

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ РЕГУЛЯТОР УРОВНЯ МОЗГОВОГО НАТРИЙУРЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА В КРОВИ У МУЖЧИН С ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ: НЕОСЛОЖНЕННОЙ И ОСЛОЖНЕННОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ II-III ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ КЛАСС

Пашкова Ю.П.

*Винницкий национальный медицинский университет имени Н.И. Пирогова
Кафедра внутренней медицины медицинского факультета №2
ул. Пирогова, 56, г. Винница, Украина*

Ключевые слова: эссенциальная гипертензия, полиморфизм гена мозгового натрийуретического пептида, хроническая сердечная недостаточность.

Резюме: В работе изучались особенности организации гена мозгового натрийуретического пептида (Т-381С) и уровни его концентрации в плазме крови у мужчин, жителей Подольского региона Украины, страдающих эссенциальной гипертензией: неосложненной (II стадии) и осложненной хронической сердечной недостаточностью II-III ФК. Установлено, что как среди практически здоровых мужчин так и больных с эссенциальной гипертензией различной тяжести доминирует генотип Т381С и аллель С гена МНП. Носители аллели С гена МНП имеют достоверно большие уровни пептида в плазме крови как среди представителей контрольной группы так и у больных с эссенциальной гипертензией различной тяжести.

Актуальность. Система натрийуретических пептидов - это группа циркулирующих в крови гормонов, которые являются физиологическими антагонистами ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, противодействуют повышению сосудистого тонуса и гипертрофии сосудистой стенки [10]. Определено, что наибольшую специфичность и информативность по отношению к функции миокарда имеет мозговой натрийуретический пептид (МНП). Он имеет важное патофизиологическое значение в диагностике сердечной недостаточности, стратификации риска и контроле эффективности терапии хронической сердечной недостаточности (ХСН) [5].

Сотрудниками кафедры внутренней медицины медицинского факультета №2 ВНМУ имени Н.И. Пирогова определено, что продукция МНП прямо пропорциональна растяжению и перегрузке давлением левого желудочка (ЛЖ) и четко коррелирует с конечно-диастолическим давлением в ЛЖ и наличием гипертрофии ЛЖ [2]. Однако, открытым остается вопрос роли генетического воздействия на регуляцию уровня МНП.

Доказано, что ген МНП расположен на первой хромосоме и состоит из трех экзонов и двух интронов. Определен и изучен наиболее физиологически значимый полиморфизм гена МНП - замена тимина на цитозин в 381 положении (Т-381С), также известен как (SNP rs198389) [1,6,8,9]. В украинской популяции такой полиморфизм раньше не исследовался. Учитывая современные достижения в изучении патогенеза ХСН, можно

предположить о влиянии полиморфизма гена МНП на развитие и прогрессирование эссенциальной гипертензии (ЭГ) и ХСН на ее фоне.

Цель: Улучшить прогнозирование и диагностику хронической сердечной недостаточности у мужчин жителей Подольского региона Украины с эссенциальной гипертензией, путем определения уровней плазменной концентрации мозгового натрийуретического пептида при носительстве различных вариантов гена МНП.

Задачи:

1. Изучить распространенность полиморфизма гена МНП у мужчин, жителей Подольского региона Украины, представителей контрольной группы и больных с неосложненной ЭГ и при развитии ХСН.

2. Оценить пороговые плазменные уровни МНП у мужчин, жителей Подольского региона Украины практически здоровых и больных с неосложненной ЭГ и при развитии ХСН при наследовании различных генотипов гена мозгового натрийуретического пептида.

Материалы и методы.

Обследовано 191 мужчин 40 - 60 лет, проживающих на территории Подольского региона Украины. Из них 62 пациента с ЭГ II стадии и гипертрофией ЛЖ, 2-3 степени, СН 0-I функциональный класс (ФК) по NYHA, средний возраст которых составил $49,19 \pm 0,66$ лет (1-я группа) и 50 мужчин с ЭГ III стадии, осложненной ХСН II-III ФК по NYHA в возрасте $50,14 \pm 0,99$ лет (2-я группа). В контрольную группу исследования вошли 79 мужчин без доказательств сердечно-сосудистых заболеваний в истории болезни и на момент проведения исследования, средний возраст - $49,01 \pm 0,73$ лет. Диагноз ЭГ и ХСН устанавливали на основании жалоб больных, данных анамнеза, физикального обследования, лабораторных и инструментальных методов исследования согласно клинических рекомендаций по артериальной гипертензии Европейского общества гипертензии (ESH) и Европейского общества кардиологов (ESC), 2013 и руководящих принципов ESC по диагностике и лечению ХСН, 2012. Все больные наблюдались с декабря 2013 года по июль 2014 года.

Критериями исключения из исследования стали: симптоматическая артериальная гипертензия, нарушения функций почек и печени, ишемическая болезнь сердца, возникновение которой предшествовало ЭГ, эндокринные, гематологические, опухолевые и аутоиммунные нарушения, больные с осложнениями ЭГ: инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения. Генотипирование гена МНП проведено с применением полимеразной цепной реакции после выделения геномной ДНК из лейкоцитов венозной крови. Это исследование проводили совместно с НИИ генетических и иммунологических основ развития патологии и фармакогенетики высшего государственного учебного заведения Украины «Украинская медицинская стоматологическая академия» (г. Полтава, руководитель проф. И.П. Кайдашев). Концентрация МНП в плазме крови определялась с помощью иммуноферментного метода на стриповом

иммуноферментном анализаторе «Humareader single» (Германия) при длине волны 450 нм и дифференциальным фильтром 630 нм. Для определения плазменной концентрации МНП использовали стандартный набор фирмы «Peninsula laboratories Inc.» (США). Математическую обработку проводили на персональном компьютере с использованием стандартного статистического пакета STATISTICA 6,1. Была проведена проверка распределения частот полиморфных генов в популяции в соответствии с законом равновесия Харди-Вайнберга. Пороговый уровень МНП определялся способом предложенным М.Ю. Антоновым в соавторстве с В.Н. Жебелем, Е.А. Сакович, Г.В. Вильчинским, О.А. Сингх [3,4].

Результаты и их обсуждения.

У представителей группы контроля частота встречаемости генотипа Т381Т гена МНП составляет 31,65% (n=25), генотипа Т381С - 49,37% (n=39), генотипа С381С - 18,90% (n=15) ($p_{cc-тг} > 0,05$; $p_{тс-cc} \leq 0,05$; $p_{тс-тг} > 0,05$). Частота распределения аллелей у пациентов мужского пола представителей контрольной группы составляет - аллели Т - 43,67%, аллели С - 56,33% ($p < 0,05$).

Согласно полученным данным, у больных с ЭГ II стадии и пациентов с ЭГ и ХСН доминирует генотип Т381С и аллель С гена МНП ($p < 0,05$). Определено, что у мужчин с ЭГ не наблюдалось достоверного различия в носительстве всех вариантов генотипов гена МНП при сопоставлении с соответствующими генотипами у лиц контрольной группы ($p > 0,05$) (Рис. 1).

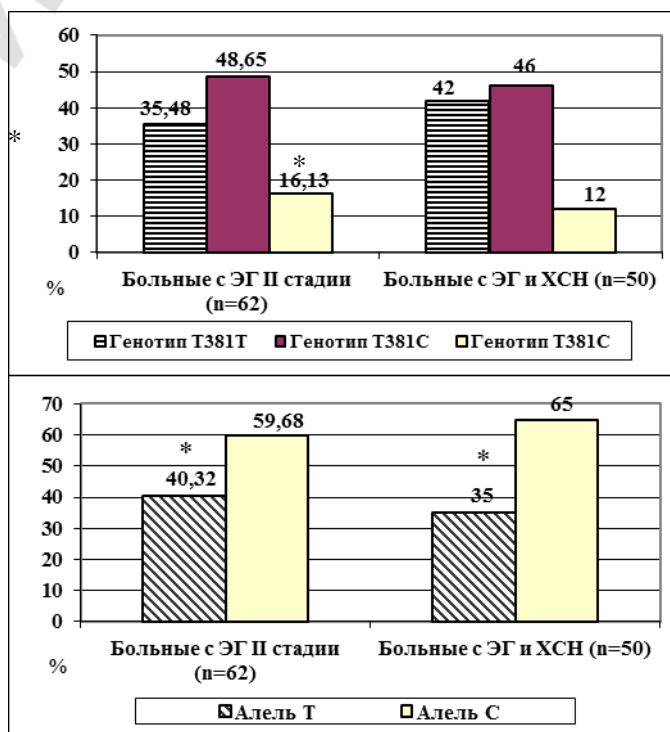


Рис. 1 – Распределение частот генотипов и аллелей гена МНП среди мужчин жителей Подольского региона больных с ЭГ II стадии и пациентов с ЭГ и ХСН, (%)

Примечание: разница показателей достоверна ($p < 0,05$) при сопоставлении с: * - генотипом Т381С/аллелю С в пределах каждой группы.

Полученные результаты в целом совпадают с данными проведенных исследований среди жителей других популяций населения планеты. В то же время у жителей Подольского региона Украины генотип С381С обнаруживают чаще, чем у американцев, русских и немцев. Генотип Т381Т чаще встречается в граждан Российской Федерации Новосибирского региона. Частоты полиморфных генотипов гена МНП у больных из разных популяций значимо не отличаются [1,6,7].

В ходе статистического анализа было объединено гетерозигот Т381С гена МНП и гомозигот С381С в общую группу - носителей аллели С. Следующим шагом стало определение уровней МНП у представителей контрольной группы и пациентов с ЭГ различной тяжести при полиморфном наследовании гена мозгового натрийуретического пептида. Концентрация МНП в плазме крови в группе контроля составляет $21,74 \pm 0,50$ пг/мл (1), у мужчин с ЭГ II стадии - $77,40 \pm 2,85$ пг/мл (2), у больных с ЭГ и ХСН - $185,88 \pm 4,22$ пг/мл (3) ($p_{2-1} < 0,0001$, $p_{3-1} < 0,001$, $p_{3-2} < 0,001$). Определено, что уровень МНП в плазме крови у больных с ЭГ различной тяжести как носителей генотипа Т381Т так и аллели С достоверно выше, чем у практически здоровых мужчин ($p < 0,0000001$). Наиболее высокая концентрация МНП определялась у мужчин с ЭГ, осложненной ХСН II-III ФК, носителей аллели С. У представителей контрольной группы, так и больных с ЭГ различной тяжести плазменный уровень МНП у носителей аллели С достоверно больше, чем у носителей генотипа Т381Т (табл.1).

Таблица 1. Плазменная концентрация МНП у мужчин контрольной группы, больных с ЭГ различной тяжести при носительстве различных генотипов гена МНП, $M \pm m$ (пг/мл)

Группы	Носители генотипа Т381Т	Носители аллели С	p
Группа контроля (n=79)	$15,95 \pm 0,69$ (n=25) (1)	$24,41 \pm 0,48$ (n=54) (4)	$p_{4-1} < 0,05$
Больные с ЭГ II стадии (n=62)	$48,16 \pm 0,63$ (n=22) (2)	$93,49 \pm 0,94$ (n=40) (5)	$p_{5-2} < 0,0000001$
Больные с ЭГ и ХСН (n=50)	$156,0 \pm 6,99$ (n=21) (3)	$207,50 \pm 5,7$ (n=29) (6)	$p_{6-3} < 0,0000001$
p	$p_{2-1} < 0,0000001$ $p_{3-1} < 0,0000001$ $p_{3-2} < 0,0000001$	$p_{5-4} < 0,0000001$ $p_{6-4} < 0,0000001$ $p_{6-5} < 0,0000001$	

В исследовании L.C. Costello-Boerrigter et al. (2011), A. Meirhaeghe et al. (2007) и R. Pfister et al. (2011) установлено, что наследование генотипов гена МНП с наличием аллели С - Т381С и С381С ассоциировалось с высокой

концентрацией указанного пептида в плазме крови у больных с ЭГ II стадии [6,8,9]. В работе, проведенной Е.Н. Березиковой (2013), по изучению полиморфизма гена МНП у больных с ХСН лиц мужского и женского пола было доказано, что у практически здоровых лиц российской популяции с генотипом С381С уровень N-концевого предшественника МНП в плазме крови достоверно выше по сравнению с носителями генотипа Т381Т [1].

Полученные данные в ходе исследования указывают на необходимость определения диапазонов концентраций пептида в плазме крови в зависимости от наследования определенного варианта генотипа гена МНП. В соответствии с полученными результатами рассчитаны уровни МНП для скрининговой диагностики ЭГ, осложненной ХСН II-III ФК у мужчин жителей Подольского региона Украины, которые можно применять при обследовании больших групп людей для выявления лиц, которым в дальнейшем нужно провести полное, в том числе, ультразвуковое исследование сердца:

- уровень МНП $\geq 100,09$ пг/мл (чувствительность - 96%, специфичность - 83,4%, безошибочность - 89,63%, ложноотрицательный ответ - 6%, ложноположительный ответ - 12,72%) позволяет диагностировать ЭГ, осложненную ХСН II-III ФК у лиц мужского пола.

Однако следует учитывать возможность и генетического влияния на концентрацию МНП в плазме крови. Полученные результаты указывают, что наличие аллели С в генотипе гена МНП ассоциируется с высокой концентрацией пептида в плазме крови, поэтому было решено провести расчет пороговых уровней МНП для носителей аллели С и носителей генотипа Т381Т:

- уровень МНП $\geq 110,74$ пг/мл (чувствительность - 93%, специфичность - 85,6%, безошибочность - 83,17%, ложноотрицательный ответ - 4%, ложноположительный ответ - 10,71%) позволяет диагностировать ЭГ, осложненную ХСН II-III ФК у лиц мужского пола носителей аллели С (гетерозигот Т381С и гомозигот С381С) гена МНП;

- уровень МНП $\geq 79,67$ пг/мл (чувствительность - 91%, специфичность - 82,36%, безошибочность - 93,4%, ложноотрицательный ответ - 0%, ложноположительный ответ - 6,23%) позволяет диагностировать ЭГ, осложненную ХСН II-III ФК у лиц мужского пола гомозигот носителей генотипа Т381Т гена МНП.

Выводы:

1. Среди практически здоровых мужчин и больных с ЭГ различной тяжести жителей Подольского региона Украины доминирует генотип Т381С и аллель С гена МНП.

2. Носители аллели С гена МНП имеют достоверно высшие уровни пептида в плазме крови как среди представителей контрольной группы так и у больных с ЭГ различной тяжести, при этом наиболее высокая концентрация МНП определяется у носителей аллели С с ЭГ, при наличии ХСН II-III ФК.

3. Рассчитанные пороговые уровни МНП можно использовать при скрининговом обследовании больших контингентов людей для ранней диагностики ЭГ, осложненной ХСН II-III ФК носителей разных вариантов гена МНП.

Литература

1. Березикова Е.Н. Полиморфизм гена мозгового натрийуретического пептида у больных с хронической сердечной недостаточностью / Е.Н. Березикова, С.Д. Маянская, Л.А. Гараева [и др.] // Казанский медицинский журнал. - 2013. - №4. - С.433-438.

2. Старжинська О.Л. Генотип рецептора до ангіотензину II 1-го типу як фактор впливу на структуру та функцію міокарда у хворих на гіпертонічну хворобу різної важкості / О.Л. Старжинська, В.М. Жебель, Ю.О. Гефтер [та ін.] // Артеріальна гіпертензія. – 2009. - №1(3). - С. 24-29.

3. Пат. 67486 Україна, МПК G01N 33/48 (2006.01). Спосіб діагностики хронічної серцевої недостатності у жінок післяменопаузального віку, хворих на гіпертонічну хворобу / Жебель В.М., Сакович О.О., Вільчинський Г.В., Сінгх О.О.; заявник та власник Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова. - №u201108789; заявл. 12.07.11; опубл. 27.02.12, Бюл. №4.

4. Antomonov M.Y. The calculation of thresholds (critical) action levels of accounting factors for different types of data obtained in hygienic Research / M.Y. Antamonov // Health of settlements. - 2004. - №43. - P.573-579.

5. Berezin A. Utility of Biomarkers in Contemporary Management of Chronic Heart Failure / A. Berezin // Annals of Clinical and Laboratory Research, iMedPub Journals. - 2015. - Vol. 3(2). - 16-28.

6. Costello-Boerrigter L.C. The Effect of the Brain-Type Natriuretic Peptide Single-Nucleotide Polymorphism rs198389 on Test Characteristics of Common Assays / L.C. Costello-Boerrigter, G. Boerrigter, S. Ameenuddin [et al.] // Mayo Clin Proc. – 2011. – Vol. 86 (3). – P. 210-218.

7. Lajer M. Polymorphisms in the B-type natriuretic peptide (BNP) gene are associated with NT-proBNP levels but not with diabetic nephropathy or mortality in type 1 diabetic patients / M. Lajer, L. Tarnow, A. Jorsal [et al.] // Nephrol Dial Transplant. – 2007. – Vol. 22(11). – P. 3235-3239.

8. Meirhaeghe A. Association between the T-381C polymorphism of the brain natriuretic peptide gene and risk of type 2 diabetes in human populations / A. Meirhaeghe, M.S. Sandhu, M.I. Carthy // Hum Mol Genet. - 2007. - Vol. 16 (11). – P. 1343-1350.

9. Pfister R. Mendelian Randomization Study of B-Type Natriuretic Peptide and Type 2 Diabetes: Evidence of Causal Association from Population Studies / R. Pfister, S. Sharp, R. Luben [et al.] // PLoS Medicine. – 2011. – Vol. 8 (10). – P. 1-11.

10. Volpe M. Natriuretic peptides and cardio-renal disease / M. Volpe // International Journal of Cardiology. – 2014. – Vol. 176(3). – P. 630–639.