

Влияние полиморфизма гена ангиотезин-I-превращающего фермента (АПФ) на антипротеинурический эффект ингибиторов АПФ у молодых больных инсулинзависимым сахарным диабетом

Г.И. Сивоус, *Л.М. Демуров, [Я.Ю. Кондратьев], И.А. Строков, Э.А. Войчик, *В.В. Носиков, Э.П. Касаткина

*Кафедра эндокринологии детского и подросткового возраста
(зав. – проф. Э.П. Касаткина)
Российской медицинской академии последипломного
образования МЗ РФ, Москва*

**Государственный научный центр РФ “Гос НИИ Генетика”
(дир.-член-корр. РАН В.Г. Дебабов), Москва*

Диабетическая нефропатия (ДН) – одно из наиболее грозных микрососудистых осложнений сахарного диабета. Известно, что примерно у 30% пациентов, заболевших инсулинзависимым сахарным диабетом (ИЗСД) в детстве, терминальная почечная недостаточность развивается уже через 15 – 20 лет от начала заболевания [1]. В связи с этим наиболее актуальными становятся поиск факторов риска развития диабетической нефропатии, ранняя диагностика этого осложнения и разработка лечебно-профилактических мероприятий на начальных стадиях ее развития.

В последние годы в литературе широко обсуждается генетический риск развития диабетической нефропатии в зависимости от полиморфизма гена ангиотензин-I-превращающего фермента (АСЕ) у пациентов с обоими типами сахарного диабета [9, 10]. Однако большинство таких исследований проведено на взрослых больных с ИЗСД. Сведений о проведении аналогичных исследований у детей и подростков на стадии начинающейся и выраженной диабетической нефропатии в доступной литературе нам не встретилось. Тем не менее имеются сообщения, не подтверждающие ассоциацию ID/АСЕ полиморфного маркера с диабетической нефропатией у больных сахарным диабетом как в европейских, так и японской популяциях [5, 11]. Возможным объяснением таких расхождений в оценке роли этого генетического маркера при диабетической нефропатии у больных сахарным диабетом могут быть как расово-этнические вариации частот встречаемости

аллелей и генотипов в исследованных популяциях, этнические особенности клиники нефропатии и ее прогрессирования [8], так и различия в использованных методических подходах [6].

Исходя из ведущей роли гемодинамических нарушений в развитии и прогрессировании ДН, в литературе последних лет обоснована патогенетическая терапия этого осложнения ингибиторами ангиотензин-I-превращающего фермента (АПФ). Препараты данной группы способствуют улучшению внутривисцеральной гемодинамики и уменьшению внутривисцеральной гипертензии посредством снижения тонуса выносящей артериолы клубочка, тем самым, уменьшая экскрецию белка с мочой [3, 4]. Однако у пациентов с нормальным артериальным давлением эффективность этих препаратов мало изучена, а у детей и подростков публикации по этой теме являются единичными. Вопросы продолжительности лечения, доз и терапевтической тактики требуют дальнейшего уточнения.

Целью нашего исследования явилась оценка эффективности ингибиторов АПФ в лечении ДН у детей, подростков и молодых людей с нормальным артериальным давлением, заболевших ИЗСД в детстве, в зависимости от вида препарата, дозы, продолжительности лечения, полиморфизма гена АСЕ.

Обследовали 73 пациента с ДН в возрасте от 12 лет до 21 года с длительностью заболевания от 2 до 18 лет. У всех пациентов манифестация ИЗСД наступила в возрасте до 15 лет. На момент обследования все боль-

ные находились в состоянии компенсации или субкомпенсации углеводного обмена и получали инсулинотерапию в интенсифицированном режиме. В суточном рационе этих пациентов ограничивалось потребление белка до 1 г на 1 кг массы тела. Критерием формирования групп больных служила стадия ДН. В работе была использована классификация ДН С. Mogensen и соавт. (1983), согласно которой критерием начинающейся нефропатии является уровень альбуминурии более 300 мг/сут (стадия макроальбуминурии и протеинурии).

В проведенном исследовании число больных с микроальбуминурией составило 62 человека и с протеинурией – 11 человек. У всех пациентов с микроальбуминурией и протеинурией были исключены аномалии развития и признаки активного воспалительного процесса со стороны мочевыводящей системы. Азотовыделительная функция почек у всех больных была сохранена. До начала и в процессе лечения проводили общеклинические и биохимические обследования, определяли гликемию натощак и перед каждым приемом пищи, суточную глюкозурию.

Гликированный гемоглобин (HbA1) определяли колориметрическим методом на полуавтоматическом фотометре с программным обеспечением "ТЕСО-84" (США).

Скрининг на микроальбуминурию (МАУ) проводили трижды в течение 3 месяцев: дважды в ночной порции мочи по полоскам "Микраль-тест II" (фирма Берингер Манхайм, Германия) и однократно в суточном анализе мочи турбодиметрическим методом на автоматическом спектрофотометре "Spectrum Abbott laboratory" (США) с помощью диагностических наборов фирмы Берингер Манхайм (Германия). Суточную протеинурию определяли с помощью сульфациловой кислоты.

Для изучения генетических маркеров ДН проводили исследование гена, который картирован на 17-й хромосоме и представлен в виде 2 аллелей I и D по типу вставки и отсутствия вставки. Комбинации генотипов представлены в виде гомозигот II и DD и гетерозигот ID.

Выделение геномной ДНК из венозной крови осуществляли методом фенолхлороформной экстракции или с использованием хелатного полимера Chelex(r)-100 (Bio – Rad, США). Амплификацию полиморфного участка гена ACE проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) на амплификаторе РНС-2 (Techne, Великобритания) или Polichain II (Polygen, Германия). Продукты ПЦР разделяли с помощью электрофореза в 2% агарозном геле. Гель окрашивали бромистым этидием. В работе использовали термостабильную ДНК-полимеразу Taq, которая была получена от НПО "Биотех" (Москва). Синтетические олигонуклеотиды были синтезированы В.П. Вейко (ГНЦ "Гос НИИ Генетика"). В результате амплифика-

ции полиморфного участка гена ACE происходило образование двух продуктов длиной 190 п.н. (аллель D) и 480 п.н. (аллель I). Исследование проводили на базе Государственного научного центра РФ "Гос НИИ Генетика" в лаборатории молекулярной диагностики и геномной дактилоскопии.

У пациентов с нефропатией отмечена тенденция к накоплению генотипа DD, тогда как у больных без нефропатии – достоверное накопление генотипов, содержащих аллель I. Результаты проведенного исследования сопоставимы с данными других авторов, полученными на взрослых больных с ИЗСД из московской популяции [7], где была обнаружена связь между I/D полиморфизмом гена ACE и предрасположенностью к нефропатии. Причем наблюдался скорее защитный эффект аллеля I, чем предрасполагающий аллель D.

Таким образом, у детей и подростков с ИЗСД в московской популяции имеется связь вышеуказанного полиморфизма гена с предрасположенностью к нефропатии, что ставит последний в ряд факторов повышенного риска развития этого осложнения.

Изучена эффективность двух препаратов из группы ингибиторов АПФ – эналаприла малеата (коммерческое название "Ренитек", "Merck", Sharp и Dohme", США) в дозе 5 – 10 мг/сут, и рамиприла ("Тритаце", "Хёхст", Германия) в дозе 2,5 – 5 мг/сут. Препараты назначали однократно (утром) независимо от приема пищи. Лечение проводили в течение 12 – 36 нед в зависимости от достижения абсолютного антипротеинурического эффекта (экскреция альбумина с мочой менее 30 мг в сутки). Положительным антипротеинурическим эффектом считали снижение экскреции белка с мочой по сравнению с исходным уровнем. В случае сохраняющегося уровня альбуминурии и протеинурии или его повышения на фоне проводимого лечения регистрировалось отсутствие антипротеинурического эффекта.

В течение 12 нед 46 пациентов (38 с микроальбуминурией и 8 с протеинурией) получали ренитек в дозе 5 мг в сутки, 28 пациентов (24 с микроальбуминурией и 4 с протеинурией) получали тритаце в дозе 2,5 мг в сутки. У больных с абсолютным антипротеинурическим эффектом к концу 12-й недели лечение прекращалось с последующим контролем микроальбуминурии через 3 и 9 мес. В случае положительного антипротеинурического эффекта лечение продолжалось в прежней дозе до 24 – 36 нед. У пациентов с отсутствием антипротеинурического эффекта доза препаратов была увеличена в 2 раза по сравнению с исходной.

Сравнительная характеристика групп больных, получивших ренитек и тритаце, представлена в табл. 1. По полу, длительности заболевания, исходному уровню микроальбуминурии и протеинурии, уровню артериального давления, степени компенсации углеводного

Таблица 1

Сравнительная характеристика групп больных, получавших ренитек и тритаце

Показатели	П р е п а р а т			
	Р е н и т е к		Т р и т а ц е	
	МАУ n=37	Протеинурия n=7	МАУ n=24	Протеинурия n=4
Пол, муж./жен.	12/25	2/5	11/13	1/3
Длительность ИЗСД, лет	7,1±0,3	9,7±1,6	8,0±0,8	11,0±3,2
Уровень белка в моче, мг/сут	76,6±9,7	987,8±296	76,4±6,2	838,3±328
АД систол., мм рт.ст.	111,1±1,6	117,1±3,7	114,8±2,0	123,8±5,6
АД диастол., мм рт.ст.	70,3±1,2	74,3±3,0	73,3±1,4	80,0±2,4
НbA1, %	11,9±0,4	12,3±0,7	11,8±0,4	12,0±0,9

обмена группы пациентов статистически не различались. Таким образом, эффективность лечения препаратами оценивалась практически в однородных группах больных.

Среди пациентов, получавших тритаце, отмечалась тенденция к накоплению генотипа DD и увеличению частоты отсутствия антипротеинурического эффекта на фоне проводимого лечения в сравнении с больными, получавшими ренитек. Однако различия оказались статистически недостоверными.

В течение 12 нед ренитек и тритаце получали 62 больных с микроальбуминурией. У большинства пациентов (51,6%) после 12 нед лечения показатели альбумина мочи пришли к норме. Достоверное снижение экскреции альбумина с мочой по сравнению с исходным уровнем отмечено у 16,2% больных. У 32,2% лечение указанными препаратами оказалось неэффективным. Через 24 и 36 нед лечения отмечена явная тенденция к увеличению частоты суммарного абсолютного антипротеинурического эффекта и уменьшению частоты негативного эффекта. В группе больных с протеинурией (11 человек) преобладал положительный антипротеинурический эффект на протяжении всего периода лечения. Увеличение дозы препаратов в 2 раза не повышало частоты случаев абсолютного антипротеинурического эффекта в этой группе больных.

Необходимо отметить, что за время лечения ингибиторами АПФ практически у всех пациентов улучшилось течение диабета, о чем свидетельствовало снижение уровня гликированного гемоглобина. Достоверных различий в степени компенсации углеводного обмена у пациентов с наличием и отсутствием антипротеинурического эффекта не зарегистрировано. Гипотензивное действие ренитека и тритаце на протяжении исследуемого срока (12 – 36 нед) практически

отсутствовало, хотя имелась тенденция к снижению как систолического, так и диастолического давления, более выраженного у тритаце.

Анализ данных литературы и результаты собственных клинических исследований позволили нам прийти к заключению, что оптимальными для нормотензивных больных являются 12 – 24 – 36-недельные непрерывные курсы эналаприла и рамиприла в субпрессорных дозах.

Беспрерывная терапия ренитек и тритаце свыше 36 нед у нормотензивных подростков на стадии микроальбуминурии, на наш взгляд, является небезопасной, поскольку к этому сроку лечения практически у всех пациентов имело место снижение АД по сравнению с исходным уровнем, особенно проявившееся у больных, получавших рамиприл. Выявленная тенденция к снижению уровня АД диктует необходимость тщательного контроля АД на фоне лечения ингибиторами АПФ пациентов с нормальным артериальным давлением.

Индивидуальную переносимость ренитека и тритаце оценивали у всех пациентов. Нами не отмечено таких наиболее часто встречающихся побочных эффектов, как кашель, гипотония, ангионевротический отек.

При изучении метаболических эффектов ренитека и тритаце у подростков с ИЗСД на стадии начинающейся и выраженной ДН в процессе лечения не было обнаружено их гипогликемизирующего действия. Применение обоих препаратов не требовало коррекции дозы инсулина. Полученные данные совпадают с результатами других исследований, в которых также не было отмечено каких-либо неблагоприятных влияний препаратов из группы ингибиторов АПФ на углеводный обмен у больных сахарным диабетом [2, 3].

Таким образом, отмечена высокая эффективность и безопасность ренитека и тритаце в субпрессорных дозах у молодых пациентов с МАУ и нормальным уровнем АД: у подростков с протеинурией эффективность лечения была значительно ниже.

Изучена зависимость абсолютного антипротеинурического эффекта ингибиторов АПФ от исходного уровня альбуминурии и протеинурии. У пациентов с исходным уровнем МАУ менее 100 мг/сут частота абсолютного антипротеинурического эффекта составила 80,9% и была достоверно выше по сравнению с больными с уровнем микроальбуминурии 100–300 мг/сут, где эффективность лечения снизилась практически в 2 раза ($p < 0.01$). В группе с уровнем МАУ более 300 мг/сут случаи абсолютного антипротеинурического эффекта были редкими (37%) и зарегистрированы только у больных с МАУ (экскреция альбумина с мочой 300 – 500 мг/сут).

Таким образом, наши исследования убедительно показали обоснованность назначения ренитека и тритаце в используемых дозах детям с нормальным АД и подросткам с минимальными значениями микроальбуминурии, что позволит существенно повысить эффективность лечения данной патологии.

С помощью множественного регрессионного анализа нам удалось отметить взаимное влияние степени компенсации углеводного обмена, длительности лечения и суммарной дозы препаратов на антипротеинурический эффект в зависимости от I/D полиморфизма гена ACE.

У носителей генотипа II антипротеинурический эффект достигался при минимальной продолжительности лечения и зависел от степени компенсации углеводного обмена. У пациентов с генотипом ID для достижения антипротеинурического эффекта требовалась более продолжительная терапия и пропадала зависимость от уровня гликированного гемоглобина. У больных с генотипом DD эффективность препаратов зна-

чительно снижалась независимо от продолжительности лечения и степени компенсации углеводного обмена.

Следовательно, между антипротеинурическим эффектом ингибиторов АПФ, качеством контроля гликемии и ID полиморфизмом гена ACE имела место интерференция. Обнаруженная взаимосвязь между полиморфизмом гена ACE, концентрацией кодируемого им фермента и клинической эффективностью ингибиторов АПФ позволяет в большей степени индивидуализировать и более обоснованно назначать препараты выбора в лечении ДН.

Особый интерес вызывает длительно сохраняющееся влияние ренитека и тритаце на функциональное состояние клубочкового аппарата почек после отмены ингибиторов АПФ. Нами изучена стойкость абсолютного антипротеинурического эффекта через 3 и 9 мес после отмены препаратов (табл. 2).

Антипротеинурический эффект ренитека через 3 мес. после отмены препарата сохранялся у 19 (86,3%) больных, через 9 мес – у 16 (72,7%, $p < 0.05$) на фоне достоверного улучшения показателей гликированного гемоглобина ($p < 0.001$). Среди больных, получавших тритаце, через 3 месяца после отмены препарата эффект сохранялся у 8 (66,6%) больных, через 9 мес – у 6 (50%, $p < 0.05$) пациентов на фоне улучшения компенсации углеводного обмена. Сравнительный анализ не выявил достоверных различий по стойкости антипротеинурического эффекта у больных, получавших различные ингибиторы АПФ. Следовательно, абсолютный антипротеинурический эффект, полученный в результате лечения ингибиторами АПФ в течение 12 нед у подростков с микро- и макроальбуминурией, был стойким и сохранялся у большинства пациентов до 9 месяцев. Сохраняющийся в течение длительного времени после отмены препаратов достаточно низкий уровень альбуминурии у больных, получавших лечение по поводу начинающейся ДН, вероятнее всего связан с восстановлением структуры базальных мембран

Таблица 2

Антипротеинурический эффект ренитека и тритаце через 3 и 9 мес после отмены препаратов

Показатели	П р е п а р а т					
	Р е н и т е к			Т р и т а ц е		
	N	МАУ, мг/сут	HbA1, %	N	МАУ, мг/сут	HbA1 %
Исходные данные	22 (100%)	9,9 ± 1,3	11,7 ± 2,5	12 (100%)	7,79 ± 2,6	10,3 ± 0,6
Через 3 мес	19 (86,3%)	4,6 ± 2,1	10,9 ± 0,4	8 (66,6%)	10,6 ± 3,2	8,8 ± 0,5
Через 9 мес	16 (72,7%)	4,4 ± 1,9	8,9 ± 0,4*	6 (50%)	1,5 ± 1,7	9,3 ± 0,5

клубочков почек [1], хотя более точные механизмы этих эффектов ренитека и тритаце требуют дальнейшего изучения. Полученные данные представляются клинически значимыми, так как они позволяют рекомендовать больным курсовое лечение ренитеком и тритаце по 12 – 36 нед под тщательным контролем альбуминурии не реже 1 раза в 3 мес. В случае возобновления микроальбуминурии больные нуждаются в назначении повторного курса лечения по срокам не менее продолжительным, чем первоначальное.

Таким образом, у нормотензивных молодых больных с ИЗСД на стадии начинающейся нефропатии, в генотипе которых содержался даже один аллель I (II и ID), отмечен высокий антипротеинурический эффект ренитека и тритаце в субпрессорных дозах. У больных с генотипом DD эффективность лечения была значительно ниже. Отсутствие зависимости антипротеинурического эффекта у больных с генотипом DD от суммарной дозы препаратов, продолжительности лечения и степени компенсации углеводного обмена свидетельствует в пользу того, что у данной категории больных монотерапия ингибиторами АПФ малоэффективна. Выявленная взаимосвязь между ID полиморфизмом гена ACE и антипротеинурическим эффектом ингибиторов АПФ у больных с диабетической нефропатией позволяет в большей степени индивидуализировать подходы к патогенетической терапии данного осложнения.

Литература

1. Касаткина Э.П. Сахарный диабет у детей и подростков. М.: Медицина. – 1996
2. Шереметьева О.В. Фармакодинамика ингибитора ангиотензин превращающего фермента эналаприла на различных стадиях диабетической нефропатии у подростков с инсулинзависимым сахарным диабетом: Дис. ...к.м.н. – М., 1994.
3. Шестакова М.В. Диабетическая нефропатия: механизмы развития и прогрессирования, лечение и профилактика. Автореферат дисс. д.м.н. – 1995.
4. Bennett P., Haffner S., Kasisske B. et al.//Am. J. Kidney Dis. – 1995. – Vol.25. – P. 107 – 112.
5. Chowdhury T., Dronafeld M., Kumar S. et al.//Diabetologia. – 1996. – Vol. 39. — P. 1108 – 1114.
6. Chowdhury T., Kumar S., Barnett A. et al.//Diabetic Med. – 1995. – Vol. 12. – P. 1059 – 1067.
7. Kondratiev Y., Demurov L., Chugunova I. et al.//Diabetologia. – 1996 – Vol. 39. – Supl. 1. – P. 296.
8. Smith S., Svetkey L., Dennis V.//Kidney Intern. – 1991. – Vol. 40. – P.815 – 822.
9. Striker G.// Nephrol. Dial. Transplantol – 1995. – Vol. 10. – P. 290 – 292.
10. Tarnow L., Cambien F., Rossing P. et al.//Diabetologia. – 1995. – Vol. 38. – P. 798 – 803.
11. Tarnow L., Cambien F., Rossing P. et al.//Diabets. – 1995. – Vol. 44. — P. 489 – 494.