

# ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ЭТ-1 (LYS198ASN) НА КОНЦЕНТРАЦИЮ ЭНДОТЕЛИНА-1 В ПЛАЗМЕ КРОВИ У МУЖЧИН С ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ РАЗНОЙ ТЯЖЕСТИ

Палагнюк А.А.

*Винницкий национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова  
Кафедра внутренней медицины медицинского факультета №2  
Винница, Украина*

**Ключевые слова:** эссенциальная гипертензия, полиморфизм гена эндотелина-1, плазменная концентрация эндотелина-1.

**Резюме.** У мужчин группы контроля и у больных с ЭГ разной степени тяжести преобладает генотип *Lys198Lys* и аллель *Lys* гена ЭТ-1, при этом наивысший уровень пептида определяется у носителей аллеля *Asn*. Рассчитаны граничные уровни ЭТ-1, которые можно использовать при скрининговом обследовании больших групп людей для ранней диагностики ЭГ осложненной ХСН у носителей разных генотипов гена ЭТ-1.

**Актуальность.** На глобальном уровне, осложнения эссенциальной гипертензии (ЭГ) вызывают 7,6 млн. случаев смерти в мире ежегодно. На долю гипертонии приходится, по меньшей мере, 47% смертных случаев, вызванных болезнями сердца, и 54% случаев смерти, вызванных инсультом [6]. Мультифакториальность и наследственная обусловленность ЭГ уже хорошо известны. Особый интерес может вызывать изменение наследственных последствий в виде патологического нарушения регуляции функции эндотелия сосудов. Одним из таких факторов является Single nucleotide polymorphism гена эндотелина-1 (ЭТ-1) (*Lys198Asn*), который многими исследователями рассматривается как возможный генетический маркер эндотелиальной дисфункции (ЭД) - одного из основных патогенетических механизмов ЭГ. Однако, влияние полиморфизма гена ЭТ-1 на уровень этого пептида в плазме крови является малоизученным, а в Украине он вообще не изучался.

**Цель:** Усовершенствовать диагностику риска развития ЭД и ЭГ у мужчин 40-60 лет, жителей Подольского региона Украины, путем определения вариантов унаследованных генотипов гена ЭТ-1 и его плазменных концентраций.

**Задачи:** Определить носительство различных генотипов гена ЭТ-1 и его плазменных концентраций у мужчин группы контроля и у пациентов с ЭГ разной степени тяжести в возрасте 40-60 лет, жителей Подольского региона Украины.

**Материалы и методы исследования.** В исследовании приняли участие 192 пациента мужского пола 40 - 60 лет, проживающих на территории Подольского региона Украины. Из них 79 мужчин (49,01±0,73 лет) вошли в группу контроля, у которых на момент осмотра не было обнаружено каких либо заболеваний со стороны сердечнососудистой системы, почек и печени, отсутствие эндокринных, гематологических,

опухолевых и аутоиммунных нарушений. У 62 пациентов ( $49,19 \pm 0,66$  лет) диагностировали неосложненную ЭГ с гипертрофией левого желудочка (ГЛЖ). У 50 пациентов диагностирована ЭГ, осложненная хронической сердечной недостаточностью (ХСН) II-III ФК по NYHA ( $50,14 \pm 0,99$  лет). Все группы пациентов были репрезентативными по возрасту ( $p > 0,05$ ). Диагноз ЭГ 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. Все пациенты наблюдались в период с декабря 2013 по июнь 2014 года. Критериями исключения из исследования стали: симптоматическая артериальная гипертензия, нарушение функций почек и печени, ишемическая болезнь сердца, возникновение которой предшествовало ЭГ, эндокринные, гематологические, опухолевые и аутоиммунные заболевания, больные с осложнениями ЭГ: инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения. Генотипирование гена ЭТ-1 проведено с применением полимеразной цепной реакции. Это исследование проводили совместно с НИИ генетических и иммунологических основ развития патологии и фармакогенетики ВГУЗ «Украинская медицинская стоматологическая академия» (г. Полтава, руководитель проф. И.П. Кайдашев). Концентрация ЭТ-1 в плазме крови определялась с помощью иммуноферментного метода. Математическую обработку материала проводили на персональном компьютере с использованием стандартного статистического пакета STATISTICA 6.0. Была проведена проверка распределения частот полиморфных генов в популяции в соответствии с законом равновесия Харди-Вайнберга с помощью калькулятора «ген-эксперт» (Государственный Научный Центр Российской Федерации "ГосНИИ генетика", gen-exp.ru). Предельный уровень ЭТ-1 определялся способом, предложенным М.Ю. Антамоновым в соавторстве с В.Н. Жебелем, Е.А. Сакович, Г.В. Вильчинским, О.А. Сингх [1,4].

**Результаты и их обсуждение.** У мужчин из группы контроля генотип Lys198Lys гена ЭТ-1 встречается с частотой 65,82% ( $n=52$ ), генотип Lys198Asn – 27,85% ( $n=22$ ), а генотип Asn198Asn - 6,33% ( $n=5$ ) ( $p_{Lys/Asn-Lys/Lys} < 0,00001$ ;  $p_{Asn/Asn-Lys/Lys} < 0,00001$ ;  $p_{Asn/Asn-Lys/Asn} < 0,001$ ). Частота распределения аллелей в этой группе составляет - аллель Lys – 79,75%, аллель Asn – 20,25% ( $p_{Lys-Asn} < 0,00001$ ). Установлено, что у мужчин с неосложненной ЭГ с ГЛЖ генотип Lys198Lys гена ЭТ-1 определяется у 56,45% ( $n=35$ ) пациентов, генотип Lys198Asn у 33,87% ( $n=21$ ) человек, генотип Asn198Asn у 9,68% ( $n=6$ ) обследованных мужчин ( $p_{Lys/Asn-Lys/Lys} < 0,01$ ;  $p_{Asn/Asn-Lys/Lys} < 0,00001$ ;  $p_{Asn/Asn-Lys/Asn} < 0,001$ ). Изучение распределения частот аллелей гена ЭТ-1 у пациентов с неосложненной ЭГ с ГЛЖ показало, что аллель Lys встречается у 73,39% мужчин, а аллель Asn – у 26,61% пациентов ( $p_{Lys-Asn} < 0,00001$ ). Далее была определена частота носительства гена ЭТ-1 у мужчин с ЭГ, осложненной ХСН. Генотип Lys198Lys гена ЭТ-1 определяется

у 66% (n=33) обследованных, генотип Lys198Asn у 28% (n=14) человек, генотип Asn198Asn у 6% (n=3) ( $p_{Lys/Asn-Lys/Lys} < 0,0001$ ;  $p_{Asn/Asn-Lys/Lys} < 0,00001$ ;  $p_{Asn/Asn-Lys/Asn} < 0,01$ ). Частота аллели Lys – 80%, аллели Asn – 20% ( $p_{Lys-Asn} < 0,001$ ). В связи с низкой частотой носительства генотипа Asn198Asn, мужчины с генотипами Lys198Asn и Asn198Asn в середине каждой группы были объединены как носители аллели Asn. При сравнении частот различных генотипов и аллелей гена ЭТ-1 в группе контроля и среди больных ЭГ разной тяжести, установлено, что достоверной разницы между данными показателями нет ( $p > 0,05$ ).

Итак, у пациентов группы контроля преобладает генотип Lys198Lys и аллель Lys гена ЭТ-1, что соответствует данным японских ученых при обследовании практически здоровых мужчин и женщин белой и японской расы [7], и американскому исследованию практически здоровых людей негроидной и белой расы [10]. У пациентов с ЭГ разной тяжести также превалирует генотип Lys198Lys и аллель Lys гена ЭТ-1, что соответствует некоторым исследованиям. Так, в работе Л. А. Минушкина и И. Г. Петровой, показано, что у больных мужского и женского пола как с осложненной, так и с неосложненной ЭГ - жителей Якутии, отмечена большая частота носительства генотипа Lys198Lys гена ЭТ-1 по сравнению с москвичами с ЭГ [3,5]. Однако, у мужчин казахов, результаты анализа частоты распределения генотипов полиморфизма гена ЭТ-1 показали, противоположные нашим данным результаты - генотип Lys198Lys у пациентов с ЭГ встречается в 1,3 раза реже, чем у практически здоровых лиц. Гетерозиготный вариант Lys198Asn одинаково часто встречается у больных с ЭГ и в контрольной группе. Генотип Asn198Asn был идентифицирован только у пациентов с ЭГ [8].

Соответственно, отношение шансов риска развития ЭГ осложненной ХСН (при проверке с помощью калькулятора «ген-эксперт»), при носительстве определенного генотипа ЭТ-1, не отличалось. То есть, вариант гена ЭТ-1 не ассоциируется с риском развития ЭГ осложненной ХСН (для генотипов общая модель наследования не достоверна  $\chi^2 = 0,01$ ;  $p = 1$ ; отношение шансов  $OR < 1$ , для аллелей мультипликативная модель наследования не достоверна  $\chi^2 = 0,00$ ,  $p = 0,98$ ; отношение шансов  $OR < 1$ ).

Плазменная концентрация ЭТ-1 у мужчин из группы контроля составляет  $1,79 \pm 0,08$  фмоль/мл. У пациентов с неосложненной ЭГ с ГЛЖ ( $12,59 \pm 0,22$  фмоль/мл) и у мужчин с ЭГ, осложненной ХСН ( $13,30 \pm 0,11$  фмоль/мл) уровень пептида достоверно выше, чем в группе контроля ( $p < 0,000001$ ), при этом наивысшая концентрация ЭТ-1 у пациентов с ЭГ осложненной ХСН (Рис.1).



**Рис. 1** - Плазменная концентрация ЭТ-1 у мужчин группы контроля, пациентов с неосложненной ЭГ и ГЛЖ и у пациентов с ЭГ, осложненной ХСН.

Примечание: разница показателей достоверна при сравнении с \* - группой контроля ( $p < 0,0000001$ ), # - пациентами с неосложненной ЭГ и ГЛЖ ( $p < 0,01$ )

Далее были определены уровни ЭТ-1 у мужчин - носителей разных генотипов гена ЭТ-1 в группе контроля и у пациентов с разной тяжестью ЭГ (Таблица 1). В группе контроля у носителей генотипа Lys198Lys плазменная концентрация ЭТ-1 достоверно ниже, чем уровень пептида у носителей аллели Asn. У пациентов с неосложненной ЭГ с ГЛЖ и с ЭГ осложненной ХСН наблюдается аналогичная ситуация - уровень ЭТ-1 у носителей аллели Asn достоверно выше, чем у носителей генотипа Lys198Lys гена ЭТ-1. При этом, у носителей генотипа Lys198Lys наивысший уровень пептида в плазме крови определяется у пациентов с ЭГ осложненной ХСН ( $p < 0,0000001$ ). У носителей аллели Asn концентрация ЭТ-1 у мужчин с ЭГ разной тяжести достоверно выше, чем в группе контроля ( $p < 0,0000001$ ), но различия в уровнях пептида между неосложненной ЭГ с ГЛЖ и ЭГ осложненной ХСН не найдено ( $p > 0,05$ ).

**Таблица 1** – Плазменная концентрация ЭТ-1 у мужчин группы контроля, пациентов с неосложненной ЭГ и ГЛЖ и у пациентов с ЭГ, осложненной ХСН при носительстве разных генотипов гена ЭТ-1

Группа	Носители генотипа Lys198Lys	Носители аллели Asn	p
Группа контроля (n=79)	1,41±0,05 (n=52) (1)	2,53±0,12 (n=27) (4)	$p_{4-1} < 0,0000001$
Мужчины с неосложненной ЭГ и ГЛЖ (n=62)	11,58±0,23 (n=35) (2)	13,90±0,22 (n=27) (5)	$p_{5-2} < 0,0000001$
Мужчины с ЭГ, осложненной ХСН (n=50)	12,89±0,08 (n=33) (3)	14,07±0,18 (n=17) (6)	$p_{6-3} < 0,00001$
p	$p_{2-1} < 0,0000001$ $p_{3-1} < 0,0000001$ $p_{3-2} < 0,0000001$	$p_{5-4} < 0,0000001$ $p_{6-4} < 0,0000001$ $p_{6-4} > 0,05$	

Роль носительства отдельных генотипов гена ЭТ-1, как возможного регулятора концентрации пептида в плазме крови при ЭГ изучено мало. Однако, Е.Н. Березикова продемонстрировала похожие результаты - у

мужчин и женщин жителей России, которые, являются носителями генотипа Asn198Asn, выявлен повышенный уровень ЭТ-1 в плазме крови по сравнению с носителями генотипа Lys198Lys. У носителей генотипа Lys198Asn уровень ЭТ-1 в плазме крови носил промежуточный характер, однако достоверных отличий от носителей генотипов Asn198Asn и Lys198Lys не обнаружено [2]. В то же время, С. Tanaka et. al. показали на культурах клеток отсутствие разницы в уровнях ЭТ-1 при полиморфизме Lys198Asn [9].

Полученные результаты позволили рассчитать граничные уровни ЭТ-1 для скрининговой диагностики ЭГ, осложненной ХСН у мужчин жителей Подольского региона Украины, которые можно применять при обследовании больших контингентов людей для выявления лиц, которым в дальнейшем нужно провести полное, в том числе, ультразвуковое исследование сердца и выяснения наличия ЭГ:

- уровень ЭТ-1  $\geq 7,52$  фмоль/мл (чувствительность - 92%, специфичность - 87,8%, безошибочность - 85,6%, ложноотрицательный ответ - 15%, ложноположительный ответ - 10,3%) позволяет диагностировать ЭГ, осложненную ХСН у лиц мужского пола, без учета варианта унаследованного генотипа гена ЭТ-1.

Доказано, что аллель Asn в генотипе гена ЭТ-1 ассоциирована с высокой концентрацией пептида в плазме крови, поэтому было решено провести расчет предельных уровней ЭТ-1 для носителей разных генотипов гена ЭТ-1:

- уровень ЭТ-1  $\geq 7,12$  фмоль/мл (чувствительность - 87,3%, специфичность - 89,2%, безошибочность - 82,8%, ложноотрицательный ответ - 9,5%, ложноположительный ответ - 12,3%) позволяет диагностировать ЭГ, осложненную ХСН у мужчин - носителей гомозиготного генотипа Lys198Lys гена ЭТ-1;

- уровень ЭТ-1  $\geq 8,24$  фмоль/мл (чувствительность - 95,12%, специфичность - 78,36%, безошибочность - 77%, ложноотрицательный ответ - 13,2%, ложноположительный ответ - 6,84%) позволяет диагностировать ЭГ, осложненную ХСН у пациентов мужского пола - носителей аллеля Asn гена ЭТ-1.

**Выводы.** 1. У мужчин из группы контроля жителей Подольского региона Украины 40-60 лет, и у больных с разной степенью тяжести ЭГ превалирует генотип Lys198Lys и аллель Lys гена ЭТ-1. 2. Носители аллеля Asn гена ЭТ-1 имеют достоверно выше уровни ЭТ-1 в плазме крови, чем носители генотипа Lys198Lys как среди представителей контрольной группы, так и у больных с ЭГ разной тяжести. 3. Рассчитаны граничные уровни ЭТ-1, которые можно использовать при скрининговом обследовании больших контингентов людей для ранней диагностики ЭГ, осложненной ХСН у носителей аллеля Asn и гомозиготного генотипа Lys198Lys гена ЭТ-

## Литература

1. Антамонов М. Ю. Расчёт пороговых (критических) уровней действующих учётных факторов для разного типа данных, полученных в гигиенических исследованиях / М.Ю. Антамонов // Гигиена населённых пунктов. – 2004. – №43. - С.573-579.
2. Березикова Е. Н. Клинико-генетические и нейрогормональные механизмы развития ишемического ремоделирования, апоптоза миокарда и сердечной недостаточности: инновационная стратегия персонализированной диагностики, профилактики и лечения: Автореф. дис. .... докт. мед. наук 14.01.05 / Е. Н. Березикова. – Томск, 2014. - 49 с.
3. Минушкина Л. О. Генетические факторы при гипертонической болезни: связь с особенностями течения, развитием осложнений, эффективностью терапии: Автореф. дис. .... докт. мед. наук 14.00.06 / Л. О. Минушкина. – Москва, 2008. – 48 с.
4. 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.
5. Петрова И. Р. Клинические и генетические особенности гипертонической болезни в якутской популяции: Автореф. дис. .... канд. мед. наук 14.00.06 / И. Р. Петрова. – Москва, 2004. – 45 с.
6. Хвороби системи кровообігу як медико – соціальна і суспільно – політична проблема. / під ред. Коваленка В.М., Корнацького В.М, – Київ: 2014. – 280 с.
7. Asai T. Endothelin-1 Gene Variant Associates With Blood Pressure in Obese Japanese Subjects / T. Asai, T. Ohkubo, T. Katsuya [et al.] // Hypertension. – 2001. - Vol. 38. - P. 1321-1324.
8. Dzholdasbekova A. U. The Association Between Polymorphism of Lys198Asn of Endothelin-1 Gene and Arterial Hypertension Risk in Kazakh People / A. U. Dzholdasbekova, A. E. Gaipov // Eur J Gen Med. – 2010. - Vol. 7(2). – P. 187-191.
9. Tanaka C. Evaluation of the Lys198Asn and 134delA Genetic Polymorphisms of the Endothelin-1 Gene / C. Tanaka, K. Kamide, S. Takiuchi [et al.] // Hypertens Res. - 2004 - Vol. 27. – P. 367–371.
10. Treiber F. A. Endothelin-1 Gene LYS198ASN Polymorphism and Blood Pressure Reactivity / F. A. Treiber, P. Barbeau, G. Harshfield [et al.] // Hypertension. – 2003. – Vol. 42. - P. 494-499.