

© Жебель В.М., Пашкова Ю.П.

УДК: 577.112.6:575.113:612.12-055.1(477.44)

Жебель В.М., Пашкова Ю.П.

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

ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ ГЕНА МОЗКОВОГО НАТРІЙУРЕТИЧНОГО ПЕПТИДУ ТА РІВЕНЬ ЙОГО ПЛАЗМОВОЇ КОНЦЕНТРАЦІЇ У ЧОЛОВІКІВ, МЕШКАНЦІВ ПОДІЛЬСЬКОГО РЕГІОНУ

Резюме: У роботі вивчались особливості організації гена мозкового натрійуретичного пептиду (МНП Т-381С), рівень його плазмової концентрації, індивідуальні дерматогліфічні малюнки пальців рук та структурно – функціональні показники серця у практично здорових чоловіків (n=79) які є мешканцями Подільського регіону. Генотипування гена МНП проводилось за допомогою полімеразної ланцюгової реакції. Рівень плазмової концентрації МНП визначали методом імуноферментного аналізу. З'ясовано, що у практично здорових чоловіків мешканців Подільського регіону домінує генотип Т381С. Носії генотипів у складі яких є алель С мають вищий рівень МНП в плазмі крові. Носійство генотипу Т381Т гена МНП у практично здорових чоловіків навіть у рамках “ нормального діапазону ” супроводжується більш високими показниками артеріального тиску.

Ключові слова: поліморфізм гена мозкового натрійуретичного пептиду, артеріальний тиск.

Жебель В.М., Пашкова Ю.П.

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ГЕНА МОЗГОВОГО НАТРИЙУРЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА И УРОВЕНЬ ЕГО ПЛАЗМЕННОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ У МУЖЧИН, ЖИТЕЛЕЙ ПОДОЛЬСКОГО РЕГИОНА

Резюме: В работе изучались особенности организации гена мозгового натрийуретического пептида (МНП Т-381С), уровень его концентрации в плазме крови, индивидуальные дерматоглифические рисунки пальцев рук и структурно - функциональные показатели сердца у практически здоровых мужчин (n = 79), которые являются жителями Подольского региона. Генотипирование гена МНП проводилось с помощью полимеразной цепной реакции. Уровень плазменной концентрации МНП определяли методом иммуноферментного анализа. Выяснено, что у практически здоровых мужчин жителей Подольского региона доминирует генотип Т381С. Носители генотипов в составе которых присутствует аллель С имеют более высокий уровень МНП в плазме крови. Носительство генотипа Т381Т гена МНП у практически здоровых мужчин даже в рамках "нормального диапазона" сопровождается более высокими показателями артериального давления.

Ключевые слова: полиморфизм гена мозгового натрийуретического пептида, артериальное давление.

Zhebel V.M., Pashkova I.P.

STRUCTURAL FEATURES OF THE GENE BRAIN NATRIURETIC PEPTIDE AND LEVEL OF ITS PLASMA CONCENTRATION IN MEN RESIDENTS OF PODILLIA REGION

Summary: It was investigated the organization of the gene brain natriuretic peptide (BNP T-381C), the level of its plasma concentration, individual dermatoglyphic finger signs and structural and functional characteristics of the heart in healthy men (n=79) who are residents of Podillia region. Genotyping of the gene BNP was performed using polymerase chain reaction. BNP plasma level were determined by ELISA. It was found that in healthy men inhabitants Podillia region dominated genotype T381C. Carriers of genotypes which have a C allele have a higher level of plasma BNP. Carriers the genotype T381T of the gene BNP in healthy men even within the "normal range" is accompanied by higher rates of blood pressure.

Keywords: gene polymorphism of brain natriuretic peptide, blood pressure.

Вступ

Система натрійуретичних пептидів (НУП) - група циркулюючих в крові гормонів, що регулюють водно – сольовий гомеостаз та артеріальний тиск (АТ), в останні роки знаходиться під прискіпливою увагою дослідників. Насамперед це обумовлено важливістю ролі НУП в регуляції структурно-функціонального стану серцево-судинної системи, як в фізіологічних умовах, так і при формуванні серцево-судинної патології [Eurlings et al., 2012].

У 1988 році Т. Sudoh та співавт. [1990] із головного мозку морських свинок виділили мозковий натрійуретичний пептид (МНП). Також було встановлено, що основним місцем вироблення МНП являються кардіоміоцити шлуночків серця [Nishikimi et al., 2011]. МНП вважають серцевим гормоном, що регулює об'єм рідини в організмі і АТ, зменшує переднавантаження і постнавантаження на серце. Його дія призводить до збільшення швидкості клубочкової фільтрації, натрійурезу, блокаді ренін-ангіотензин-альдостеронової системи, придушення спонтанної та індукованої ангіотензином II спраги, гальмуванню вивільнення аргініну і вазопресину, зменшенню вазоконстрикторної дії ендотеліну-1, а також симпатичної іннервації судин.

Внаслідок цього відбувається зниження тиску в порожнинах серця, тону судин, загального периферичного опору і АТ [Елисеєв, 2003]. Крім класичних ефектів МНП чинить цитопротективну та антиішемічну дію має гальмівний вплив на розвиток гіпертрофії міокарда [Volpe, 2014].

У низці досліджень показано, що активація синтезу МНП відбувається у пацієнтів з дисфункцією лівого шлуночка (ЛШ), як з асимптомною, так і з клінічно вираженою серцевою недостатністю, незалежно від причини лівошлуночкової дисфункції [Zakeri, 2013]. Встановлено позитивний лінійний зв'язок між рівнем МНП та кінцево-діастолічним тиском у ЛШ [Roberts, 2015] і відповідно розвитком діастолічної дисфункції міокарда [Сакович, Жебель, 2011], що дозволяє розглядати МНП, як можливий маркер стану функції серця.

Згідно рекомендацій експертів Європейської асоціації кардіологів (ESC, 2012) та Американського коледжу кардіології/Американської асоціації серця (ACC/AHA, 2013) визначені порогові рівні МНП для виключення діагнозу гострої серцевої недостатності (МНП <100 пг/мл) та хронічної серцевої недостатності (МНП < 35 пг/мл), а також для оцінки ефективності лікування [McMurray, 2012]. Співробітниками кафедри внутрішньої медицини медичного факультету №2 ВНМУ імені М.І. Пирогова [Жебель, Старжинська, 2009] розрахований межовий рівень МНП, який можна використати як додатковий критерій діагностики діастолічної дисфункції, при умові збереження систолічної функції серця, що становить 50 пг/мл.

Однак відомо, що на концентрацію МНП в плазмі крові людини можуть впливати ожиріння, збільшення об'єму та тиску в порожнинах серця при якому плазмовий рівень МНП прямо корелює з ступенем гемодинамічної напруги та ішемічні фактори. Дослідників також зацікавив і генетичний компонент регуляції рівня цього пептиду [Бесага, 2009; Woodard 2008].

На сьогодні активно вивчаються як загальні поліморфізми так і гаплотип структури основних генів системи НУП [Chiu et al., 2006; Lanfear 2010]. Визначено та вивчено найбільш фізіологічно значимий поліморфізм гена МНП

- заміна тиміна на цитозин у положенні 381 (T-381C) також відомий як (SNP rs198389), однак дані про асоціацію поліморфізма гена МНП і його концентрацією в плазмі крові із розвитком ССЗ на сьогодні є не чисельними, а в українській популяції взагалі раніше не досліджувались.

Отже, дані літератури вказують на існування генетично запрограмованих розладів у серцево-судинній системі. Ймовірність їх фенотипічних проявів підсилюється дією певних зовнішніх факторів. Не виключено, що такі прогностичні ознаки як дерматогліфи, які формуються разом з нервовою та серцево-судинною системами починаючи вже з сьомдесятого дня внутрішньоутробного розвитку людини і залишаються сталими протягом всього життя, можуть відповідати успадкуванню певних генів, зокрема і НУП, що дозволить прогнозувати активність МНП в плазмі крові. Наявність таких процесів потребує раннього виявлення та своєчасного лікування. Тому **метою дослідження** стало - вивчити асоціацію різних варіантів гена МНП (поліморфний локус T-381C) та рівня даного пептиду в плазмі крові практично здорових осіб чоловічої статі.

Матеріали і методи

Під час проведення дослідження було обстежено 79 практично здорових чоловіка 40-60 років, що проживають на території Подільського регіону. Середній вік обстежуваних становив $57,06 \pm 0,50$ років. Усі хворі під час обстеження знаходились на лікуванні у Вінницькому обласному спеціалізованому клінічному диспансері радіаційного захисту населення МОЗ України та Військово-медичному центрі Центрального регіону Військово-повітряних сил України, а також спостерігались амбулаторно з грудня 2013 року по липень 2014 року. Усі чоловіки, що увійшли в групу дослідження на момент огляду скарг з боку серцево-судинної системи не пред'являли. Для визначення алелей поліморфної ділянки (T-381C) гена МНП використовувався метод полімеразної ланцюгової реакції. Генотипування гена МНП проводилось

спільно з НДІ генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фарматогенетики ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава, керівник професор Кайдашев І.П.). Для визначення алелей поліморфної ділянки (T-381C) гена МНП проводилось виділення геномної ДНК із лейкоцитів венозної крові. Концентрація МНП у плазмі крові визначалась за допомогою імуноферментного методу на стриповому імуноферментному аналізаторі «Humareader single» (Німеччина) при довжині хвилі 450 нм та диференційним фільтром 630 нм. Для визначення плазмової концентрації МНП використовували стандартний набір фірми «Peninsula laboratories Inc.» (США). 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 SNP (Государственный Научный Центр Российской Федерации "ГосНИИ генетика", gen-exp.ru). Для зчитування дерматогліфічних малюнків використовували сучасний сканер відбитку пальця (Futronic FS-50). Розшифровка дерматогліфічних малюнків проводилась за методикою Т.Д. Гладкової [Гладкова, 1966]. З якісних ознак пальцевої дерматогліфіки досліджувались наступні узори (А-дуга, U- ульнарна петля, R- радіальна петля, W- завиток), з кількісних - загальний гребінцевий рахунок (ЗГР). Оцінку параметрів системної та внутрішньосерцевої гемодинамики проводили за допомогою УЗД серця, яке виконувалось на ехокардіографі „Sim 5000 Plus”. Маса міокарда лівого шлуночка (ММЛШ) - розраховувалась за формулою Penn Convention, індекс маси міокарду лівого шлуночка (г/м^2) (іММЛШ). Реєстрація ЕКГ проводилась за загальноприйнятою методикою у 12 стандартних відведеннях. Вимірювання артеріального тиску здійснювали згідно рекомендаціям експертів ВООЗ. Математичну обробку виконували на персональному комп'ютері з використанням стандартного статистичного пакету STATISTICA 6,0.

Результати. Обговорення.

Встановлено, що у практично здорових чоловіків частота генотипу T381T гена МНП зустрічається у 18,9% (n=15), генотипу T381C у 49,37% (n=39), а генотипу C381C у 31,65% (n=25) обстежених ($p_{cc-тт} >0,05$; $p_{тс-сс} >0,05$; $p_{тс-тт} \leq 0,05$). Частота розподілу алелей у осіб чоловічої статі складає - алелі Т – 43,67%, алелі С – 56,33% ($p < 0,05$) (рис.1).

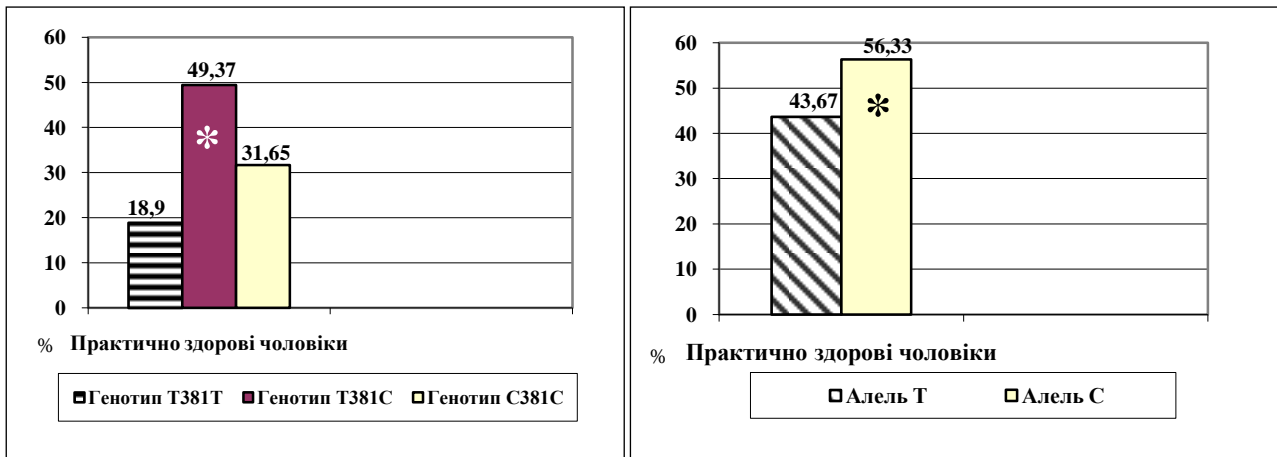


Рисунок 1. Розподіл частот генотипів та алелей гена МНП серед практично здорових чоловіків 40-60 років мешканців Подільського регіону, (%).

Примітка: різниця показників достовірна ($p \leq 0,05$) при порівнянні з: * - генотипом T381C/алеллю С в межах групи.

Отже, серед здорових чоловіків мешканців Подільського регіону найбільш частим варіантом генотипу МНП є T381C та переважає алель С. При порівнянні з даними літератури про розподіл частот генотипів гена МНП у практично здорових чоловіків з різних популяцій отримані наступні результати. У всіх представлених популяціях [Poręba, 2009; Costello-Boerrigter, 2011; Березикова, 2013; Lajer, 2007] достовірно домінує поліморфний генотип T381C гена МНП. Генотип C381C серед мешканців Подільського регіону визначався вірогідно частіше, ніж у американців, росіян чи мешканців Німеччини ($p < 0,05$). Генотип T381T частіше зустрічався у росіян (табл.1).

Таблиця 1. Розподіл частот генотипів МНП серед практично здорових чоловіків 40-60 років мешканців Подільського регіону у різних популяціях (%).

Генотип	1. T381T	2. T381C	3. C381C	p
1. Мешканці Подільського регіону (n=79).	18,9%	49,37%	31,65%	p ₂₋₁ , p ₃₋₁ , p ₃₋₂
2. Мешканці Польщі (n=36), Poręba R., 2009 р.	27%	58%	14%	p ₂₋₁ , p ₃₋₂
3. Мешканці США (n=1970), Costello-Boerrigter L.C., 2011 р.	28%	50%	17%	p ₂₋₁ , p ₃₋₁ , p ₃₋₂
4. Мешканці Росії (n=211), Березикова Е.Н., 2013 р.	39%	47%	14%	p ₂₋₁ , p ₃₋₁ , p ₃₋₂
5. Мешканці Німеччини (n=183), Lajer M., 2007 р.	30%	52%	20%	p ₂₋₁ , p ₃₋₁ , p ₃₋₂
p	p ₄₋₁ , p ₄₋₃ , p ₅₋₄	-	p ₃₋₁ , p ₄₋₁ , p ₅₋₁ , p ₅₋₄	

Примітка: різниця показників достовірна ($p \leq 0,05$).

Надалі був проведений аналіз прогностичних спадкових маркерів - дерматогліфів у практично здорових чоловіків, мешканців Подільського регіону. Визначено, що за сумою пальцевих узорів на правій руці, зустрічаємість окремих малюнків у порядку зменшення була такою: U>W>A>R (відповідно 199; 160; 18; 18 випадків), на лівій руці U>W>A>R (відповідно 231; 141; 18; 5 випадків). При чому на лівій руці, частота зустрічаємості U, W та R, була вірогідно вищою, ніж на правій руці ($p \leq 0,05$). Рівень ЗГР у практично здорових чоловіків склав $162,86 \pm 0,12$. В ході аналізу достовірного кореляційного зв'язку між зустрічаємістю окремих малюнків на пальцях обох рук та структурно-функціональними показниками міокарда при успадкуванні різних варіантів генотипів гена МНП у практично здорових чоловіків, мешканців Подільського регіону не було виявлено (дані кореляційного аналізу з використанням коефіцієнта Спірмена).

Рівень МНП в плазмі крові в групі практично здорових чоловіків складає $24,24 \pm 0,52$ пг/мл. Встановлена достовірна різниця концентрацій МНП між

носіями генотипів T381T, T381C та C381C ($p < 0,0001$), при цьому найвища концентрація МНП виявлена у носіїв генотипів C381C та T381C. Тобто, рівень МНП у практично здорових чоловіків достовірно більший у носіїв алелі С ($p < 0,001$). Отримані дані відповідають результатам досліджень інших авторів [Meirhaeghe, 2007; Costello-Boerrigter, 2011; Pfister, 2011] (табл.2).

Таблиця 2. Рівень пептиду в плазмі крові носіїв різних генотипів та алелей гена МНП у практично здорових чоловіків ($M \pm m$).

Генотип	Рівень МНП, пг/мл
T381T (n=15)	16,87±0,51
T381C (n=39)	24,01±0,35*
C381C (n=25)	28,90±0,33* ⁺
Алель	Рівень МНП, пг/мл
T (n=15)	16,87±0,51
C (n=64)	25,97±0,38 [#]

Примітки: різниця показників достовірна ($p < 0,0001$) при порівнянні з: * - генотипом T381T в межах групи; + - генотипом T381C в межах групи; # - алеллю Т в межах групи.

Як згадувалось вище активність системи НУП, у тому числі і особливості генотипу МНП, можуть впливати на функції серця і судин. З'ясовано, що у практично здорових чоловіків морфометричні показники міокарда та внутрішньосерцевої гемодинаміки знаходяться у межах загальноновизнаних нормативних величин для даної вікової групи і суттєво не відрізняються у осіб носіїв різних генотипів і алелей гена МНП (рис.2).

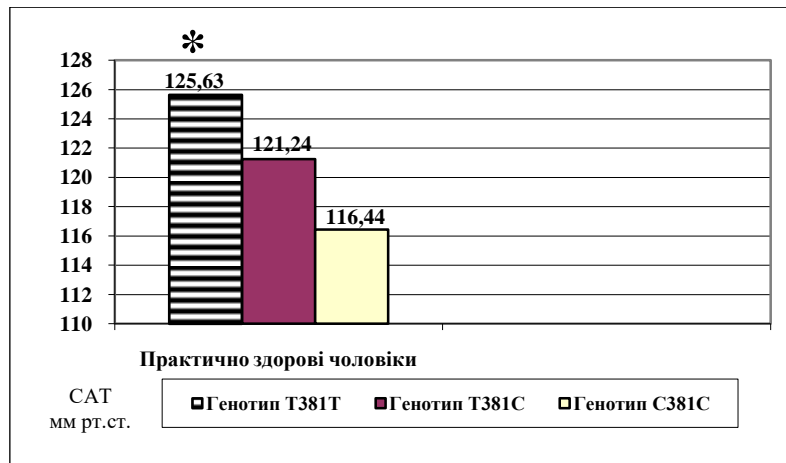


Рисунок. 2. Рівні систолічного артеріального тиску у практично здорових чоловіків 40-60 років мешканців Подільського регіону, (мм рт.ст.).

Примітка: різниця показників достовірна ($p \leq 0,05$) при порівнянні з: * - відмінності достовірні у порівнянні з носіями інших генотипів.

В ході дослідження визначено, що при наявності генотипу Т381Т реєструється найвищий середній показник систолічного артеріального тиску (САТ).

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Серед практично здорових чоловіків 40-60 років мешканців Подільського регіону генотип Т381С гена МНП переважає над С381С та Т381Т, а носійство алелі С переважає над алеллю Т ($p \leq 0,05$).
2. Встановлено, що рівень пептиду у практично здорових чоловіків 40-60 років мешканців Подільського регіону вірогідно більший у носіїв генотипу С381С ($28,90 \pm 0,33$ пг/мл) та Т381С ($24,01 \pm 0,35$ пг/мл) гена МНП, ніж у носіїв генотипу Т381Т ($16,87 \pm 0,51$ пг/мл) ($p < 0,0001$), тобто алель С гена МНП асоціюється з вищим рівнем пептиду в плазмі крові.
3. У практично здорових чоловіків мешканців Подільського регіону носіїв генотипу Т381Т реєструється найвищий середній показник систолічного артеріального тиску.

4. Не виявлено достовірного кореляційного зв'язку між зустрічаємістю окремих малюнків на пальцях обох рук та структурно-функціональними показниками міокарда при успадкуванні різних варіантів генотипів гена МНП у практично здорових чоловіків, мешканців Подільського регіону.

Перспективним є визначення діапазонів концентрацій пептиду в плазмі крові в залежності від успадкування певного варіанта генотипу гена МНП, що вимагає додаткових досліджень.

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.

Бесага Є.М. Визначення вмісту натрійуретичних пептидів в плазмі крові як діагностичний та прогностичний маркер при серцевій недостатності / Є.М. Бесага // Серцева недостатність. – 2009.- №1. – С. 12-17.

Гладкова Т.Д. Кожные узоры кисти и стопы обезьян и человека / Т.Д. Гладкова // Наука. – 1966. – С.151.

Елисеєв О.М. Натрийуретические пептиды. Эволюция знаний / О.М. Елисеєв // Тер. архив. — 2003. — №9. — С. 40–45.

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.

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.

Chiu C. Mutation analysis of the natriuretic peptide precursor B (NPPB) gene in patients with hypertrophic cardiomyopathy / C. Chiu, J. Ingles, J.M. Lind [et al.] // DNA Seq. – 2006. - Vol. 17(5). – P. 392–395.

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.

Eurlings L.W. Multimarker strategy for short-term risk assessment in patients with dyspnea in the emergency department: the MARKED –risk score / L.W. Eurlings, S. Sanders-van Wijk, R. Kimennade [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2012. – Vol. 60(17). – P. 1668-1677.

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 natriuretic peptide system and heart failure / D.E. Lanfear // Heart Fail Rev. – 2010. - Vol. 15(3). – P. 219–228.

McMurray J.J.V. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012 / J.J.V. McMurray, S. Adamopoulos, S.D. Anker [et al.] // Eur Heart J. – 2012. – Vol. 33(14). – P. 1787-1847.

Meirhaeghe A., Sandhu M.S., Carthy M.I. 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.

Nishikimi T. Current biochemistry, molecular biology, and clinical relevance of natriuretic peptides / T. Nishikimi, K. Kuwahara, K. Nakao [et al.] // Journal of Cardiology. – 2011. – Vol. 57. – P. 131—140.

- 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.
- Poręba R. SNP rs198389 (T-381 C) polymorphism in the B-type natriuretic peptide gene promoter in patients with atherosclerotic renovascular hypertension / R. Poręba, K. Początek, P. Gać // Pol Arch Med Wewn. - 2009. – Vol. 119(4). - P. 219 -224.
- Roberts E. The diagnostic accuracy of the natriuretic peptides in heart failure: systematic review and diagnostic meta-analysis in the acute care setting / E. Roberts, A.J. Ludman, K. Dworzynski [et al.] // BMJ. – 2015. – Vol. 350. – P. 1-16.
- Sudoh T. C-type natriuretic peptide: a new member of natriuretic peptide family identified in porcine brain / T. Sudoh , K. Kangawa, N. Minamino [et al.] // Biochem. Biophys. Res. Commun. –1990. – Vol. 168. – P. 863-870.
- Volpe M. Natriuretic peptides and cardio-renal disease / M. Volpe // International Journal of Cardiology. – 2014. – Vol. 176(3). – P. 630–639.
- Woodard G.E., Rosado J.A. Natriuretic peptides in vascular physiology and pathology // Int. Rev. Cell. Mol. Biol. — 2008. — Vol. 268. — P. 59–93.
- Zakeri R. Natriuretic Peptide: A New Heart Failure Biomarker / R. Zakeri, S.J. Sangaralingham, S.M. Sandberg [et al.] // JACC Heart Fail. – 2013. – Vol. 1(2). – P. 1-15.

Адреса для листування:

контактна адреса: 21020, м. Вінниця, вулиця Лесі Українки, дім № 65/2,

Пащкова Юлія Павлівна

телефон: +380677330108;

e-mail: pashkova_87@bk.ru

Кафедра внутрішньої медицини медичного факультету №2

Автори:

Жебель Вадим Миколайович, д.мед.н., професор, завідуючий кафедрою внутрішньої медицини медичного факультету №2 ВНМУ імені М.І. Пирогова;

Пашкова Юлія Павлівна, аспірант кафедри внутрішньої медицини медичного факультету №2 ВНМУ імені М.І. Пирогова, магістр медицини.