

КЛІНІЧНА МЕДИЦИНА

© Пашкова Ю.П., Жебель В.М.
УДК: 616.12 – 008.331.1; 616.151

ЩОДО ГЕНЕТИЧНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ РІВНЯ МОЗКОВОГО НАТРІЙУРЕТИЧНОГО ПЕПТИДУ В ПЛАЗМІ КРОВІ У ЧОЛОВІКІВ З ЕСЕНЦІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ*

Пашкова Ю.П., Жебель В.М

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, м. Вінниця

В работе исследовались особенности организации гена мозгового натрийуретического пептида (Т-381С) и уровни плазменной концентрации МНП, СНП у мужчин, жителей Подольского региона Украины, больных с эссенциальной гипертензией II стадии и при ее осложнении хронической сердечной недостаточностью IIA стадии. Генотипирование гена МНП проводилось с помощью полимеразной цепной реакции. Уровни плазменной концентрации МНП и СНП определяли методом иммуноферментного анализа. 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 мозгового и сосудистого НУП в плазме крови, как среди представителей контрольной группы так и у больных с эссенциальной гипертензией, кроме того, наивысшие уровни пептидов определялись у пациентов с признаками ХСН IIA стадии.

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

Актуальність

Система натрійуретичних пептидів (НУП) - це група циркулюючих в крові гормонів, які є фізіологічними антагоністами ренін-ангіотензин-альдостеронової системи, протидіють підвищенню судинного тонуусу і гіпертрофії судинної стінки [17]. Визначено, що найбільшу специфічність та інформативність по відношенню до функції міокарда має мозковий натрійуретичний пептид (МНП). Він має важливе патофізіологічне значення в діагностиці серцевої недостатності, стратифікації ризику та контролі ефективності терапії хронічної серцевої недостатності (ХСН) [2,7]. Співробітниками кафедри внутрішньої медицини медичного факультету №2 ВНМУ імені М.І. Пирогова досліджено, що при есенціальній гіпертензії (ЕГ) рівень плазмової концентрації МНП прямо пропорційний розтягненню і перенавантаженню тиском лівого шлуночка (ЛШ) і чітко корелює з кінцево-діастолічним тиском в ЛШ та наявністю гіпертрофії ЛШ [4]. Подібні дослідження проводились Т. Ohtani (2012), Q. Lin (2012), N. Nair (2013) та співавторами в яких встановлено, що рівень плазмової концентрації МНП підвищується на ранніх етапах дисфункції ЛШ у хворих з ЕГ, прямо корелює з рівнем кінцевого діастолічного тиску у ЛШ, зростає у пацієнтів з гіпертрофією ЛШ і пов'язаний із вираженістю ХСН [14,11,13].

Натрійуретичний пептид типу С (СНП) – належить до класу вазодиліаторів, має значення не тільки в регуляції артеріального тиску, тонуусу судин а і роботі серця. Згідно сучасних уявлень, у попередженні виникнення ендотеліальної дисфункції – своєрідного підґрунтя розвитку ЕГ та ХСН на її тлі, має СНП, який є антагоністом найбільш потужного вазоконстриктора ендотеліну-1 [3]. На сьогодні відкритим залишається питання ролі генетичного впливу на рівні як МНП так і СНП в плазмі крові.

Доведено, що ген МНП розташований на першій хромосомі і складається з трьох екзонів і двох інтронів. Визначено і вивчено найбільш фізіологічно значимий поліморфізм гена МНП - заміна тиміну на цитозин в 381 положенні (Т-381С) [1,8,12,15]. В українській популяції такий поліморфізм раніше не досліджувався. З огляду на сучасні досягнення у вивченні патогенезу ХСН, можна припустити про вплив поліморфізму гена МНП на розвиток і прогресування ЕГ і ХСН на її тлі. Тому метою дослідження стало: покращити прогнозування та діагностику хронічної серцевої недостатності у чоловіків, мешканців Подільського регіону України з есенціальною гіпертензією, шляхом визначення рівнів плазмової концентрації мозкового та судинного натрійуретичних пептидів при носійстві різних варіантів гена МНП.

* Цитування при атестації кадрів: Пашкова Ю.П., Жебель В.М. Щодо генетичної регуляції рівня мозкового натрійуретичного пептиду в плазмі крові у чоловіків з есенціальною гіпертензією // Проблеми екології і медицини. – 2016. – Т. 20, № 1-2. – С. 3–6.

Матеріали і методи дослідження

Обстежено 191 чоловіків 40 - 60 років, які проживають на території Подільського регіону України. З них 62 пацієнта з ЕГ II стадії, 2-3 ступенів, СН 0-I функціональний клас (ФК) за NYHA, середній вік яких склав $49,19 \pm 0,66$ років (1-ша основна група) і 50 чоловіків з ЕГ, що ускладнена ХСН ІІА стадії (за класифікацією Стражеско-Василенка), II-III ФК (за NYHA) у віці $50,14 \pm 0,99$ років (2-га основна група). 79 практично здорових чоловіків, які за віковими характеристиками ($49,01 \pm 0,73$ років) достовірно не відрізнялись від хворих з ЕГ і склали групу контролю ($p > 0,05$). Діагноз ЕГ і ХСН встановлювали на підставі скарг хворих, даних анамнезу, фізикального обстеження, лабораторних та інструментальних методів дослідження відповідно до клінічних рекомендацій з артеріальної гіпертензії Європейського товариства гіпертензії (ESH) і Європейського товариства кардіологів (ESC), 2013 і керівних принципів ESC з діагностики та лікування ХСН, 2016. Усі хворі спостерігалися з грудня 2013 року по липень 2014 року.

Критеріями виключення з дослідження стали: симптоматична артеріальна гіпертензія, порушення функцій нирок і печінки, ішемічна хвороба серця, виникнення якої передувало ЕГ, ендокринні, гематологічні, пухлинні і аутоімунні порушення, хворі з ускладненнями ЕГ: інфаркт міокарда, гостре порушення мозкового кровообігу.

Генотипування гена МНП проведено із застосуванням полімеразної ланцюгової реакції після виділення геномної ДНК з лейкоцитів венозної крові. Це дослідження проводили спільно з НДІ генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава, керівник проф. І.П. Кайдашев). Концентрації МНП і СНП в плазмі крові визначались за допомогою імуноферментного методу на стриповому імуноферментному аналізаторі «Humanreader single» (Німеччина) при довжині хвилі 450 нм і диференціальним фільтром 630 нм. Для визначення плазмової концентрації МНП використовували стандартний набір фірми «Peninsula laboratories Inc.» (США), для визначення рівня СНП в плазмі крові використовували реактиви фірми «BIOMEDICA» (Німеччина). Математичну обробку проводили на персональному комп'ютері з використанням стандартного статистичного пакету STATISTICA 6,1. Була проведена перевірка розподілу частот поліморфних генів в популяції відповідно до закону рівноваги Харді-Вайнберга за допомогою калькулятора ген експерт для розрахунку ряду статистичних параметрів у дослідженнях "випадок-контроль", що використовують SNP (gen-exp.ru). Пороговий рівень МНП визначався способом запропонованим М.Ю. Антономовим в співавторстві з В.М. Жебелем та ін. [5,6].

Результати та їх обговорення

У представників групи контролю частота зустрічальності генотипу T381T гена МНП становить 31,65% (n=25), генотипу T381C - 49,37% (n=39), генотипу C381C - 18,90% (n=15) ($p_{cc-тг} > 0,05$; $p_{тг-cc} \leq 0,05$; $p_{тг-тг} > 0,05$). Частота розподілу алелей у пацієнтів чоловічої статі представників контрольної групи наступна - алелі T - 43,67%, алелі C - 56,33% ($p < 0,05$).

Встановлено, що у хворих з ЕГ II стадії і пацієнтів з ознаками ХСН ІІА стадії домінує генотип T381C і алелі C гена МНП ($p < 0,05$). При цьому, у чоловіків з ЕГ не спостерігалось достовірної відмінності в частоті носійства різних варіантів гена МНП при порівнянні з відповідними генотипами у осіб контрольної групи ($p > 0,05$) (Рис.1).

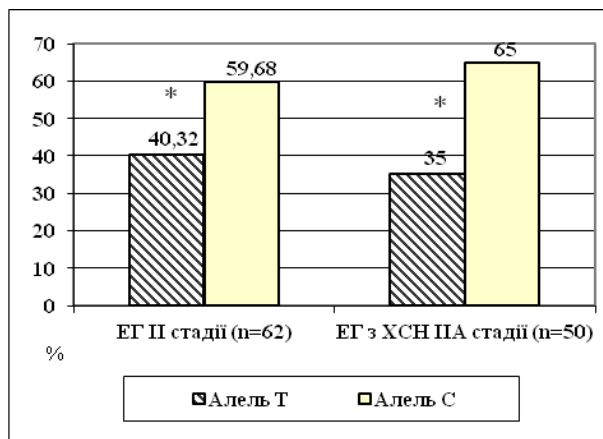
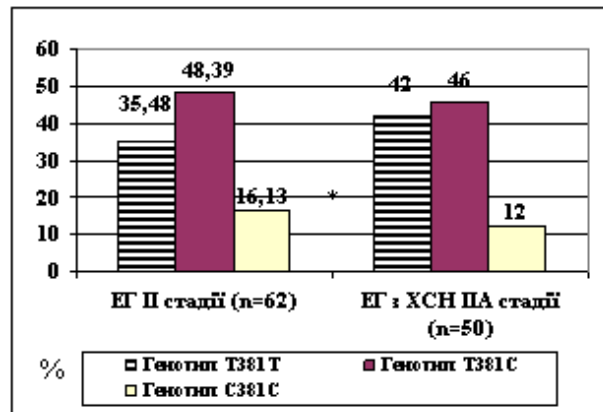


Рис. 1 Розподіл частот генотипів та алелей гена МНП серед чоловіків, мешканців Подільського регіону України хворих з ЕГ II стадії та пацієнтів з ЕГ, що ускладнена ХСН ІІА стадії, (%).

Примітка: різниця показників достовірна ($p < 0,05$) при порівнянні з: * - генотипом T381C/алелю C в межах групи.

Отримані результати в цілому збігаються з даними проведених досліджень серед жителів інших популяцій населення планети. Виявилось, що серед хворих з ЕГ жителів США [8], Російської Федерації Новосибірського регіону [1] та Німеччини [9] частіше виявляються носії генотипу T381C та алелі C гена МНП. Частоти поліморфних генотипів гена МНП у хворих з різних популяцій значимо не відрізняються.

В ході статистичного аналізу в зв'язку з малою чисельністю гомозигот C381C гена МНП - було об'єднано гетерозигот T381C гена МНП і гомозигот C381C в спільну групу - носіїв алелі C. У відповідних групах по носійству згаданих генотипів визначено рівні МНП і СНП в плазмі крові обстежених.

Досліджено, що у чоловіків, які мешкають в Подільському регіоні України і хворіють на ЕГ II стадії і при її ускладненні ХСН ІІА стадії, плазмова концентрація МНП є вірогідно більшою у носіїв алелі C (відповідно $93,49 \pm 0,94$ пг/мл та $207,50 \pm 5,70$ пг/мл), ніж у носіїв генотипу T381T гена МНП (відповідно $48,16 \pm 0,63$ пг/мл та $156,00 \pm 6,99$ пг/мл) ($p < 0,0001$). Встановлено також, що рівень пептиду у чоловіків з ЕГ, що ускладнена ХСН ІІА стадії достовірно вищий, ніж у пацієнтів з ЕГ II стадії і практично здорових осіб як у носіїв генотипу T381T так і алелі C гена МНП. Плазмова концентрація СНП у чоловіків з ЕГ II стадії та хворих з ознаками ХСН ІІА стадії у носіїв алелі C вірогідно більша, ніж у гомозигот T381T гена МНП ($p < 0,05$). При по-

рівнянні в межах кожного генотипу встановлено, що у чоловіків з ЕГ II стадії та пацієнтів з ЕГ, що ускладнена ХСН ІІА стадії рівні СНП в плазмі крові достовірно вищі, ніж у представників контрольної групи дослі-

дження ($p < 0,05$), однак не відрізняються у хворих з різною тяжкістю ЕГ, носіїв поліморфних генотипів гена МНП (Табл. 1).

Таблиця 1
Рівні МНП і СНП в плазмі крові у представників контрольної групи та хворих з ЕГ різної тяжкості, носіїв поліморфних генотипів гена МНП, (пг/мл; пмоль/мл)

Групи	Плазмовий рівень МНП, пг/мл	Плазмовий рівень СНП, пмоль/мл
1	2	3
Практично здорові чоловіки (n=79)		
Гомозиготи Т381Т	15,95±0,69 (n=25) (1)	2,26±0,56 (n=25) (1)
Носії алелі С	24,41±0,48 (n=54) (4)	2,67±0,54 (n=54) (4)
Група хворих з ЕГ ІІ стадії (n=62)		
Гомозиготи Т381Т	48,16±0,63 (n=22) (2)	4,53±0,07 (n=22) (2)
Носії алелі С	93,49±0,94 (n=40) (5)	5,74±0,78 (n=40) (5)
Група хворих з ЕГ, що ускладнена ХСН ІІА стадії (n=50)		
Гомозиготи Т381Т	156,00±6,99 (n=21) (3)	4,81±0,94 (n=21) (3)
Носії алелі С	207,50±5,70 (n=29) (6)	6,02±0,67 (n=29) (6)
p	p ₄₋₁ <0,05; p ₅₋₂ <0,0001; p ₆₋₃ <0,0001; p ₂₋₁ <0,0001; p ₃₋₁ <0,0001; p ₃₋₂ >0,05; p ₅₋₄ <0,0001; p ₆₋₄ <0,0001; p ₆₋₅ <0,0001	p ₄₋₁ <0,05; p ₅₋₂ <0,0001; p ₆₋₃ <0,0001; p ₂₋₁ <0,0001; p ₃₋₁ <0,0001; p ₃₋₂ >0,05; p ₅₋₄ <0,0001; p ₆₋₄ <0,0001; p ₆₋₅ >0,05

Отримані дані співзвучні з результатами проведених досліджень іноземними авторами. Серед американської популяції осіб чоловічої і жіночої статі, встановлений зв'язок поліморфізму гена МНП з наявністю і важкістю ЕГ та коронароспазмом. Окрім того, у носіїв генотипу С381С реєструвався достовірно вищий плазмовий рівень МНП, ніж у носіїв генотипу Т381Т [10]. Y. Takeishi та співавтори (2007) у дослідженні проведеному серед японської популяції встановили, що як у чоловіків так і у жінок з ХСН носіїв генотипу С381С гена МНП, визначався вірогідно більший рівень пептиду в плазмі крові у порівнянні з носіями генотипу Т381Т [16]. У дослідженні L.C. (2011) визначено, що успадкування генотипів гена МНП із наявністю алелі С – Т381С та С381С асоціювалося з високою концентрацією мозкового НУП в плазмі у осіб різної статі хворих з ЕГ [8]. Однак, подібних робіт із визначенням плазмових концентрацій СНП у носіїв поліморфних генотипів гена МНП в літературі не знайдено.

Результати дослідження вказують на необхідність визначення діапазонів концентрацій мозкового НУП в плазмі крові при носійстві певного варіанта генотипу гена МНП. Розраховані порогові рівні МНП для скринінгової діагностики ЕГ, що ускладнена ХСН ІІА стадії у чоловіків, мешканців Подільського регіону України 40-60 років, які можна застосовувати при обстеженні великих груп людей для виявлення осіб, яким в подальшому потрібно провести повне, в тому числі, ультразвукове дослідження серця і з'ясування причин стійкого підвищення артеріального тиску:

- рівень МНП $\geq 98,62$ пг/мл (чутливість – 86,00 %, специфічність – 85,40%, безпомилковість – 86,10%, хибнонегативна відповідь – 12,00%, хибнопозитивна відповідь – 17,00%) дозволяє діагностувати ЕГ, що ускладнена ХСН ІІА стадії у осіб чоловічої статі. На нашу думку цей межовий рівень можна застосовувати у скринінгових обстеженнях великих груп людей.

Однак слід враховувати можливість і генетичного впливу на концентрацію МНП в плазмі крові. Як показано вище, наявність алелі С в генотипі гена МНП асоційована з більшою концентрацією пептиду в плазмі крові, тому було вирішено провести розрахунок порогових рівнів МНП для носіїв алелі С (гетерозигот

Т381С та гомозигот С381С) і гомозигот Т381Т гена МНП:

- рівень МНП $\geq 110,74$ пг/мл (чутливість – 96,32%, специфічність – 79,24%, безпомилковість – 82,00%, хибнонегативна відповідь – 6,40%, хибнопозитивна відповідь – 15,21%) дозволяє діагностувати ЕГ, що ускладнена ХСН ІІА стадії у осіб чоловічої статі носіїв алелі С гена МНП;

- рівень МНП $\geq 79,68$ пг/мл (чутливість – 86,56%, специфічність – 75,20%, безпомилковість – 88,00%, хибнонегативна відповідь – 6,71%, хибнопозитивна відповідь – 4,53%) дозволяє діагностувати ЕГ, що ускладнена ХСН ІІА стадії у осіб чоловічої статі гомозигот Т381Т гена МНП.

Тобто, індивідуальну генетичну особливість у плазмовій концентрації МНП у вищезгаданих хворих слід враховувати при проведенні діагностично-експертних та наукових досліджень з використанням МНП в якості біомаркера.

Висновки

1. Носії алелі С гена МНП мають достовірно вищі рівні мозкового і судинного НУП в плазмі крові, як серед представників контрольної групи так і у хворих з ЕГ різної тяжкості порівняно з гомозиготами Т381Т гена МНП. При цьому, найвищі плазмові концентрації МНП і СНП реєструються у хворих з ЕГ, що ускладнена ХСН ІІА стадії.

2. Розраховані порогові рівні МНП можна використовувати при скринінговому обстеженні великих контингентів людей для ранньої діагностики ЕГ, ускладненою ХСН ІІА стадії, носіїв різних варіантів гена МНП.

Література

- 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.
- Воронков Л.Г. Шлях пацієнтів з хронічною серцевою недостатністю: якомога довший, якомога комфортніший / Л.Г. Воронков // Серцева недостатність. – 2014. – № 1. – С. 7–10.

3. Сакович О.О. Плазмові концентрації натрійуретичних пептидів та ендотеліну-1 у жінок післяменопаузального віку при різному перебігу гіпертонічної хвороби / О.О. Сакович, В.М. Жебель // Сімейна медицина. – 2011. - № 4. – С. 108-113.
4. 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.
5. 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., Сінег О.О.; заявник та власник Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова. - №u201108789; заявл. 12.07.11; опубл. 27.02.12, Бюл. №4.
6. 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.
7. 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). – P. 16-28.
8. 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.
9. 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.
10. Lanfear D.E. Genetic variation in the B-type natriuretic peptide pathway affects BNP levels / D.E. Lanfear, J.M. Stolker, S. Marsh [et al.] // Cardiovasc. Drugs Ther. - 2007. – Vol. 21. – P. 55– 62.
11. Lin Q. Copeptin in the assessment of acute lung injury and cardiogenic pulmonary edema / Q. Lin, F. Fu, H. Chen [et al.] // Respir. Med. - 2012. - Vol. 106(9). – P. 1268-1277.
12. 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.
13. Nair N. Circulating miRNA as novel markers for diastolic dysfunction / N. Nair, S. Kumar, E. Gongora [et al.] // Mol Cell Biochem. – 2013. - Vol. 376(1-2). – P. 33-40.
14. Ohtani T. Diastolic stiffness as assessed by diastolic wall strain is associated with adverse remodelling and poor outcomes in heart failure with preserved ejection fraction / T. Ohtani, S.F. Mohammed, K. Yamamoto [et al.] // Eur Heart J. – 2012. – Vol. 33. – P. 1742-1749.
15. 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.
16. Takeishi Y. Linkage disequilibrium analyses of natriuretic peptide precursor B locus reveal risk haplotype conferring high plasma BNP levels / Y. Takeishi, S. Toriyama, N. Takabatake [et al.] // Biochem Biophys Res Commun. – 2007. - Vol. 362. – P. 480-484.
17. Volpe M. Natriuretic peptides and cardio-renal disease / M. Volpe // International Journal of Cardiology. – 2014. – Vol. 176(3). – P. 630-639.

ENGLISH VERSION: ON THE GENETIC REGULATION OF BRAIN NATRIURETIC PEPTIDE LEVEL IN PLASMA OF MEN WITH ESSENTIAL HYPERTENSION*

Pashkova Iuliia P., Zhebel V.M.

National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, Ukraine

We investigated the organization of the brain natriuretic peptide gene (BNP T-381C) and plasma levels of BNP, CNP in male citizens of Podillia region in Ukraine with essential hypertension stage II and with its complications of chronic heart failure stage IIA. Genotyping of the BNP gene was conducted using polymerase chain reaction. The levels of BNP and CNP plasma concentrations were determined by ELISA. It was established that among practically healthy men and patients with essential hypertension of varying severity, the genotype T381C and C allele of the BNP gene dominated. The carriers of the C allele of the BNP gene have significantly higher plasma levels of brain and endothelial natriuretic peptides as against the control group and patients with essential hypertension. In addition, the highest levels of natriuretic peptides were determined in patients with symptoms of chronic heart failure stage IIA.

Keywords: essential hypertension, chronic heart failure, gene polymorphism of the brain natriuretic peptide, plasma concentration of brain natriuretic peptide, plasma concentration of endothelial natriuretic peptide..

Introduction

Natriuretic peptide system (NP) is a group of circulating hormones, which are physiological antagonists of the renin-angiotensin-aldosterone system, counteracting the increase of vascular tone and vascular wall hypertrophy [17]. It was determined that brain natriuretic peptide (BNP) possesses the greatest specificity and information capacity to myocardial function. It is significant pathophysiological importance in the diagnosis of heart failure, risk stratification and monitoring the effectiveness of

treatment of chronic heart failure (CHF) [2,7]. The scientists of the Department of Internal Medicine of Medical Faculty №2, National Pirogov Memorial Medical University, revealed that in patients with essential hypertension (EH), the level of plasma BNP concentration is directly proportional to tensile and pressure overload of the left ventricle (LV) and correlates with left ventricle end-diastolic pressure and the presence of left ventricular hypertrophy [4]. Similar studies by T. Ohtani (2012), Q. Lin (2012), N. Nair (2013) and colleagues found that the level

* To cite this English version: Yu.P. Pashkova, V.M. Zhebelyo On the genetic regulation of brain natriuretic peptide level in plasma of men with essential hypertension // Problemy ekologii ta medytsyny. - 2016. - Vol 20, № 1-2. - P. 6-9.