

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 IIIA 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 IIIA 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 тонусу 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 рі-

внем 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 вазодилататорів, має значення не тільки в регуляції артеріального тиску, тонусу 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 не-

* 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.

достатності 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.

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 «Humareader 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 Т381Т гена МНП становить 31,65% ($n=25$), генотипу Т381С - 49,37% ($n=39$), генотипу С381С - 18,90% ($n=15$) ($p_{CC-TT} > 0,05$; $p_{TC-CC} \leq 0,05$; $p_{TC-TT} > 0,05$). Частота розподілу алелей у пацієнтів чоловічої статі представників контрольної групи наступна - алелі Т - 43,67%, алелі С - 56,33% ($p < 0,05$).

Встановлено, що у хворих з ЕГ II стадії і пацієнтів з ознаками ХСН ІІА стадії домінує генотип Т381С і алель С 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).

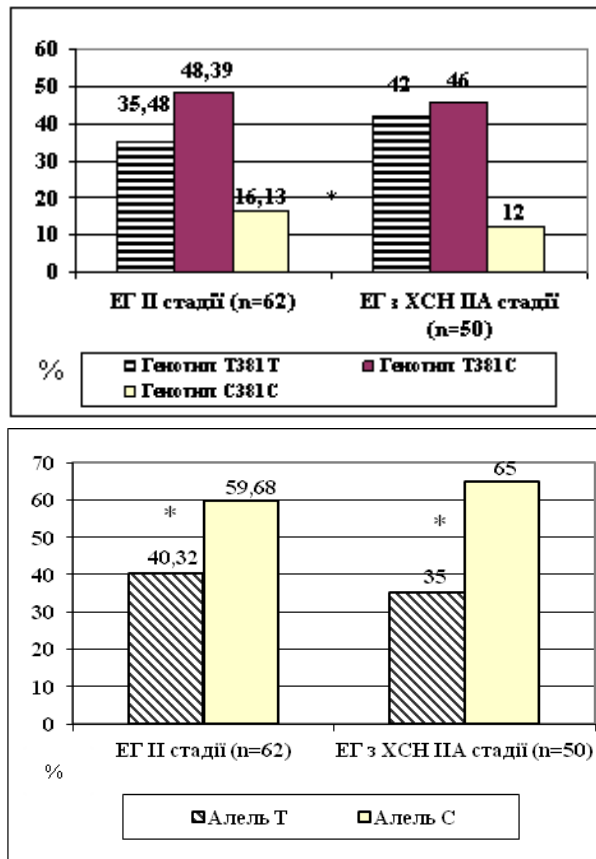


Рис. 1 Розподіл частот генотипів та алелей гена МНП серед чоловіків, мешканців Подільського регіону України хворих з ЕГ II стадії та пацієнтів з ЕГ, що ускладнена ХСН ІІА стадії, (%).

Примітка: різниця показників достовірна ($p < 0,05$) при порівнянні з: * - генотипом Т381С/алелю С 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 Т381С та алелі С 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 С381С гена МНП - було об'єднано гетерозигот Т381С гена МНП і гомозигот С381С в спільну групу - носіїв алелі С. 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 С (відповідно $93,49 \pm 0,94$ пг/мл та $207,50 \pm 5,70$ пг/мл), ніж у носіїв генотипу Т381Т 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 усклад-

нена ХСН ІІА стадії достовірно вищий, ніж у пацієнтів з ЕГ ІІ стадії і практично здорових осіб як у носіїв генотипу Т381Т так і алелі С гена МНП. Плазмова концентрація СНП у чоловіків з ЕГ ІІ стадії та хворих з ознаками ХСН ІІА стадії у носії алелі С вірогідно більша, ніж у гомозигот Т381Т гена МНП ($p < 0,05$). При порівнянні в межах кожного генотипу встановлено, що у

чоловіків з ЕГ ІІ стадії та пацієнтів з ЕГ, що ускладнена ХСН ІІА стадії рівні СНП в плазмі крові достовірно вищі, ніж у представників контрольної групи дослідження ($p < 0,05$), 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	$p_{4-1} < 0,05$; $p_{5-2} < 0,0001$; $p_{6-3} < 0,0001$; $p_{2-1} < 0,0001$; $p_{3-1} < 0,0001$; $p_{3-2} < 0,0001$; $p_{5-4} < 0,0001$; $p_{6-4} < 0,0001$; $p_{6-5} < 0,0001$	$p_{4-1} < 0,05$; $p_{5-2} < 0,0001$; $p_{6-3} < 0,0001$; $p_{2-1} < 0,0001$; $p_{3-1} < 0,0001$; $p_{3-2} > 0,05$; $p_{5-4} < 0,0001$; $p_{6-4} < 0,0001$; $p_{6-5} > 0,05$

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. Costello-Boerigter (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 пока-

зано 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

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. 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. Antamonov 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, Department of Internal Medicine of Medical Faculty №2 (56 Pirogova Str., Vinnytsya, Ukraine, 21018, Tel. (0432) 57 03 60, Fax: (0432) 67 01 91, E-mail: admission@vsmu.vinnica.ua).

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

* 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.

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 of plasma BNP concentration increases in the early stages of LV dysfunction in patients with EH, correlates with the level of left ventricular end-diastolic pressure, increases in patients with left ventricular hypertrophy, and is associated with the severity of heart failure [14,11,13].

C-type natriuretic peptide (CNP) belongs to the class of vasodilators, participates in the regulation of blood pressure, vascular tone, and heart work. According to modern concepts, CNP is an antagonist of the most powerful vasoconstrictor endothelin-1, also plays a role in preventing the occurrence of endothelial dysfunction, which is the base of EH and CHF on its background. [3]. It is still an open question as to the role of genetic influence on the plasma concentration of both BNP and CNP natriuretic peptides.

It is proved that BNP gene is situated on the first chromosome and consists of three exons and two introns. The most physiologically significant polymorphism of the gene BNP - replacing thymine for cytosine at position 381 (T-381C) have been defined and studied [1,8,12,15]. This polymorphism has not been studied in the Ukrainian population. Considering the modern achievements in the study of the pathogenesis of CHF, we can assume the influence polymorphism of the gene BNP in the development and progression of EH and CHF on its background. **The aim of this study was** to improve the prognosis and diagnosis of chronic heart failure in male citizens of Podillia region in Ukraine with essential hypertension by determining the plasma concentration levels of brain and endothelial natriuretic peptides in carriers of different BNP gene variants.

Methods

During the study we examined 191 men aged 40–60 living in Podillia region in Ukraine. Among them, 62 men from the first main group were diagnosed with EH stage II with LV hypertrophy and CHF, 0-I classes according to NYHA Classification, whose average age was 49.19±0.66, and 50 men from the second main group with EH complicated by CHF stage IIA, II-III classes according to NYHA Classification, whose average age was 50.14±0.99. 79 healthy men whose age (49.01±0.73) did not differ from patients with EH and constituted the control group (p>0.05). The diagnoses of EH and CHF were established on the basis of patients' complaints, anamnesis, physical examination, laboratory and instrumental methods of investigation according to the guideline of the European Society of Hypertension (ESH) and the European Society of Cardiology (ESC) in 2013 and 2016 ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and

chronic heart failure. All patients were observed from December 2013 to July 2014.

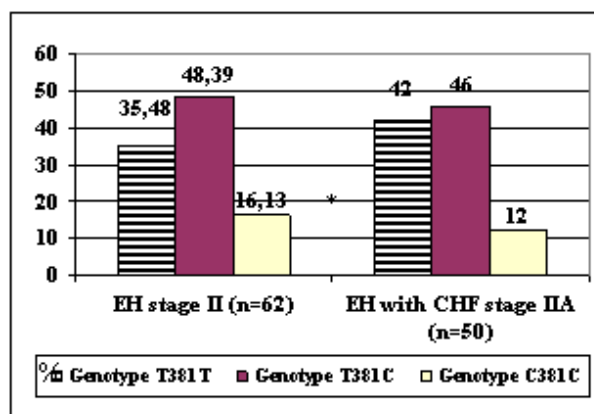
Exclusion criteria of the study were: secondary hypertension, renal and liver dysfunction, coronary heart disease the onset of which preceded EH, endocrine, hematological, neoplastic and autoimmune disorders, patients with EH complications: myocardial infarction, acute cerebrovascular accident.

Genotyping of the BNP gene was conducted using polymerase chain reaction after isolation of genomic DNA from white blood cells of venous blood. This study was carried out jointly with Research Institute for Genetic and Immunological Grounds of Pathology and Pharmacogenetics "Ukrainian Medical Stomatological Academy" (Poltava, headed by prof. I.P. Kaidashev). The plasma levels of BNP and CNP were determined by using ELISA method on enzyme-linked immunosorbent analyzer "Numareader single" (Germany) at 450 nm and differential filter 630 nm. To determine the BNP plasma concentration, a standard set of «Peninsula laboratories Inc.» (USA) was used. To determine the CNP plasma concentration, a standard set of «BIOMEDICA» (Germany) was used. The mathematical processing was performed on a personal computer using a standard statistical package STATISTICA 6.1. Checking the distribution of genes polymorphisms frequencies in the population according to Hardy-Weinberg equilibrium law was conducted using a calculator gene expert for estimation of the number of statistical parameters in the "case-control" studies which use SNP (*gen-exp.ru*). Boundary BNP level determined by the method proposed by M.U. Antononov in collaboration with V.M. Zhebel et al. [5,6].

Results and discussion.

It was established that in the male control group the frequency of the genotype T381T of the BNP gene was 31.65% (n=25), the genotype T381C – 49.37% (n=39) and the genotype C381C – 18.90% (n=15) (p_{CC-TT}>0.05; p_{TC-CC}> 0.05; p_{TC-TT}≤0.05). The frequency of the T allele in male from the control group was 43.67%, the C allele – 56.33% (p<0.05).

It was determined that in men with EH stage II and patients with symptoms of CHF stage IIA the genotype T381C and C allele of the BNP gene dominated, but there were no significant differences in frequency carriage of the genotype variants of the BNP gene as compared with those in the control group (p>0.05) (Figure 1).



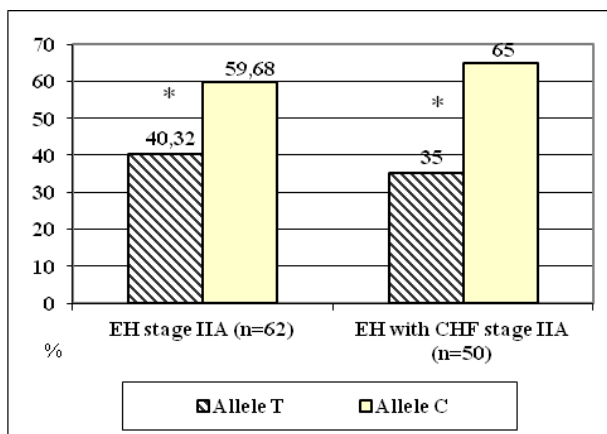


Fig. 1. The distribution of the BNP gene genotypes frequencies and alleles in male citizens of Podillia region with EH stage II and patients with EH complicated by CHF stage IIA, (%)

Note: The difference is significant ($p < 0.05$) when compared to: * - the T381C genotype/the C allele within each group.

The study results are broadly consistent with the data conducted by researches among people from other populations. It was found that carriers of the genotype T381C and C allele of the BNP gene dominate among the residents of the US with EH [8], the inhabitants of the Novosibirsk region of Russian Federation [1] and Germany [9]. The frequencies of polymorphic genotypes

of the BNP gene did not differ significantly in patients from different populations.

During the statistical analysis due to the small number of homozygotes C381C of the BNP gene we combined heterozygotes T381C and homozygotes C381C in a joint group – carriers of C allele. In groups of carriers of different genotypes the plasma levels of BNP, CNP were determined.

It has been proved that in men who live in Podillia region in Ukraine with EH stage II and its complications of CHF stage IIA, plasma concentration of BNP is significantly higher in carriers of C allele (93.49 ± 0.94 pg/ml and 207.50 ± 5.70 pg/mL respectively) than in carriers of the genotype T381T (48.16 ± 0.63 pg/ml and 156.00 ± 6.99 pg/ml respectively) ($p < 0.0001$). It has been established that the plasma BNP level in men with EH complicated by CHF stage IIA was significantly higher than in patients with EH stage II and healthy men as in the carriers of the genotype T381T of the BNP gene in carriers of C allele. The plasma CNP level in men with EH stage II and patients with symptoms of chronic heart failure stage IIA, which are carriers of C allele, was significantly higher than in the homozygotes T381T of the BNP gene ($p < 0.05$). When compared within each genotype, it was established that in men with EH stage II and patients with symptoms of chronic heart failure stage IIA the plasma levels of CNP were significantly higher than in the control group of the study ($p < 0.05$), but they not differ in patients with varying severity of EH, carriers of polymorphic genotypes of the BNP gene (Table 1).

Table 1
Plasma levels of BNP and CNP in representatives of the control group and patients with varying severity of EH, carriers of polymorphic genotypes of the BNP gene, (pg/ml; pmol/ml)

Groups	Plasma concentration of BNP, pg/ml	Plasma concentration of CNP, pmol/ml
1	2	3
Control group (n=79)		
Homozygotes T381T	15.95 ± 0.69 (n=25) (1)	2.26 ± 0.56 (n=25) (1)
Carriers of C allele	24.41 ± 0.48 (n=54) (4)	2.67 ± 0.54 (n=54) (4)
Patients with EH stage II (n=62)		
Homozygotes T381T	48.16 ± 0.63 (n=22) (2)	4.53 ± 0.07 (n=22) (2)
Carriers of C allele	93.49 ± 0.94 (n=40) (5)	5.74 ± 0.78 (n=40) (5)
Patients with EH complicated by CHF stage IIA (n=50)		
Homozygotes T381T	156.00 ± 6.99 (n=21) (3)	4.81 ± 0.94 (n=21) (3)
Carriers of C allele	207.50 ± 5.70 (n=29) (6)	6.02 ± 0.67 (n=29) (6)
p	$p_{4-1} < 0.05$; $p_{5-2} < 0.0001$; $p_{6-3} < 0.0001$; $p_{2-1} < 0.0001$; $p_{3-1} < 0.0001$; $p_{3-2} < 0.0001$; $p_{5-4} < 0.0001$; $p_{6-4} < 0.0001$; $p_{6-5} < 0.0001$	$p_{4-1} < 0.05$; $p_{5-2} < 0.0001$; $p_{6-3} < 0.0001$; $p_{2-1} < 0.0001$; $p_{3-1} < 0.0001$; $p_{3-2} > 0.05$; $p_{5-4} < 0.0001$; $p_{6-4} < 0.0001$; $p_{6-5} > 0.05$

The data obtained are consonant with the results of studies by foreign authors. Among patients of the US population, in male and female persons the relationship between polymorphism of the BNP and presence and severity of EH and coronary arterial spasm was established. In addition, carriers of the genotypes C381C have significantly higher plasma levels of BNP than carriers of the genotypes T381T [10]. Y. Takeishi et al. (2007) conducted a study among Japanese population and found that both male and female CHF carriers of the genotypes C381C revealed significantly higher plasma levels of BNP in comparison with carriers of the genotypes T381T [16]. L.C. Costello-Boerrigter (2011) determined that the inheritance of genotypes with the presence of C allele of the BNP gene – T381C, C381C was associated with the high plasma concentration of

brain NP in persons of different sex with EH [8]. However, the studies to determine plasma concentrations of CNP in carriers of polymorphic genotypes of the BNP gene have not been found in the scientific literature.

The research results indicate the need for determining the range of plasma concentrations of brain NP in carriers of certain variant genotype of the BNP gene. BNP levels for screening diagnosis of EH with CHF stage IIA were established in male citizens of Podillia region in Ukraine, aged 40-60 years that can be applied during examining of large groups of people to identify persons who need to undergo full examination including ultrasound of the heart and determine the causes of resistant high blood pressure:

- The BNP level ≥ 98.62 pg/ml (sensitivity – 86.00%, specificity – 85.40% correctness – 86.10%, false

negative answer – 12.00%, false positive answer – 17.00%) enables to diagnose EH with chronic heart failure stage IIA in males. We consider that this boundary level can be used in screening examination of large groups of people.

However, the BNP plasma concentration can be influenced by genetics. The results indicated that the presence of the C allele in the genotype of the BNP gene is associated with higher plasma concentrations of peptide so it was decided to calculate the BNP boundary levels for the C allele carriers (heterozygote genotype T381C and homozygote genotype C381C) and carriers of the homozygote genotype T381T:

- The BNP level ≥ 110.74 pg/ml (sensitivity – 96.32%, specificity – 79.24% correctness – 82.00%, false negative answer – 6.40%, false positive answer – 15.21%) enables to diagnose EH with chronic heart failure stage IIA in males the C allele carriers of the BNP gene;

- The BNP level ≥ 79.68 pg/ml (sensitivity – 86.56%, specificity – 75.20% correctness – 88.00%, false negative answer – 6.71%, false positive answer – 4.53%) enables to diagnose EH with chronic heart failure stage IIA in males with the homozygote genotype T381T of the BNP gene.

That is to say, the individual genetic features of BNP plasma concentration in the aforementioned patients should be considered during the medical-expert and scientific researches using BNP as a biomarker.

Conclusions:

1. The carriers of 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 varying severity of essential hypertension in comparison with carriers of the homozygote genotype T381T. In addition, the highest levels of natriuretic peptides were determined in patients with symptoms of chronic heart failure stage IIA.

2. Boundary levels of MNP can be used in screening examination of large groups of people for early diagnosis of EH complicated by chronic heart failure stage IIA, carriers of different BNP gene variants.

References:

- Berezikova E.N. Gene polymorphism of brain natriuretic peptide in patients with chronic heart failure / E.N. Berezikova, S.D. Mayanskaya, L.A. Garayev [et al.] // *Kazan Journal of Medicine*. – 2013. - Vol. 4. – P. 433-438.
- Voronkov L.G. The way patients with chronic heart failure as long as possible as you can comfortably / L.G. Voronkov // *Heart Failure*. - 2014. – Vol. 1. - P. 7-10.
- Sakovych O.O. Plasma concentrations of natriuretic peptides and endothelin-1 in postmenopausal women with essential hypertension of different severity / O.O. Sakovych, V.M. Zhebel // *Family Medicine*. - 2011. – Vol. 4. - P. 108-113.
- Starzhynska O.L. Polymorphism of the angiotensin II receptor gene in hypertensive patients of different stages as a factor of influence on the structure and function of the myocardium / V.M. Zhebel, O.L. Starzhynska, U.O. Hefter [et al.] // *Hypertension*. – 2009. – Vol. 1(3). - C. 24-29.
- Ukraine Patent 67486, the IPC G01N 33/48 (2006.01). Method of diagnosis of chronic heart failure in women of postmenopausal age with hypertension / V.M. Zhebel, O.O. Sakovych, G.V. Wilczynskyy, O.O. Singh; the applicant and the owner the Vinnitsa National Piragov Memorial Medical University. - Neu201108789; appl. 07/12/11; publ. 27.02.12, Bulletin of №4.
- Antamonov 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.
- 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.
- [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.
- [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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- [Volpe M.](#) Natriuretic peptides and cardio-renal disease / M. [Volpe](#) // [International Journal of Cardiology](#). – 2014. – Vol. 176(3). – P. 630–639.

Матеріал надійшов до редакції 22.02.2016