

Оригинальные работы / Original papers

© Коллектив авторов, 2017 г.  
УДК 616.24-036.12-08.355

Н. Д. Ёлшин\*, А. Б. Чухловин, Н. А. Кузубова, И. А. Шаханова, О. Н. Титова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

## РОЛЬ АНГИОТЕНЗИН-ПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

### РЕЗЮМЕ

Активация ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) наблюдается в легочной ткани, индуцированной мокроте (ИМ) и, в меньшей степени, в сыворотке крови. Сосудистая гипертензия отмечается у 40 % пациентов с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ), поэтому многие пациенты с ХОБЛ получают терапию ингибиторами АПФ. Исследование продукции АПФ по уровням белка или экспрессии гена *ACE1* может представлять значительный клинический интерес при ХОБЛ и ее лечении с применением гипотензивных средств.

**Цель работы** состояла в исследовании нормальной экспрессии гена *ACE1* в контрольной группе и у больных ХОБЛ и в оценке взаимосвязей между генотипами *ACE1* и клиническими параметрами у пациентов с ХОБЛ.

**Материал и методы.** В исследовании принимали участие 124 пациента с ХОБЛ II – III степени тяжести. Активность гена *ACE1* в лейкоцитах крови больных оценивали методом qPCR с флуоресцентными зондами. В качестве референс-гена для нормировки данных использовался ген GAPDH. Данные экспрессии генов оценивали по методу  $\Delta\Delta Cq$ . I/D-полиморфизм гена *ACE1* определяли стандартным ПЦР-методом по длине ампликонов после их детекции в агарозном геле.

**Результаты исследования.** Обнаружено достоверное увеличение экспрессии гена *ACE1* в группе пациентов с ХОБЛ в момент обострения и в группе после лечения по сравнению с контрольной группой. Частоты I/D-генотипов и аллелей гена *ACE1* не различались достоверно между общей группой пациентов и группами сравнения, что указывает на отсутствие заметной ассоциации этого полиморфизма с риском возникновения ХОБЛ. В общей выборке образцов (95 тестов) генотип D/D показал небольшую, но достоверную корреляцию с уровнем экспрессии мРНК *ACE1* в периферических лейкоцитах.

**Ключевые слова:** хроническая обструктивная болезнь легких, экспрессия гена *ACE*, *ACE*-полиморфизм, корреляции

Ёлшин Н. Д., Чухловин А. Б., Кузубова Н. А., Шаханова И. А., Титова О. Н. Роль ангиотензин-превращающего фермента при ХОБЛ. Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова. 2017; 24 (3): 65 – 70. DOI: 10.24884/1607-4181-2017-24-3-65-70.

\* Автор для связи: Никита Дмитриевич Ёлшин, ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России, ул. Профессора Попова, д. 15/17, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: nikita.yolshin@gmail.com.

© Composite authors, 2017  
UDC 616.24-036.12-08.355

N. D. Elshin\*, A. B. Chukhlovin, N. A. Kuzubova, I. A. Shahanova, O. N. Titova

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Academician I. P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia

## A ROLE OF ANGIOTENSIN-CONVERTING ENZYME IN CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

### SUMMARY

Activation of angiotensin-converting enzyme (ACE) is observed in lung tissues, induced sputum (IS), and, to a lesser extent in blood serum. Vascular hypertension is noted in 40 % of patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). Therefore, many COPD patients receive ACE inhibitor therapy. Studies of ACE production by specific protein levels or *ACE1* gene expression may represent sufficient clinical interest in COPD and upon its treatment using hypotensive drugs.

The **objective** of the work was to study the normal *ACE1* expression in control persons and COPD patients, and to assess correlations between the *ACE1* genotypes and clinical parameters in patients with COPD.

**Materials and methods.** The study included 124 patients with grade II-III COPD. *ACE1* activity in blood leukocytes was determined by means of qPCR using fluorescent probes. As a reference gene for data normalization, the GAPDH gene was selected. The data on gene expression were evaluated according to the  $\Delta\Delta Cq$  method. The insertion/deletion (I/D) polymorphism of the *ACE1* gene was determined with standard PCR technique according to the amplicon length after their detecting in agarose gel.

**Results.** We have found a significantly increased *ACE1* gene expression among patients with COPD upon exacerbation and after treatment, compared to control group. Frequencies of I/D genotypes and *ACE1* gene alleles did not differ significantly between total group of patients and comparison groups, thus showing no association between this polymorphism and COPD risk. In combined sample group (95 tests), the D/D genotype has shown a moderate, but significant correlation with *ACE1* mRNA expression in peripheral blood leukocytes.

**Keywords:** chronic obstructive pulmonary disease, ACE gene expression, ACE gene polymorphism, correlation

Elshin N. D., Chukhlov A. B., Kuzubova N. A., Shahanova I. A., Titova O. N. A role of angiotensin-converting enzyme in chronic obstructive pulmonary disease. The Scientific Notes of IPP-SPSMU. 2017;24(3):65–70. (In Russ.). DOI: 10.24884/1607-4181-2017-24-3-65-70.

\* **Corresponding author:** Nikita D. Elshin, Research Institute of Influenza, Professora Popova street, 15/17, Saint-Petersburg, Russia. E-mail: nikita.yolshin@gmail.com.

## ВВЕДЕНИЕ

Ангиотензин-превращающий (АПФ) фермент является протеазой широкого спектра специфичности. Его наиболее известным биосубстратом является ангиотензин, который под действием АПФ переходит в активную форму АТ II, что ведет к повышению сосудистого тонуса и гипертензии. Кроме того, АПФ способен расщеплять и инактивировать брадикинин — один из факторов острой воспалительной реакции. Тем самым ACE является также и противовоспалительным фактором [1].

Определение АПФ с синтетическими хромогенными субстратами при обострении хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) показало увеличение активности ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) в различных биоматериалах. Активация АПФ наблюдается, прежде всего, в легочной ткани, индуцированной мокроте (ИМ) и, в меньшей степени, в сыворотке крови [2]. Авторы показали прямую корреляцию между активностью АПФ и содержанием С-реактивного белка в мокроте пациентов с ХОБЛ. Как известно, АПФ активно вырабатывается клетками эндотелия, и его продукция определяется также генетическими факторами, в частности, широко известным интронным полиморфизмом ACE I/D. Поэтому вариабельность продукции ACE в групповых исследованиях требует анализа данных генных вариантов и анализа лабораторных маркеров локального воспалительного процесса.

Сосудистая гипертензия отмечается у 40 % пациентов с ХОБЛ [3]. Поэтому многие пациенты с ХОБЛ получают терапию ингибиторами АПФ. Часто встречается и сочетание коронарной болезни с ХОБЛ, как в силу возрастных особенностей, так и в результате системного воспаления, обусловленного легочной патологией. Клиническая значимость сосудистой патологии при ХОБЛ во многих случаях недостаточно учитывается [4]. АПФ-ингибиторы широко используются в стандартных схемах антигипертензивной терапии при ХОБЛ [5]. В ряде исследований рекомендуется применение ингибиторов АПФ с целью профилактики тяжелых форм сосудистой гипертензии [6].

Исследование продукции АПФ по уровням белка и экспрессии гена ACE могут представлять значительный клинический интерес при ХОБЛ и ее лечении с применением гипотензивных средств.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клинические исследования выполнялись в СПб ГБУЗ «Введенская больница» и Центре ХОБЛ.

В исследовании принимали участие 132 пациента с ХОБЛ различной степени тяжести. Медиана возраста для общей группы составила 65 лет (от 54 до 85 лет). На момент обследования у 40 % диагностирована II стадия заболевания, в 60 % установлена III стадия ХОБЛ. Стабильная артериальная гипертензия (> 149 мм рт. ст.) определялась в 74 % случаев.

Группу сравнения (21 человек) составили лица, соответствующие основной группе пациентов по возрасту и полу, с длительным стажем курения, но без выраженной клинической патологии легких и, соответственно, не получавшие патогенетической лекарственной терапии. Группа была набрана в центре ХОБЛ, возраст на период обследования — 42–60 лет. Контрольная группа была набрана в отделении переливания крови ПСПбГМУ и представлена практически здоровыми лицами в возрасте от 25 до 45 лет — 17 доноров крови. Все обследованные подписывали форму информированного согласия.

О пациентах собирались следующие данные: пол, возраст, стаж курения/наличие токсичных ингаляционных воздействий (количество пачко-лет/профессиональные вредности). Также регистрировали общие данные о заболевании: стадия ХОБЛ, частота обострений, наличие артериальной гипертензии, дыхательной недостаточности. Изучались лабораторные показатели клинического анализа крови: количество лейкоцитов, лимфоцитов, эозинофилов, эритроцитов, СОЭ, С-реактивный белок, сывороточные иммуноглобулины, уровень эндотелина, определявшиеся стандартными методами. Обработывали также данные спирометрии — ЖЕЛ, ОФV1.

В исследование включались больные с ХОБЛ средней и тяжелой степени тяжести (II и III стадии соответственно) с отсутствием клинически значимой сопутствующей патологии (сердечно-сосудистой системы, почек, эндокринной патологии, врожденные заболевания и пороки развития). Все больные — лица со стажем курения не менее 20 пачко-лет. В исследование не включались пациенты, имеющие сопутствующую патологию легких, требующие проведения длительной кислородотерапии. Если из крови выделялось малое количество РНК и, соответственно, наблюдался низкий уровень сигнала с референс-гена и отсутствовал сигнал с генов интереса, данные не включались в статистическую обработку.

Для определения уровня экспрессии гена ACE проводили выделение РНК, синтез cДНК с после-

дующим qPCR. Генотипирование ACE I/D осуществлялось при помощи аллель-специфичной ПЦР на матрице ДНК, выделенной из крови обследуемых.

**Выделение РНК.** Материалом для выделения РНК являлась периферическая кровь пациентов. Кровь собиралась в вакутейнеры с ЭДТА и хранилась при температуре + 4 °С до выделения. Выделение РНК производилось при помощи наборов GeneJet (ThermoFisher, Cat # K0731) по протоколу производителя. Для синтеза кДНК использовали набор RevertAid First Strand cDNA Synthesis (ThermoScientific, Cat # K1622), работали по протоколу производителя.

**ПЦР.** Для анализа экспрессии были подобраны (GenBank X16295.1) праймеры и флуоресцентный зонд, специфичный для гена ACE: смысловой: 5'-ggctcaatggctatgtagatg-3', антисмысловой: 5'-ctgcagctcctggaaga-3', taqman-зонд: FAM-tacgagacaccatcscctggagcaaga-BHQ1. ПЦР проводилась в стрипах по 8 пробирок с оптических крышками в амплификаторе Bio-Rad IQ5. Праймеры и зонд были синтезированы в компании «Бигль» (Санкт-Петербург). Для постановки ПЦР в реальном времени использовали 2-кратную, готовую к использованию смесь Maxima Probe qPCR Master Mix (ThermoFisher, Cat # K0261). Для оценки экспрессии использовали стандартный двухступенчатый цикл: денатурация при 95 °С в течение 3 мин, затем 40 повторений с чередованием денатурации при 95 °С в течение 10 с и минуты отжига праймеров и элонгации при 60 °С. Уровень экспрессии гена ACE нормировали относительно экспрессии гена «домашнего хозяйства» GAPDH. Амплификацию референс-гена GAPDH и исследуемых генов проводили в разных пробирках.

Для анализа полиморфизма I/D гена ACE геномную ДНК выделяли из лейкоцитов крови больных, лиц группы сравнения и контрольной группы с использованием коммерческого набора «Рибосорб» («Интерлабсервис»).

Инсерционно-делеционный генотип хорошо изученного гена ангиотензин-конвертирующего энзима (ACE-I/D) определяли с помощью аллель-специфической ПЦР. Для определения инсерционных и делеционных аллелей гена ACE-1 использовали ранее описанные пары праймеров: смысловой – 5' ctggagaccactccatcctttct 3' и антисмысловой – 5' gatgtggccatcacattcgtcagat 3' [7]. Олигонуклеотиды были синтезированы компанией «Бигль» (Санкт-Петербург). ПЦР проводилась в амплификаторе Bio-Rad IQ5. Реакционная смесь для ПЦР содержала следующие компоненты: 10x ПЦР-буфер («Евроген», Москва); смесь дезокси-нуклеотидов («Евроген», Москва), праймеры (от 0,5 мкМ) производства «Бигль» (Санкт-Петербург), ДНК-Тaq-полимеразу («Евроген», Москва), 1,0 МЕ в пробе и геномную ДНК (1 мкл на реакцию), в об-

щем объеме 25 мкл. Полимеразная цепная реакция ДНК проводилась в амплификаторе Bio-Rad IQ5. Использовали следующую программу амплификации: денатурация при 95 °С в течение 5 мин, затем 35 повторов с чередованием денатурации при 95 °С в течение 30 с, отжига праймеров при 65 °С в течение 30 с и элонгации при 72 °С также в течение 30 с.

Наличие продуктов ПЦР выявляли при помощи электрофореза амплификатов в 1,5 %-м агарозе в буфере TBE, окрашивали бромистым этидием, визуализацию флуоресцентных полос на геле осуществляли с помощью УФ-иллюминатора (Vilber Lourmat, Франция). Длину продуктов амплификации определяли с помощью молекулярного маркера (100 – 1000 п.о., Fermentas, Литва). В случае гомозиготности по аллелю гена ACE-1 делеции (D/D) наблюдался продукт длиной 190 п.о., при наличии гомозиготного варианта инсерции (I/I) – продукт длиной 490 п.о., в случае гетерозиготного носительства гена – выявлялись обе полосы.

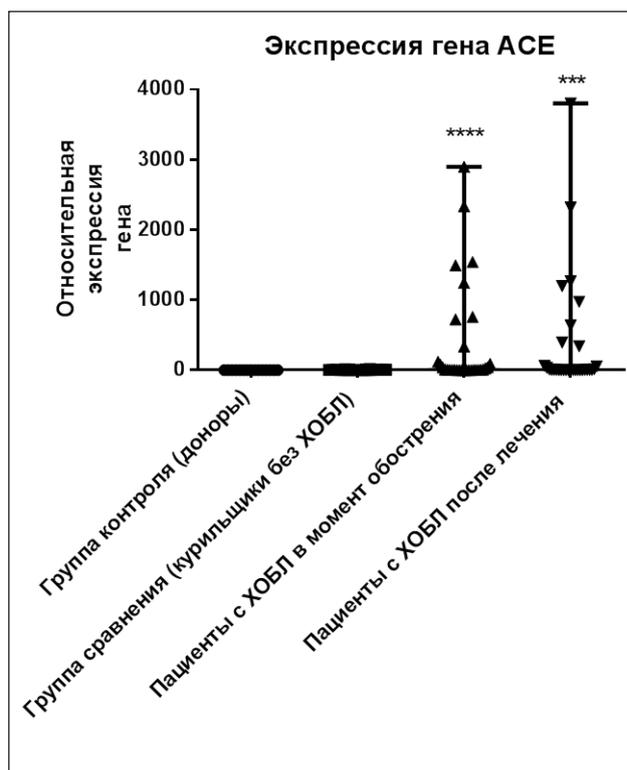


Рис. 1. Относительная экспрессия гена ACE (медиана и диапазон) в группах контроля, сравнения, группе пациентов с ХОБЛ в момент обострения и группе пациентов с ХОБЛ после лечения. Данные qPCR представлены в формате  $\Delta\Delta Cq$ , достоверно по критерию Краскела – Уоллиса, двустороннее значение  $p$ ; \*\*\*, \*\*\*\* – различия с контролем достоверны,  $p < 0,001$  и  $p < 0,0001$  соответственно

Fig. 1. Relative ACE gene expression (median and range) in following groups: the control group, the comparison group, the group of patients in exacerbation of COPD, the group of patients with COPD after treatment.  $\Delta\Delta Cq$  qPCR data, Kruskal – Wallis test was used, two-sided  $p$ -value, \*\*\*, \*\*\*\* – significant difference between the group and the control group with  $p < 0,001$  and  $p < 0,0001$  respectively

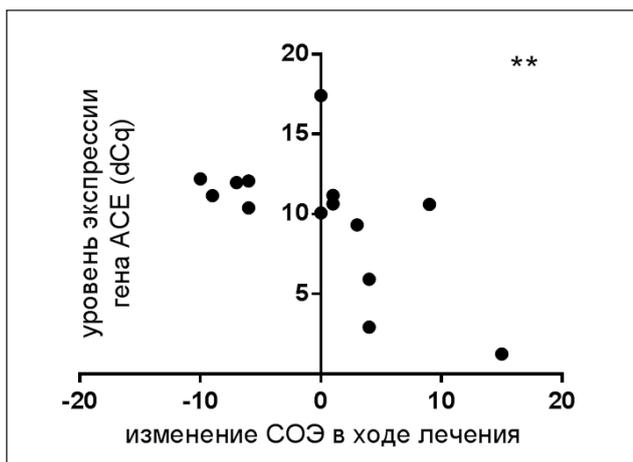


Рис. 2. Обратная корреляционная зависимость между относительным уровнем экспрессии гена ACE и изменениями СОЭ после курса комплексной бронхолитической и антибактериальной терапии. Данные qPCR представлены в формате ΔCq; \*\* – достоверно по критерию Спирмена при  $p < 0,01$

Fig. 2. Correlation between relative ACE gene expression and ESR dynamics while broncholytic and antibacterial treatment. ΔCq qPCR data, Spearman test was used; \*\* – significant difference with  $p < 0,01$

**Статистическая обработка результатов.** Данные qPCR по экспрессии генов в группах сравнивались по методу ΔΔCq. Для статистического анализа результатов, полученных в групповых выборках, использовалось программное обеспе-

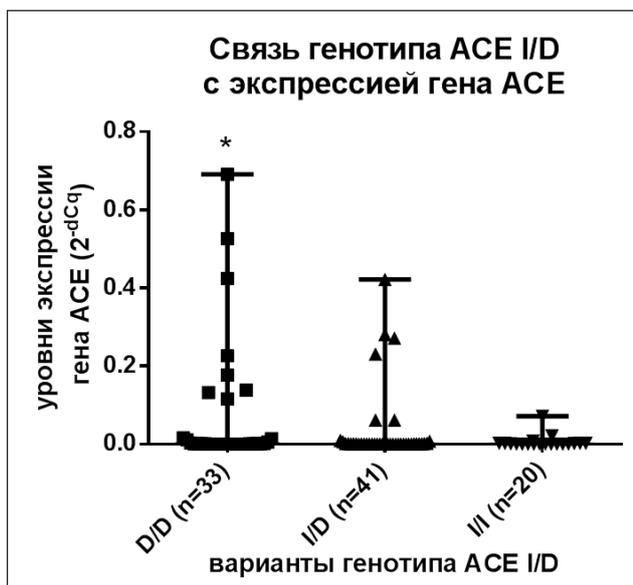


Рис. 3. Связь генетического профиля по гену ACE (I/D) с экспрессией этого гена. По оси ординат – показатели экспрессии ( $2^{-\Delta Cq}$ ), нормализованные по референс-гену GAPDH. Указана достоверность различия между группами D/D и I/I по критерию Манна – Уитни ( $p < 0,05$ )

Fig. 3. Relation of ACE genetic profile with expression levels of this gene. Normalised expression data ( $2^{-\Delta Cq}$ ) is on the y-axis. Mann – Whitney test was used for establish significant difference between groups D/D and I/I ( $p < 0,05$ )

чение «GraphPad Prizm 6.0» и методические рекомендации по статистической обработке данных [8]. Для обработки полученных данных использовался критерий Краскела – Уоллиса, предназначенный для проверки равенства медиан нескольких выборок. Данный критерий является многомерным обобщением критерия Уилкоксона – Манна – Уитни, который также использовался, но в случае сравнения двух выборок. График сравнения уровней экспрессии построен в виде скаттерограммы с обозначением медианы и диапазона (размаха) вариации.

Для оценки корреляций непараметрических данных в зависимых выборках (экспрессия разных генов у одного и того же пациента в один момент времени) и для оценки корреляций данных экспрессии с клиническими данными использовался критерий Спирмена. При тестировании статистических гипотез для оценки вероятности ошибки при отклонении нулевой гипотезы использовался двусторонний р-тест.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Обнаружено достоверное увеличение экспрессии гена ACE в группе пациентов с ХОБЛ в момент обострения и в группе после лечения по сравнению с контрольной группой (рис. 1). При этом между этими двумя группами достоверных различий в экспрессии не наблюдалось. Таким образом, по нашим данным, пациенты с ХОБЛ проявляют повышенную активность гена ACE в лейкоцитах, что подтверждает концепцию системного воспаления при выраженной симптоматике ХОБЛ.

Анализ данных показал, что имеется четкая зависимость (рис. 2) между снижением СОЭ и пониженной экспрессией гена ACE ( $r = -0,70$ ,  $p = 0,004$ ,  $n = 14$ ).

Показано, что генотип D/D ассоциирован с повышенной продукцией ангиотензин-конвертирующего фермента, что предрасполагает к повышенной артериальной тонуса (рис. 3). По результатам наших исследований (95 тестов), генотип D/D показал небольшую, но достоверную корреляцию с уровнем экспрессии гена ACE в периферических лейкоцитах ( $p = 0,03$ ), тогда как более низкие уровни экспрессии гена ACE у пациентов с ХОБЛ были ассоциированы с носительством аллеля I.

Таблица 1

Частота генотипов ACE I/D среди пациентов с ХОБЛ и в группе сравнения, %

Table 1

ACE genotypes rate among patients with COPD and in comparison group, %

Группа обследованных лиц	Численность групп, n	II	ID	DD
Доноры (контроль)	16	24	52	24
Группа сравнения	21	28	38	33
Больные ХОБЛ	123	23	45	32

Несмотря на полное отсутствие различий в частоте вариантов гена *ACE* (табл. 1), у пациентов с ХОБЛ по сравнению с курильщиками и группой здоровых доноров показан ряд корреляций генотипа D/D с рядом клинических показателей. На рис. 4 показана связь между изменением уровня СОЭ до и после лечения и генотипом *ACE*. Это наблюдение согласуется со связью между снижением экспрессии *ACE* и замедлением СОЭ.

Результаты генотипирования также подтвердили связь между развитием отдельных симптомов ХОБЛ и I/D-полиморфизмом гена *ACE* у больных. Нами показана взаимосвязь между носительством аллеля D и признаками аллергического воспаления у пациентов с ХОБЛ. Мы выявили существенные взаимосвязи между генотипом *ACE* и рядом биомаркеров воспаления (табл. 2).

Ранее было показано, что основные воспалительные реакции, включая накопление нейтрофилов и эозинофилов в бронхах, усиливаются под действием ингибиторов *ACE* [9]. Провоспалительные эффекты снижения *ACE* могут быть связаны с его брадикининазной активностью [10]. Выраженная эозинофилия, повышенные IgE и эндотелин сыворотки согласуются с воспалительным компонентом, более характерным для низкопродуктивного генотипа I гена *ACE*.

В то же время предыдущее исследование нашей группы показало связь между присутствием аллеля D и дисфункцией эндотелия у пациентов с ХОБЛ [11]. Как известно, АПФ вырабатывается в основном в клетках эндотелия, и поэтому их патология может изменять локальную продукцию данного фактора и влиять на взаимодействие клеток сосудистой выстилки с эритроцитами, изменяя при этом, в частности, и показатели СОЭ. В работе M. Vog-Kucukatay et al. [12] показано, что способность эритроцитов к деформации была значительно повышенной у лиц с генотипом DD, по сравнению с II или ID. Повышение пластичности эритроцитов при генотипе DD может приводить к ускорению скорости их седиментации, что нам и удалось наблюдать при типировании I/D-полиморфизма гена *ACE*.

## ВЫВОДЫ

Разработана система оценки экспрессии гена *ACE* методом qPCR. Обнаружена достоверно повышенная экспрессия гена *ACE* у

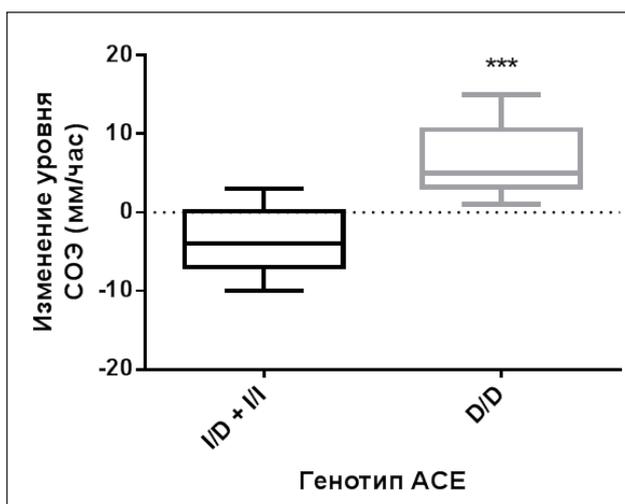


Рис. 4. Зависимость между изменением уровня СОЭ до и после лечения и генотипом *ACE*. Достоверность различия в группах оценивалась по критерию Манна – Уитни, двустороннее значение  $p = 0,0005$ ,  $n = 17$

Fig. 4. Relation between *ACE* genotype and ESR dynamics while treatment. Mann – Whitney test was used, two-sided  $p = 0,0005$ ,  $n = 17$

Таблица 2

### Исследование связи генотипа *ACE* с клинико-лабораторными показателями больных ХОБЛ

Table 2

#### Relation between *ACE* genotype with clinical and laboratory parameters of patients with COPD. Mean $\pm$ 95 % CI, number of examined persons is in the brackets

Показатель	Генотипы <i>ACE</i>		Уровень достоверности P
	ID + II	DD	
Содержание эритроцитов, $10^{12}/л$	5 (35)	5 (26)	0,51
	4,8 – 5,1	4,8 – 5,2	
Изменения числа лимфоцитов, $10^6/мл$	0,3 (15)	–0,35 (8)	0,43
	–0,3 – 0,9	–1,2 – 3,5	
Эозинофилы, %	3 (40)	1 (18)	<b>0,02</b>
	2 – 3	1 – 2	
Изменения СОЭ при лечении, мм/ч	–4 (11)	5 (6)	<b>0,0005</b>
	–9 – 1	1 – 15	
СРБ, мг/мл	2,36 (33)	7,75 (22)	<b>0,01</b>
	1,1 – 6,6	2,9 – 26	
IgE, МЕ/л	134 (13)	63 (6)	<b>0,04</b>
	59 – 273	30 – 100	
Эндотелин, пмоль/л	2,4 (19)	1,86 (10)	<b>0,03</b>
	1,6 – 4,6	0,7 – 2,7	
Изменения ОФВ	1,16 (11)	1,19 (8)	0,52
	0,99 – 1,27	1,07 – 1,52	
Изменения ЖЕЛ (л)	1,04 (11)	1,055 (8)	0,67
	0,94 – 1,19	0,88 – 1,42	

Примечание: приведены медианные значения с границами 95 %-го доверительного интервала. В скобках указано количество обследованных.

группы пациентов с ХОБЛ по сравнению с группами сравнения (курильщики без ХОБЛ) и контроля (здоровые доноры крови), что согласуется с развитием закономерной системной реакции на базе локального воспаления легочной ткани.

Подтверждена взаимосвязь генотипа DD с повышенным уровнем экспрессии гена ACE. Выявлена связь генотипа D/D ACE у больных ХОБЛ с рядом лабораторных показателей: уровнями СОЭ, сывороточного IgE и эндотелина, содержанием эозинофилов в крови.

### Конфликт интересов

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов.

### Conflicts of interest

Authors declare no conflict of interest.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Kuoppala A., Lindstedt K. A., Saarinen J. et al. Inactivation of bradykinin by angiotensin-converting enzyme and by carboxypeptidase N in human plasma // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2000. — № 278 (4). — P. H1069–1074.
2. Федорова Т. А., Рыбакова М. К., Ройтман А. П. и др. Активность ангиотензинпревращающего фермента в клиническом течении и формировании легочного сердца у больных хроническими обструктивными болезнями легких // *Клин. мед.* — 2006. — № 4. — С. 31–34.
3. Smith M. C., Wrobel J. P. Epidemiology and clinical impact of major comorbidities in patients with COPD // *Intern. Journ. of COPD.* — 2014. — № 9. — P. 871–888.
4. Reed R. M1., Eberlein M., Girgis R. E. et al. Coronary artery disease is under-diagnosed and under-treated in advanced lung disease // *Am. J. Med.* — 2012. — № 125 (12). — P. 1228.e13–1228.e22.
5. Chandy D., Aronow W. S., Banach M. Current perspectives on treatment of hypertensive patients with chronic obstructive pulmonary disease // *Integr. Blood Press. Control.* — 2013. — № 6. — P. 101–109.
6. Renin-angiotensin system blockade: a novel therapeutic approach in chronic obstructive pulmonary disease / D. Shrikrishna, R. Astin, P. R. Kemp. N. S. Hopkinson // *Clin. Sci (Lond).* — 2012. — № 123 (8). — P. 487–498.
7. Mayer N. J., Forsyth A., Kantachuvesiri S. et al. Association of the D allele of the angiotensin I converting enzyme polymorphism with malignant vascular injury // *J. Clin. Pathol.* — 2002. — № 55. — P. 29–33.
8. Кочетов А. Г., Лянг О. В., Масенко В. П. и др. Методы статистической обработки медицинских данных: метод. реком. для ординаторов и аспирантов мед. учеб. завед., науч. работников. — М.: РКНПК, 2012. — 42 с.
9. Andersson R. G., Persson K. ACE inhibitors and their influence on inflammation, bronchial reactivity and cough // *Eur. Heart J.* — 1994. — № 15. — Suppl. — P. 52–56.
10. Aliberti J., Viola J. P., Vieira-de-Abreu A. et al. Cutting edge: bradykinin induces IL-12 production by dendritic cells: a danger signal that drives Th1 polarization // *J. Immunol.* — 2003. — № 170 (11). — P. 5349–5353.

11. Kuzubova N. A., Chukhlovin A. B., Morozova E. B. et al. Common intronic variant of ACE gene is associated with endothelial dysfunction in COPD // *Respiratory Medicine.* — 2013. — Vol. 107. — P. 1217–1221.

12. Bor-Kucukatay M., Turgut S., Emmungil G. et al. Increased deformability of red blood cells is associated with a deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene // *Tohoku J. Exp. Med.* — 2006. — № 208 (2). — P. 147–155.

### REFERENCES

1. Kuoppala A., Lindstedt K. A., Saarinen J. et al. Inactivation of bradykinin by angiotensin-converting enzyme and by carboxypeptidase N in human plasma // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2000. — № 278 (4). — P. H1069–1074.
2. Федорова Т. А., Рыбакова М. К., Ройтман А. П. и др. Активность ангиотензинпревращающего фермента в клиническом течении и формировании легочного сердца у больных хроническими обструктивными болезнями легких // *Клин. мед.* — 2006. — № 4. — С. 31–34.
3. Smith M. C., Wrobel J. P. Epidemiology and clinical impact of major comorbidities in patients with COPD // *Intern. Journ. of COPD.* — 2014. — № 9. — P. 871–888.
4. Reed R. M1., Eberlein M., Girgis R. E. et al. Coronary artery disease is under-diagnosed and under-treated in advanced lung disease // *Am. J. Med.* — 2012. — № 125 (12). — P. 1228.e13–1228.e22.
5. Chandy D., Aronow W. S., Banach M. Current perspectives on treatment of hypertensive patients with chronic obstructive pulmonary disease // *Integr. Blood Press. Control.* — 2013. — № 6. — P. 101–109.
6. Renin-angiotensin system blockade: a novel therapeutic approach in chronic obstructive pulmonary disease / D. Shrikrishna, R. Astin, P. R. Kemp. N. S. Hopkinson // *Clin. Sci (Lond).* — 2012. — № 123 (8). — P. 487–498.
7. Mayer N. J., Forsyth A., Kantachuvesiri S. et al. Association of the D allele of the angiotensin I converting enzyme polymorphism with malignant vascular injury // *J. Clin. Pathol.* — 2002. — № 55. — P. 29–33.
8. Кочетов А. Г., Лянг О. В., Масенко В. П. и др. Методы статистической обработки медицинских данных: метод. реком. для ординаторов и аспирантов мед. учеб. завед., науч. работников. — М.: РКНПК, 2012. — 42 с.
9. Andersson R. G., Persson K. ACE inhibitors and their influence on inflammation, bronchial reactivity and cough // *Eur. Heart J.* — 1994. — № 15. — Suppl. — P. 52–56.
10. Aliberti J., Viola J. P., Vieira-de-Abreu A. et al. Cutting edge: bradykinin induces IL-12 production by dendritic cells: a danger signal that drives Th1 polarization // *J. Immunol.* — 2003. — № 170 (11). — P. 5349–5353.
11. Kuzubova N. A., Chukhlovin A. B., Morozova E. B. et al. Common intronic variant of ACE gene is associated with endothelial dysfunction in COPD // *Respiratory Medicine.* — 2013. — Vol. 107. — P. 1217–1221.
12. Bor-Kucukatay M., Turgut S., Emmungil G. et al. Increased deformability of red blood cells is associated with a deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene // *Tohoku J. Exp. Med.* — 2006. — № 208 (2). — P. 147–155.

Дата поступления статьи 03.05.2017

Дата публикации статьи 23.10.2017