the same time patients who did not achieve proper BP control were smokers and diabetic more often than those who achieved BP goals under treatment. T-allele carriers and T-monozygous patients demonstrated poor BP control comparing to patients with other genotype under the same clinical conditions and treatment.

**KEY WORDS:** hypertension, single-nucleotide polymorphism -344 C/T CYP11B2, antihypertensive treatment efficacy.

Отримано 20.04.2016