

УДК: 616.12-008.331.1: [616.127+616-005;616.12-008+577.112.6+575.1]-055.1(477.43/.44)

©**Палагнюк Г. О.** (аспірант кафедри внутрішньої медицини медичного факультету №2 Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова), **Пашкова Ю. П.** (аспірант кафедри внутрішньої медицини медичного факультету №2 Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова), **Жебель В. М.** (д.мед.н., професор, завідувач кафедри внутрішньої медицини медичного факультету №2 Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова)

УСПАДКУВАННЯ ПОЛІМОРФНИХ ГЕНОТИПІВ ГЕНА ЕНДОТЕЛІНА-1 ТА ПОКАЗНИКИ СЕРЦЕВОЇ І СИСТЕМНОЇ ГЕМОДИНАМІКИ У ЧОЛОВІКІВ З ЕССЕНЦІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ, МЕШКАНЦІВ ПОДІЛЛЯ

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, кафедра внутрішньої медицини медичного факультету №2 (вул. Пирогова, буд. 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

***Анотація.** У роботі вивчалися показники внутрішньосерцевої та системної гемодинаміки у чоловіків 40-60 років мешканців Подільського регіону України при носійстві різних генотипів гена ET-1. Обстежений 141 чоловік 40-60 років, що проживають на території Подільського регіону України. З них у 62 діагностували ГХ II ст., середній вік яких становив $49,19 \pm 0,66$ років та 79 чоловіків з групи контролю, які за віковими характеристиками ($49,01 \pm 0,73$ років) достовірно не відрізнялись від хворих на ГХ II ст. ($p > 0,05$). Генотипування гена ET-1 проведено із застосуванням полімеразної ланцюгової реакції. Концентрація ET-1 у плазмі крові визначалась за допомогою імуноферментного аналізу. Встановлено, що у чоловіків без серцево-судинної патології мешканців Подільського регіону України 40-60 років, і у хворих з ГХ II ст. домінує генотип Lys/Lys та алель Lys гена ET-1. У пацієнтів з ГХ II ст. усі показники структурно-функціонального стану міокарда, окрім розміру ЛП, VI, Tdec вірогідно більші у володарів алелі Asp, ніж в носіїв гомозигот Lys гена ET-1, що вказує на можливий несприятливий прогноз у таких хворих щодо розвитку хронічної серцевої недостатності. У*

осіб чоловічої статі з ГХ II ст. достовірно частіше зустрічається КГЛШ без залежності до носійства того чи іншого варіанту генотипу гена ET-1.

Анотація. В роботі изучались показателі внутрисердечної і системної гемодинаміки у мужчин 40-60 лет жителів Подольського регіона України при носительстве различных генотипов гена ET-1. Обследован 141 мужчина 40-60 лет, проживающие на территории Подольського регіона України. Из них у 62 диагностировали ГБ II ст., средний возраст которых составил $49,19 \pm 0,66$ лет и 79 мужчин из группы контроля, которые по возрастным характеристикам ($49,01 \pm 0,73$ лет) достоверно не отличались от больных ГБ II ст. ($p > 0,05$). Генотипирование гена ET-1 проведено с применением полимеразной цепной реакции. Концентрация ET-1 в плазме крови определялась с помощью иммуноферментного анализа. Установлено, что у мужчин без сердечно-сосудистой патологии, жителей Подольського регіона України 40-60 лет, и у больных с ГБ II ст. доминирует генотип Lys/Lys и аллель Lys гена ET-1. У пациентов с ГБ II ст. все показатели структурно-функционального состояния миокарда, кроме размера ЛП, УИ, Tдес достоверно больше у обладателей аллели Asn, чем у носителей гомозигот Lys гена ET-1, что указывает на возможный неблагоприятный прогноз у таких больных по развитию хронической сердечной недостаточности. У лиц мужского пола с ГБ II ст. достоверно чаще встречается КГЛЖ вне зависимости от носительства того или иного варианта генотипа гена ET-1.

Ключові слова: гіпертонічна хвороба, поліморфізм гена ендотеліна-1, серцева і системна гемодинаміка, плазмова концентрація ендотеліна-1

Вступ. Відомим є той факт, що гіпертонічна хвороба (ГХ) є мультифакторіальним захворюванням, одну із ключових ролей в якій відіграє генетична обумовленість. Згідно даних глобального геному людини, на сьогодні вже відомо 30 хромосомних локусів, що приймають участь в регуляції артеріального тиску (АТ), кількість яких в подальшому може збільшуватись. Одним з генів, що можуть впливати на АТ є ген ендотеліна-1 (ET-1). Як відомо, від концентрації ET-1 залежить рівень вазоконстрикції, скоротливість міокарда,

величина переднавантаження, післянавантаження тощо. Важливими властивостями ET-1 є його здатність “запускати” внутрішньоклітинні механізми, що призводять до посилення білкового синтезу і розвитку гіпертрофії лівого шлуночку (ГЛШ). Окрім цього, ET-1 сприяє синтезу колагену в серцевому м’язі і розвитку кардіофіброзу [13-15]. Все це провокує дослідження *Single nucleotide polymorphism (SNP)* гена ET-1, адже від цього фактору залежить експресія пептиду. В Україні та в світі існує велика кількість робіт щодо структурно-функціональних показників міокарда у пацієнтів з ГХ, однак досліджень щодо таких змін у осіб з поліморфізмом гена ET-1 практично не проводилось.

Мета. Дослідження показників внутрішньосерцевої та системної гемодинаміки у чоловіків 40-60 років мешканців Подільського регіону України при носійстві різних генотипів гена ET-1.

Матеріали і методи. Обстежений 141 чоловік 40-60 років, що проживають на території Подільського регіону України. З них у 62 діагностували ГХ II ст. з хронічною серцевою недостатністю (ХСН) не вище I ФК (за NYHA) зі збереженою систолічною функцією ЛШ, середній вік яких становив $49,19 \pm 0,66$ років та 79 чоловіків з групи контролю, які за віковими характеристиками ($49,01 \pm 0,73$ років) достовірно не відрізнялись від хворих на ГХ II ст. ($p > 0,05$). Діагноз ГХ встановлювали на підставі скарг хворих, даних анамнезу, фізикального обстеження хворих, лабораторних та інструментальних методів дослідження, згідно клінічних рекомендацій з артеріальної гіпертензії Європейського товариства гіпертензії (*ESH*) та Європейського товариства кардіологів (*ESC*) 2013 року та у відповідності з Уніфікованим клінічним протоколом медичної допомоги при артеріальній гіпертензії, затвердженим Наказом МОЗ України від 24.05.2012 року №384 [5,12]. Усі пацієнти під час обстеження знаходились на лікуванні у Вінницькому обласному спеціалізованому клінічному диспансері радіаційного захисту населення МОЗ України, Військово-медичному центрі Центрального регіону Військово-повітряних сил України та спостерігалися амбулаторно у період з грудня 2013 року по червень 2015 року.

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

Генотипування гена ET-1 проведено із застосуванням полімеразної ланцюгової реакції. Це дослідження проводили спільно з НДІ генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава, керівник проф. І.П. Кайдашев). Концентрація ET-1 у плазмі крові визначалась за допомогою імуноферментного аналізу на стриповому імуноферментному аналізаторі «*Humareader single*» (Німеччина). Для визначення плазмової концентрації ET-1 використовували стандартний набір фірми «*DRG*» (США). Для оцінки параметрів внутрішньосерцевої гемодинаміки застосовували ультразвукове обстеження серця, яке виконувалось на ехокардіографі «*РАДМІР ULTIMARA*» (м. Харків, Україна). Математичну обробку виконували на персональному комп'ютері з використанням стандартного статистичного пакету *STATISTICA 6,0*. Було проведено перевірку розподілу частот поліморфних генів у популяції відповідно до закону рівноваги Харді-Вайнберга за допомогою калькулятора ген експерт для розрахунку ряду статистичних параметрів у дослідженнях "випадок-контроль", що використовують одонуклеотидний поліморфізм.

Результати. Встановлено, що у чоловіків з групи контролю генотип Lys/Lys гена ET-1 зустрічається у 65,82% осіб (n=52), генотип Lys/Asn – 27,85% (n=22), а генотип Asn/Asn – 6,33% (n=5) ($p_{Lys/Asn-Lys/Lys} < 0,00001$; $p_{Asn/Asn-Lys/Lys} < 0,00001$; $p_{Asn/Asn-Lys/Asn} < 0,001$). У чоловіків з ГХ II ст. генотип Lys/Lys гена ET-1 визначається у 56,45% чоловіків (n=35), генотип Lys/Asn у 33,87% (n=21), генотип Asn/Asn у 9,68% (n=6) ($p_{Lys/Asn-Lys/Lys} < 0,01$; $p_{Asn/Asn-Lys/Lys} < 0,00001$; $p_{Asn/Asn-Lys/Asn} < 0,001$). У зв'язку з низькою частотою носійства генотипу Asn/Asn, чоловіки в кожній групі дослідження з генотипами Lys/Asn та Asn/Asn були об'єднані як носії алелі Asn. Частота зустрічаємості носіїв алелі Asn серед пацієнтів чоловічої статі контрольної

групи становить 34,18% (n=27) ($p_{\text{носії Asn-Lys/Lys}} < 0,00001$), у осіб з ГХ II ст. - 43,55% (n=27) ($p_{\text{носії Asn-Lys/Lys}} > 0,05$).

Наступним кроком стало визначення частоти зустрічаємості алелей гена ET-1. Встановлено, що в групі контролю алель Lys (79,75%) гена ET-1 виявляється достовірно частіше ніж алель Asn (20,25%) ($p < 0,00001$). Подібна ситуація у пацієнтів з ГХ II ст., де алель Lys зустрічається з частотою 73,39%, алель Asn - 26,61% ($p < 0,00001$).

При порівнянні частот різних генотипів і алелей гена ET-1 у групі контролю і серед хворих з ГХ II ст., суттєвих відмінностей не встановлено ($p > 0,05$).

Отримані дані у групі контролю співзвучні результатам японського дослідження практично здорових осіб білої та японської раси, де показано, що у чоловіків і жінок (група змішана по статі) достовірно частіше спостерігається генотип Lys/Lys гена ET-1 [10]. У практично здорових американців негроїдної та білої раси, з обтяженою по серцево-судинній патології спадковості, домінує алель Lys гена ET-1 [16]. У хворих на ГХ - жителів Якутії відзначена велика частота носійства генотипу Lys/Lys (74,3%) гена ET-1 у порівнянні з хворими ГХ - жителями Москви (46,1%) [3]. Однак у чоловіків, мешканців Казахстану, результати аналізу частоти розподілу генотипів поліморфізму гена ET-1 показали, що генотип Lys/Lys у пацієнтів з ГХ зустрічається в 1,3 разів рідше, ніж у практично здорових осіб. Гетерозиготний варіант Lys/Asn однаково часто зустрічається у хворих з ГХ та у контрольній групі. Генотип Asn/Asn був ідентифікований лише у пацієнтів з ГХ [11]. У осіб молодого віку чоловічої і жіночої статі особливо з надмірною вагою, що проживають в Самарі (Росія) мутація гена Lys198Asn приводить до підвищення АТ [2].

Далі був проаналізований стан внутрішньосерцевої та системної гемодинаміки в групі контролю та у пацієнтів з ГХ II ст. У пацієнтів з ГХ II ст. розміри порожнин серця – кінцевий діастолічний розмір (КДР), кінцевий систолічний розмір (КСР), та об'єми серця - індекс кінцевого діастолічного об'єму (іКДО) та індекс кінцевого систолічного об'єму (іКСО) достовірно вищі, ніж у осіб групи контролю ($p < 0,001$). Показник індексу маси міокарду ЛШ

(іММЛШ) виявився достовірно більшим у хворих з ГХ II ст. ніж у осіб без серцево-судинної патології ($138,30 \pm 4,07$ г/м² та $79,73 \pm 1,73$ г/м², відповідно, $p < 0,001$).

Величини показників трансмітрального кровотоку (ТМК) у осіб з ГХ II ст. достовірно відрізняються від аналогічних показників у чоловіків групи контролю. Величина співвідношення швидкостей раннього та пізнього діастолічного наповнення ЛШ (Е/А) вища, а час уповільнення раннього діастолічного наповнення ЛШ (Тdec) виявився достовірно меншим в чоловіків контрольної групи ($p < 0,001$). У пацієнтів із ГХ II ст. час ізоволюметричного розслаблення (IVRT) довший, ніж у осіб групи контролю ($p < 0,001$). Наступним кроком стало визначення типів ТМК у чоловіків з ГХ II ст. Згідно отриманих даних, у чоловіків з ГХ II ст. достовірно частіше зустрічається нормальний тип ТМК - 67,74% (n=42), ніж гіпертрофічний (29,03% (n=18) та псевдонормальний (3,23% (n=2) типи ТМК ($p < 0,001$).

Оцінка центральної гемодинаміки показала, що рівень систолічного АТ (САТ), діастолічного АТ (ДАТ) та частоти серцевих скорочень (ЧСС) очікувано вірогідно вищі у чоловіків з ГХ II ст., ніж у групі контролю. Слід відмітити, що у пацієнтів з ГХ II ст. серцевий індекс (СІ) та загальний периферичний судинний опір (ЗПСО) виявилися достовірно вищими ніж в пацієнтів контрольної групи ($p < 0,001$).

В цілому, отримані результати у обстежених осіб відповідають літературним даним [1,6,8,9].

Варіанти ГЛШ у чоловіків з ГХ II ст. показали наступний розподіл. Концентрична ГЛШ (КГЛШ) зустрічається вірогідно частіше (70,97% (n=44), ніж ексцентрична ГЛШ (ЕГЛШ) (29,03% (n=18), при $p < 0,001$. Геометричні зміни міокарда у пацієнтів з ГХ II ст. відповідали даним інших дослідників [1,4,6,7,9].

Як згадувалось вище, ЕТ-1 має вплив на структурно-функціональні показники серця. Тому, наступним етапом дослідження стало визначення показників внутрішньосерцевої і

системної гемодинаміки у осіб контрольної групи та у пацієнтів з ГХ II ст. при носійстві різних варіантів гена ET-1 (рис.1,2,3).

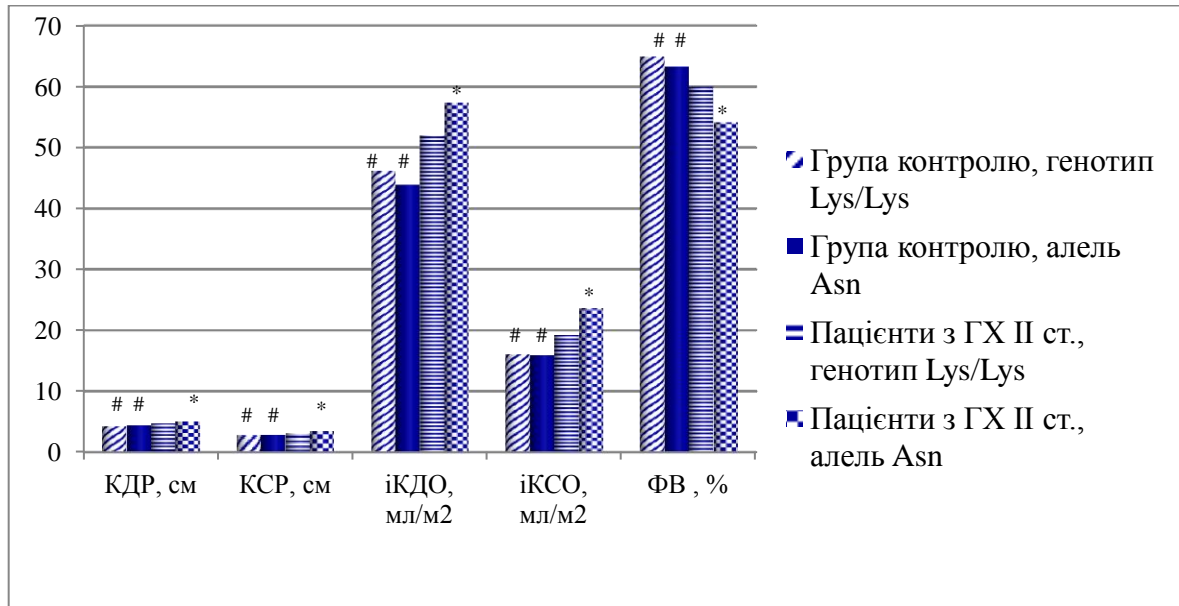


Рис. 1. Показники структурно-функціональних змін міокарда у чоловіків групи контролю та у пацієнтів ГХ II ст., при носійстві різних варіантів гена ET-1

Примітки: різниця показників достовірна при порівнянні з: * - генотипом Lys/Lys в межах кожної групи дослідження ($p < 0,001$), # - з пацієнтами з ГХ II ст. в межах кожного генотипу ($p < 0,001$)

Встановлено, що у чоловіків групи контролю, що є носіями алелі Asn достовірно вищі показники ЗПСО, ДАТ та ЧСС, ніж у носіїв генотипу Lys/Lys, різниці в інших показниках не виявлено. У чоловіків з ГХ II ст. усі показники внутрішньосерцевої та системної гемодинаміки вірогідно більші у володарів алелі Asn, ніж в носіїв гомозигот Lys гена ET-1.

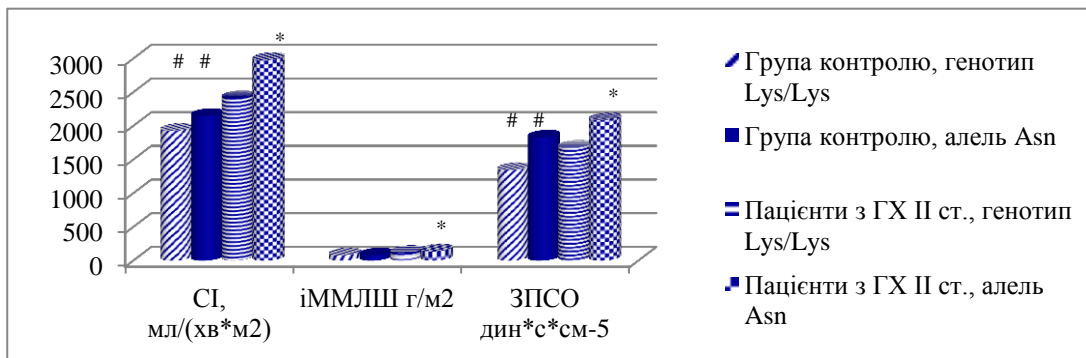


Рис. 2. Показники структурно-функціональних змін міокарда у чоловіків групи контролю та у пацієнтів ГХ II ст., при носійстві різних варіантів гена ET-1

Примітки: різниця показників достовірна при порівнянні з: * - генотипом Lys/Lys в межах кожної групи, # - з пацієнтами з ГХ II ст. в межах кожного генотипу ($p < 0,001$)

Порівнюючи показники гемодинаміки у носіїв як генотипу Lys/Lys так і алелі Asp між контрольною групою та пацієнтами з ГХ II ст. встановлено, що в групі останніх усі значення вищі, ніж в осіб без серцево-судинної патології. Отримані дані демонструють, що носійство алелі Asp у хворих з ГХ II ст. асоціюється з гіршими гемодинамічними показниками, ніж у носіїв генотипу Lys/Lys.

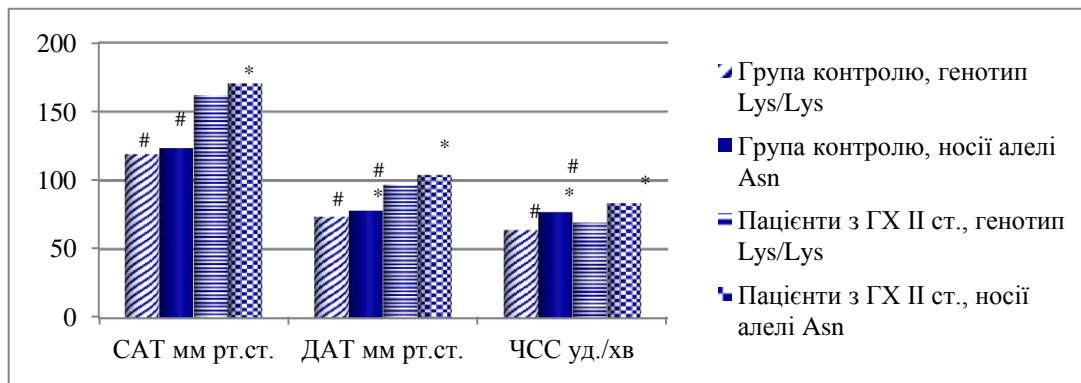


Рис. 3. Показники САТ, ДАТ, ЧСС у чоловіків групи контролю та у пацієнтів ГХ II ст.,

(%)

Примітки: різниця показників достовірна при порівнянні з: * - генотипом Lys/Lys в межах кожної групи ($p < 0,001$), # - з пацієнтами з ГХ II ст. в межах кожного генотипу ($p < 0,001$)

Дослідження частоти зустрічаємості варіантів ТМК у пацієнтів з ГХ II ст. при носійстві різних генотипів гена ET-1 виявило, що як у носіїв генотипу Lys/Lys так і алелі Asp вірогідно частіше зустрічається нормальний тип ТМК. Проте різниці між носіями різних генотипів гена ET-1 не виявлено (табл.1).

Таблиця 1

Типи трансмітрального кровотоку у чоловіків з ГХ II ст. при носійстві різних варіантів генотипів гена ET-1, (%)

Групи	Особи з нормальним типом ТМК		Особи з гіпертрофічним типом ТМК		Особи з псевдонормальним типом ТМК		p
	1.Носії геноти-пу Lys/Lys	2.Носії алелі Asn	3.Носії геноти-пу Lys/Lys	4.Носії алелі Asn	5.Носії геноти-пу Lys/Lys	6.Носії алелі Asn	
Хворі на ГХ II ст. (n=62)	62,86% (n=22)	74,07% (n=20)	34,29% (n=12)	22,22% (n=6)	2,86% (n=1)	3,7% (n=1)	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{4-3} > 0,05$ $p_{6-5} > 0,05$ $p_{3-1} < 0,01$ $p_{5-1} < 0,01$ $p_{4-2} < 0,01$ $p_{5-2} < 0,01$

Аналіз варіантів геометрії ЛШ у пацієнтів з ГХ II ст. при носійстві різних генотипів гена ET-1 показав наступне. У чоловіків з ГХ II ст., що є носіями усіх генотипів гена ET-1 КГЛШ зустрічається достовірно частіше, ніж ЕГЛШ ($p < 0,01$). Достовірної різниці у частоті зустрічаємості КГЛШ та ЕГЛШ між носіями різних генотипів гена ET-1 не виявлено (рис. 4).

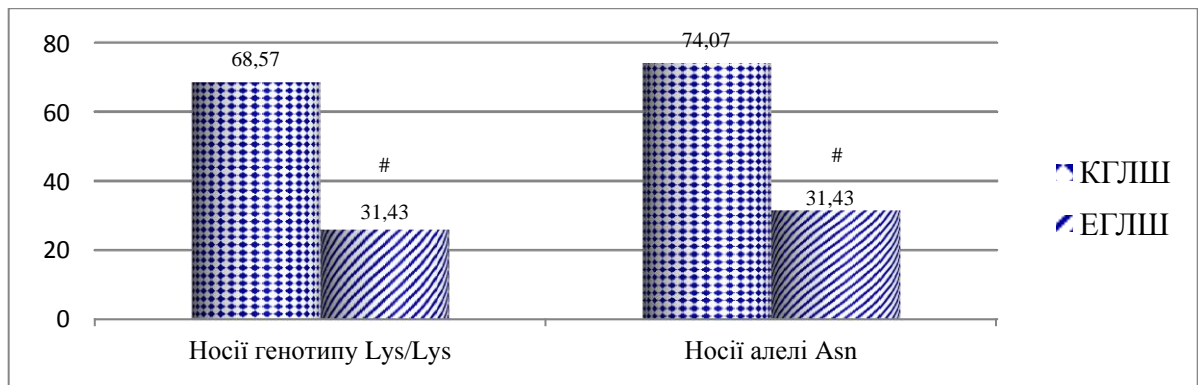


Рис. 4. Варіанти ГЛШ у чоловіків, хворих на ГХ II ст., при носійстві різних генотипів гена ET-1 (%)

Примітки: різниця показників достовірна при порівнянні з: # - КГЛШ

Подібні дослідження структурно-функціональних змін серця на тлі носійства поліморфних варіантів гена ET-1 в світі і в Україні раніше не проводились.

Висновки.

1. У чоловіків без серцево-судинної патології мешканців Подільського регіону України 40-60 років, і у хворих на ГХ II ст. домінує генотип Lys/Lys та алель Lys гена ET-1.
2. У пацієнтів з ГХ II ст. усі показники структурно-функціонального стану міокарда, окрім розміру ЛП, УІ, Tдес вірогідно більші у володарів алелі Asn, ніж в носіїв гомозигот Lys гена ET-1, що вказує на можливий несприятливий прогноз у таких хворих щодо розвитку хронічної серцевої недостатності.
3. У осіб чоловічої статі з ГХ II ст. достовірно частіше зустрічається концентрична ГЛШ без залежності до носійства того чи іншого варіанту генотипа гена ET-1.

Література

1. Багрій В.В. Неускладнена гіпертонічна хвороба у жінок, клініко - діагностичне значення поліморфізму гена ППАР-γ та плазмової концентрації судинорухових пептидів: Автореф. дис. канд. мед. наук 14.01.11 / В.В. Багрій. – Івано-Франківськ, 2015. – 20 с.
2. Зарубина Е. Г. Роль генетической предрасположенности в развитии сердечно-сосудистой патологии у лиц молодого возраста с нарушением режима труда и отдыха / Е. Г. Зарубина, Е. В. Асеева // Фундаментальные исследования. - 2013. - №11. – С. 51-55.

3. Минушкина Л. О. Генетические аспекты регуляции эндотелиальной функции при гипертензии / Л. О. Минушкина, Д. А. Затейщиков, Б. А. Сидоренко // Кардиология. – 2000. – № 3. – С. 68-76.
4. Мітченко О.І. Лептинорезистентність, профіль артеріального тиску та структурно-функціональні характеристики міокарда у пацієнтів із гіпертонічною хворобою та метаболічним синдромом / О.І. Мітченко, Романов В.Ю., Кулик О. Ю. та ін. // Український медичний часопис. – 2015. – 4 (108). – С. 91-94.
5. Нетяженко В.З. та ін. Уніфікований клінічний протокол медичної допомоги при артеріальній гіпертензії, затверджений Наказом МОЗ України від 24.05.2012 року №384.
6. Сакович О.О. Поліморфізм гена рецептора ангіотензину II першого типу та рівні натрійуретичних пептидів у жінок післяменопаузального віку з гіпертонічною хворобою: неускладненою та ускладненою хронічною серцевою недостатністю: Автореф. дис. канд. мед. наук 14.01.11 / О. О. Сакович. – Київ, 2012. – 20 с.
7. Сыволап В.Д. Ремоделирование левого желудочка у больных гипертонической болезнью и ишемической болезнью сердца в зависимости от вариабельности артериального давления / В.Д. Сыволап, Я.В. Земляной / Запорожский медицинский журнал. – 2011. - №6(13). – С. 61-64.
8. Татаркин А.А. Структурно-функциональные изменения сердца при гипертонической болезни у молодых пациентов / А.А. Татаркин / Вестник Дальневосточного отделения Российской академии наук. – 2007. - №6. - С. 99-104.
9. Франчук С. В. Успадкування гена рецептора ангіотензину II першого типу та плазмові рівні натрійуретичних пептидів у жінок з гіпертонічною хворобою, які перенесли інфаркт міокарда або мозковий інсульт, роль в прогнозуванні та діагностиці: автореф. дис. канд. мед. наук: 14.00.11 / Світлана Віталіївна Франчук. – Запоріжжя, 2013. – 22 с.
10. 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.

11. 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.
12. Chairperson G.M. 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension / G.M. Chairperson, R.F. Chairperson, K. Narkiewicz [et al.] // Почки. – 2013. - №4 (06). – С. 1-10.
13. Jambric Z. Periferal vascular endothelial function testing for the diagnosis of coronary artery disease / Z. Jambric, L. Venneri, A. Varga [et al.] // Amer. Heart J. – 2004. – Vol. 41. – P. 684-689.
14. Khare A. Evaluation of markers of endothelial damage in case of young myocardial infarction / A. Khare, S. Shetty, K. Ghosh // Atherosclerosis. – 2005. – Vol. 18. – P. 375-380.
15. Nystrom T., Nygren A., Sjöholm A. Persistent endothelial dysfunction is related to elevated C-reactive protein levels in type II diabetic patients after acute myocardial infarction // Clin. Science. – 2005. – Vol. 12. – P. 121-128.
16. 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