

УДК 616.12-008.46-036.12-071:616.379-008.64

Меденцева О.О.**ЗВ'ЯЗОК ПОЛІМОРФІЗМУ M235T ГЕНА АНГІОТЕНЗИНОГЕНА З РІВНЯМИ ST2, NTproBNP ТА ФНО-А В СИРОВАТЦІ КРОВІ У ХВОРИХ З ХРОНІЧНОЮ СЕРЦЕВОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ ТА ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПУ**

ДУ «Національний інститут терапії імені Л.Т. Малої НАМН України», м. Харків, Україна

Метою роботи було дослідити зв'язок поліморфізму M235T гена ATG з рівнями ST2, NTproBNP та ФНО- α в сироватці крові у хворих з ХСН зберФВ ЛШ та ЦД 2 типу. В дослідженні взяли участь 83 стабільних пацієнти з ХСН зберФВ ЛШ II-III ФК за класифікацією NYHA з ФВ \geq 45%. Середній вік хворих склав 62,9 \pm 8,1 років; середня тривалість ХСН склала 3,7 років. Серед досліджуваних було 32 (38,5%) чоловіки і 51 (61,5%) жінка. Визначали рівень ЗХС, ХС ЛПВЩ, ТГ колориметричним ензиматичним методом. Для визначення алелів та генотипів поліморфного гена ATG M235T проводили виділення геномної ДНК з венозної крові. Молекулярно-генетичне тестування ДНК виконували з використанням набору реагентів для виявлення поліморфізмів в геномі людини методом ПЛР з електрофоретичною схемою детекції результату "СНП-ЕКСПРЕС". Правильність розподілу частот генотипів визначали відповідністю до рівноваги Харді-Вайнберга. Рівень NTproBNP, ФНП- α , ST2 в сироватці крові визначали методом ІФА. Допплерокардіографічне дослідження проводили ультразвуковим методом на апараті Vivid3 (Японія) з механічним датчиком 3,5 МГц. Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням пакета статистичних програм SPSS v.19.0. Усі хворі з ХСН зберФВ ЛЖ були розподілені на групи: в 1-у групу входили пацієнти з ХСН зберФВ ЛШ та ЦД 2 типу (n=45), в 2-у групу - з ХСН зберФВ ЛШ без ЦД 2 типу (n=38), 3-я група контролю включала практично здорових осіб (n=29). У подальшому хворі були розподілені за генотипом на підгрупи. Пацієнти із супутнім ЦД 2 типу відрізнялись за показниками вуглеводного, ліпідного обміну, ІМТ та мали більш виражену діастолічну дисфункцію (p<0,5). Досліджувані групи не відрізнялися за розподілом поліморфних варіантів M235T гена ATG. У хворих 1-ї групи ММ генотип зустрічався у 20% випадків, МТ – у 47% та ТТ – у 33%. У пацієнтів 2-ї групи ММ – зустрічався у 24% випадків, МТ – у 50% і ТТ – у 26%. В групі контролю ММ генотип зустрічався у 14,8% випадків, МТ – у 55,6% та ТТ – у 29,6%. Виявлено, 1-а і 2-а групи хворих не відрізнялися за рівнем NTproBNP, ФНП- α та ST2. В групах за генотипом не було різниці в концентрації NTproBNP та ФНО- α між носіями Т та М алелів як в 1-й, так і в 2-й групі хворих. У хворих з ХСН зберФВ та ЦД 2 типу, які були носіями Т алеля, рівень ST2 достовірно перевищував цей показник у ММ гомозигот (p<0,5). Серед усіх пацієнтів з ХСН зберФВ ЛШ та генотипом ТТ+МТ переважає II стадія ГХ у порівнянні з хворими з генотипом ММ (p<0,05). У пацієнтів з ХСН зберФВ ЛШ і супутнім ЦД 2 типу, які були носіями МТ+ТТ генотипу, більш високі рівні ЗХС, ТГ та ХС ЛПДНЩ, ніж у хворих без ЦД (p<0,05). Пацієнти з ХСН зберФВ ЛШ і ЦД 2 типу та без нього мають однаковий розподіл генотипів поліморфізму ангіотензиногена M235T. Поліморфізм ATG M235T асоційований з рівнем маркера фіброзу ST2 у хворих з ХСН зберФВ ЛШ. Носійство алеля Т у пацієнтів з ХСН і ЦД 2 типу асоціюється з більш вираженими порушеннями ліпідного обміну, ніж у пацієнтів без ЦД 2 типу.

Ключові слова: хронічна серцева недостатність із збереженою фракцією викиду, цукровий діабет 2 типу, ST2, генетичний поліморфізм ATG M235T.

Робота виконувалась в рамках науково-дослідної роботи відділу клінічної фармакології та фармакогенетики неінфекційних захворювань ДУ «Національний інститут терапії імені Л.Т. Малої НАМН України» «Розробити методи профілактики несприятливого перебігу хронічної серцевої недостатності з урахуванням фармако-генетичного профілю хворих та супутньої патології», № держ. реєстрації 0116U003038.

Вступ

Хронічна серцева недостатність (ХСН) на сьогодні є важливою проблемою охорони здоров'я, інтерес до якої обумовлений високими показниками інвалідизації, летальності та значними витратами на лікування. За оцінками American Heart Association Statistics Committee та Stroke Statistics Subcommittee кількість хворих з ХСН складає 62 мільйонів пацієнтів у всьому світі, і ця цифра за прогнозами буде зростати [11]. Це найбільш поширений діагноз у пацієнтів віком від 65 років і більше, госпіталізованих в країнах з високим рівнем доходу. Незважаючи на певний прогрес у лікуванні, прогноз серцевої недостатності гірший, ніж у деяких видів раку [2].

В даний час йде пошук маркерів, здатних виявити ХСН на більш ранніх стадіях, оцінити про-

гноз для пацієнта, визначити тяжкість захворювання, ймовірні наслідки і відповідь на лікування. Одним з найбільш перспективних нових біомаркерів є маркер фіброзу ST2. Розчинний ST2 виділяється з кардіоміоцитів, фібробластів та ендотеліальних клітин після біомеханічного стресу та блокує кардіопротективний ефект інтерлейкіну-33, сприяючи розвитку ремоделювання і фіброзу міокарда. Доведено, що ST2 прогнозує смерть на протязі року у хворих із ХСН. Згідно з останніми даними, у пацієнтів із ХСН зі збереженою фракцією викиду (зберФВ) лівого шлуночка (ЛШ) ST2 корелює з наявністю та тяжкістю захворювання, що відбуваються при ХСН і може визначати відповідь на лікування цього синдрому [10,6].

Ренін-ангіотензин-альдостеронова система (РААС) є головним регулятором судинного тону-

су, гомеостазу натрію і води. Ренін юктагломерулярного апарату нирок запускає перетворення ангіотензиногена в неактивний ангіотензин I (АТ I), далі ангіотензин-перетворюючий фермент (АПФ) перетворює АТ I в активний судинозвужувальний ангіотензин II (АТ II). АТ II зв'язується з АТ 1 рецепторами, що призводить до вазоконстрикторних, проліферативних, прозапальних ефектів і надалі - до розвитку склеротичних змін тканин і судин, що в подальшому завершується розвитком ХСН [3]. Доведено, що АТ II стимулює збільшення синтезу білків міокарда, сприяючи збільшенню міоцитів, активації кардіального фіброзу і специфічних внутрішньоклітинних каскадів, які призводять до гіпертрофії міокарда. Крім того, АТ II активує судинний апоптоз клітин, сприяє ремоделюванню судин і ішемії кардіоміоцитів. Надлишок АТ II призводить до проліферації фібробластів, а потім і до дисбалансу в процесі синтезу і деградації колагену екстрацелюлярного матриксу з надмірним його накопиченням. В результаті всіх вищеописаних процесів підвищується жорсткість міокарда, що обумовлює розвиток фіброзу, який може визначити подальший перебіг захворювання.

Ангіотензиноген (АТГ) є компонентом РААС, який вивільняється з печінки і розщеплюється реніном. М235Т поліморфізм гена АТГ (амінокислотна заміна метіоніну на треонін в 235 кодоні) пов'язаний з підвищеними від 10% до 20% рівнями АТГ у 235ТТ гомозигот порівняно з гомозиготами 235ММ. На сьогоднішній день відомо, що поліморфізм М235Т пов'язаний зі схильністю до артеріальної гіпертензії, ішемічної хвороби серця і фібриляції передсердь. В деяких дослідженнях виявлений зв'язок між поліморфізмом М235Т і СН, в той час як інші автори такої асоціації не встановили, припускаючи, що вказаний поліморфізм може служити тільки в якості можливо фактора ризику розвитку СН [8].

Нещодавно був опублікований перший метааналіз баз даних Google Scholar, PubMed, Cochrane Library і Китайської національної інфраструктури знань щодо зв'язку між поліморфізмом М235Т і ризиком розвитку СН в період з січня 1990 р по квітень 2012р. Згідно з отриманими даними в цілому М235Т поліморфізм не був пов'язаний з ризиком СН серед населення. Коли ж всіх пацієнтів стратифікували за національністю, значно підвищений ризик СН спостерігався у представників білої європеїдної раси. І навпаки, ніяких асоціацій не було виявлено серед азіатів, що частково пояснюється можливою роллю етнічних відмінностей, генетичного фону і середовища, у якому вони жили, а частково - різним рівнем у них АТГ плазми. Попередні метааналізи показали, що плазмові рівні АТГ були достовірно вищими при порівнянні гомозигот (ТТ проти ММ) і гетерозигот (МТ проти ММ) у європеїдів, тоді як у азіатів рівні АТГ у носіїв Т алеля не відрізнялися в порівнянні з ММ генотипом [13].

Незважаючи на те, що деякі наукові дослідження виявили зв'язок між М235Т поліморфізмом гена АТГ і СН, це питання залишається відкритим. Sanderson та ін. були першими, хто вивчив асоціацію поліморфізму М235Т з СН в когорті китайських пацієнтів, проте результати дослідження показали, що М235Т поліморфізм не пов'язаний з виживанням або тяжкістю синдрому СН. У той же час в дослідженні, проведеному Pilbrow і співавт. серед пацієнтів Нової Зеландії, показали, що М235Т поліморфізм може нести прогностичну інформацію для оцінки довготривалого виживання у пацієнтів із СН [13]. Механізми впливу М235Т поліморфізму на ризик розвитку та перебіг ХСН потребують подальшого вивчення.

Мета роботи

Дослідити зв'язок поліморфізму М235Т гена АТГ з рівнями ST2, NTproBNP та ФНО-α в сироватці крові у хворих з ХСНзберФВ ЛШ та ЦД 2 типу.

Матеріали і методи дослідження

Після підписання інформованої згоди в дослідженні взяли участь 83 стабільних пацієнти з ХСНзберФВ ЛШ II-III ФК за класифікацією NYHA з ФВ≥45%. Хворі пройшли комплексне обстеження на базі ДУ «Національний інститут терапії ім. Л.Т. Малої НАМН України». Середній вік хворих склав 62,9±8,1 років; середня тривалість ХСН склала 3,7 років. Серед досліджуваних було 32 (38,5%) чоловіки і 51 (61,5%) жінка. У досліджувану групу увійшли переважно хворі з АГ - 59 пацієнтів (71%), в тому числі в поєднанні з ІХС - 73 пацієнти (88%) і 15 пацієнтів (18%) з ІМ в анамнезі.

Всім хворим проводилося стандартне клініко-лабораторне обстеження відповідно до діючих рекомендацій. Антропометричні обстеження проводилися за стандартними методами з розрахунком індексу маси тіла (ІМТ) за формулою:

$$\text{ІМТ} = (\text{маса тіла (кг)}) / (\text{зріст (м)})^2.$$

Додатково проводився тест шестихвилинної ходьби для оцінки фізичної толерантності та об'єктивізації функціонального статусу хворих з ХСН. Якість життя пацієнтів з ХСН визначали за допомогою Міннесотського опитувальника якості життя хворих з ХСН.

Для оцінки ліпідного обміну досліджували рівень загального холестерину (ХС), холестерину ліпопротеїдів високої щільності (ХС ЛПВЩ), тригліцеридів (ТГ) з використанням реактивів СORMAY (Польща) колориметричним ензиматичним методом на біохімічному аналізаторі Humalyser-2000. Вміст холестерину ліпопротеїдів низької щільності (ХС ЛПНЩ) обчислювали за формулою W.Т. Фрідевальд: ХС ЛПНЩ = 3ХС - (ХС ЛПВЩ + ТГ / 2,22).

З метою дослідження вуглеводного обміну визначали глюкозу крові глюкозооксидантним методом за допомогою реактивів «СпайнЛаб», НВА1 - імуноферментним методом з викорис-

танням реактивів Human (Німеччина), в сироватці крові методом ІФА визначали вміст інсуліну Інсулін ELISA (DRG Instruments GmbH, Німеччина). Для визначення інсулінорезистентності розраховували індекс HOMA (Гомеостаз Модель Assesment Інсулін Resistanse) за формулою:

$HOMA = \frac{\text{глюкоза крові натще (ммоль / л)} \times \text{інсулін крові натще (мкЕД / л)}}{22,5}$

Для визначення алелей та генотипів поліморфного гена АТГ М235Т проводили виділення геномної ДНК з венозної крові. Молекулярно-генетичне тестування ДНК виконували з використанням набору реагентів для виявлення поліморфізмів в геномі людини методом ПЛР з електрофоретичною схемою детекції результату "СНП-ЕКСПРЕС" з подальшим аналізом довжини рестрикційних фрагментів на ампліфікаторі «Терцик». Правильність розподілу частот генотипів визначали відповідістю до рівноваги Харді-Вайнберга.

Рівень NTproBNP у сироватці крові визначали методом імуноферментного аналізу (ІФА) за допомогою реактивів «NTproBNP-БЕСТ-ІФА» (Росія). ФНП-α в сироватці крові визначали методом ІФА за допомогою реактивів «альфа-ФНП-ІФА-БЕСТ» (Росія). ST2 в сироватці крові визначали методом ІФА за допомогою реактивів PresageST2 Critical Diagnostics (США). Дослідження проводилися у лабораторії біохімічних і імуноферментних методів дослідження з клінічною морфологією ДУ «Національний інститут терапії ім. Л.Т. Малої НАМН України».

Допплерокардіографічне дослідження проводили ультразвуковим методом на апараті Vivid3 (Японія) з механічним датчиком 3,5 МГц. Реєстрація зображення здійснювалася в М- і В-режимах. Визначали лінійні розміри порожнини серця - передньо-задній розмір лівого передсердя (ЛП), правого передсердя (ПП) і правого шлуночка (ПШ), кінцево-систолический і кінцево-діастолічний розміри лівого шлуночка (КСР, КДР ЛШ). Для оцінки систолічної функції ЛШ визначали ФВ. Діастолічну функцію (ДФ) ЛШ оцінювалася шляхом визначення співвідношення швидкості раннього діастолічного наповнення ЛШ до швидкості потоку в систолу (Е/А), часу ізовольмічного розслаблення (IRVT) і часу уповільнення трансмітрального кровотоку раннього діастолічного наповнення (ДсТ).

Пацієнти отримували стандартну терапію згідно з національними рекомендаціями.

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням пакета статистичних програм SPSS v.19.0.

Результати дослідження та їх обговорення

Усі хворі з ХСНзберФВ ЛЖ були розподілені на групи: в 1-у групу входили пацієнти з ХСНзберФВ ЛШ та ЦД 2 типу (n=45), в 2-у групу - з ХСНзберФВ ЛШ без ЦД 2 типу (n=38), 3-я група контролю включала практично здорових осіб (n=29). У подальшому хворі були розподі-

лені за генотипом на підгрупи.

Згідно з отриманими даними пацієнти із супутнім ЦД 2 типу відрізнялись за показниками вуглеводного, ліпідного обміну, ІМТ та мали більш виражену діастолічну дисфункцію (p<0,5) (табл.)

Відомо, що поліморфізм 235Т гена АТГ зустрічається в європейській популяції з частотою 15-20% [0]. Досліджувані нами групи достовірно не відрізнялися за розподілом поліморфних варіантів М235Т гена АТГ. У хворих 1-ї групи ММ генотип зустрічався у 20% випадків, МТ генотип – у 47% та ТТ генотип – у 33%. У пацієнтів 2-ї групи ММ генотип – зустрічався у 24% випадків, МТ генотип – у 50% і ТТ генотип – у 26%. В групі контролю ММ генотип зустрічався у 14,8% випадків, МТ генотип – у 55,6% та ТТ генотип – у 29,6% (рис. 1).

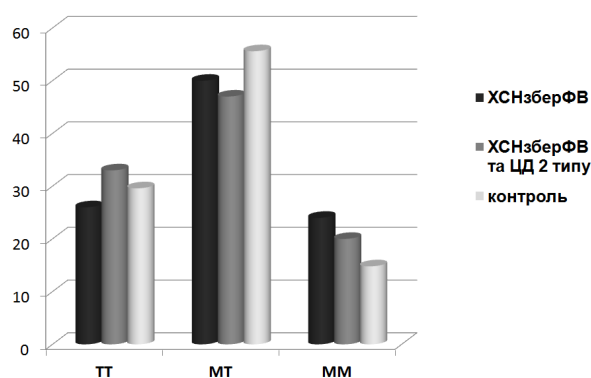


Рис. 1. Діаграма розподілу генотипів у хворих з ХСНзберФВ на тлі ЦД 2 типу та без нього.

Аналіз вмісту біомаркерів в крові виявив, що 1-а і 2-а групи хворих не відрізнялися за рівнем NTproBNP – 144,3 пг/мл [141,3:162,0] та 144,8 [141,3:155,1] відповідно; вміст ФНО-α у 1-й та 2-й групах склав 5,4 пг/мл [3,9:6,7] та 6,4 пг/мл [4,5:7,3], відповідно, що також не досягало критерію достовірності. При порівнянні 1-ї та 2-ї груп за показником рівня ST2 відмінностей не було виявлено: у пацієнтів з ХСНзберФВ ЛШ та ЦД 2 типу рівень ST2 склав 20,5 нг/мл [18,3:24,6], в групі ХСНзберФВ ЛШ без ЦД 2 типу – 19,6 пг/мл [18,5: 29,3]. Отримані нами результати не підтверджуються даними інших досліджень, які свідчать про більш високі рівні ST2 в крові у хворих на ЦД 2 типу в порівнянні з пацієнтами з предіабетом та без ЦД 2 типу [7]. Також відомо про кореляції рівня ST2 з маркерами ЦД - індексом інсулінорезистентності, глюкозою натще, інсуліном [9]. Асоціація рівня ST2 з ЦД 2 типу у пацієнтів з ХСН були виявлені в дослідженні Framingham Heart Study [14].

З урахуванням відомостей про те, що носійство алелю Т гену АТГ передбачає більш високий рівень ангіотензиногену в крові як у гомозигот, так і у гетерозигот, та асоційовано з артеріальною гіпертензією, ІХС та фібриляцією передсердь [13], ми розділили хворих на 2 групи за генотипом – ТТ+МТ та ММ.

Таблиця
Характеристика досліджуваних груп

Показник	ХСНзберФВ (n=38)			ХСНзберФВ і ЦД 2 типу (n=45)		
	Me	25%	75%	Me	25%	75%
Вік, роки	65,0	54,0	72,0	60,5	53,0	67,0
САТ, мм рт ст	160,0	140,0	170,0	165,0	150,0	180,0
ДАТ, мм рт ст	100,0	90,0	100,0	100,0	90,0	100,0
ЧСС, уд/хв	68	64	80	74	66	84
ІМТ, кг/м ²	29,1♦	27,2	31,2	32,7♦	30,1	35,5
6-хвилинний тест, м	309,0	226,7	381,3	325,0	236,0	387,5
Мінесотський опитувальник, бали	57,5	48,0	67,3	68,0	57,5	76,0
НЬА1, %	6,01	5,5	6,9	6,42	5,8	7,3
Інсулін, мкЕд/мл	18,1♦	11,9	25,7	34,8♦	18,2	49,3
Глюкоза, ммоль/л	4,9♦	4,6	5,6	6,8♦	5,8	8,4
НОМА ІR	4,0♦	2,7	5,2	9,5♦	5,1	19,2
ЗХС, ммоль/л	5,3♦	4,4	6,2	6,2♦	5,3	6,9
ХС ЛПНЩ, ммоль/л	3,61	2,4	4,3	3,52	3,2	4,3
ХС ЛПВЩ, ммоль/л	1,4	1,2	1,5	1,3	1,1	1,5
ХС ЛПДНЩ, ммоль/л	0,8	0,5	0,9	0,9	0,6	1,3
ТГ, ммоль/л	1,7♦	1,3	2	2,1♦	1,4	2,8
NTproBNP, пг/мл	144,81	141,4	155,2	144,82	141,4	162,1
ST2 нг/мл	20,5	18,3	24,6	19,6	18,5	29,3
ФНО-α, пг/мл	6,4	4,5	7,3	5,5	4	6,8
КДР, см	4,9	4,8	5,2	4,9	4,9	5,2
КСР, см	3,3	3,2	3,6	3,4	3,2	3,6
ФВ, %	58,0	56,0	62,0	60,0	57,0	63,0
ЛП, см	3,6	3,5	4,0	3,7	3,5	4,1
ПЖ, см	2,4	2,2	2,6	2,5	2,4	2,6
ПП, см	3,4	3,3	3,6	3,5	3,3	3,6
Е/А, ед.	1,0♦	0,8	1,3	0,8♦	0,7	0,9
IVRT, с	70,0	68,0	74,5	71,0	64,0	80,0
ДсТ, м/с	218,0	191,8	253,0	220,0	209,0	259,0

Примітка: Me - медіана; ♦ - Достовірні відмінності між групами пацієнтів з ХСНзберФВ і ЦД 2 типу та ХСНзберФВ без ЦД 2 типу.

При аналізі концентрації біомаркерів в групах пацієнтів за генотипом ми не спостерігали різниці в рівнях NTproBNP та ФНО-α між носіями Т та М алелів як в 1-й, так і в 2-й групі хворих. У той

же час, у хворих з ХСНзберФВ та ЦД 2 типу, які були носіями Т алеля, рівень ST2 достовірно перевищував цей показник у ММ гомозигот ($p < 0,5$) (рис. 2).

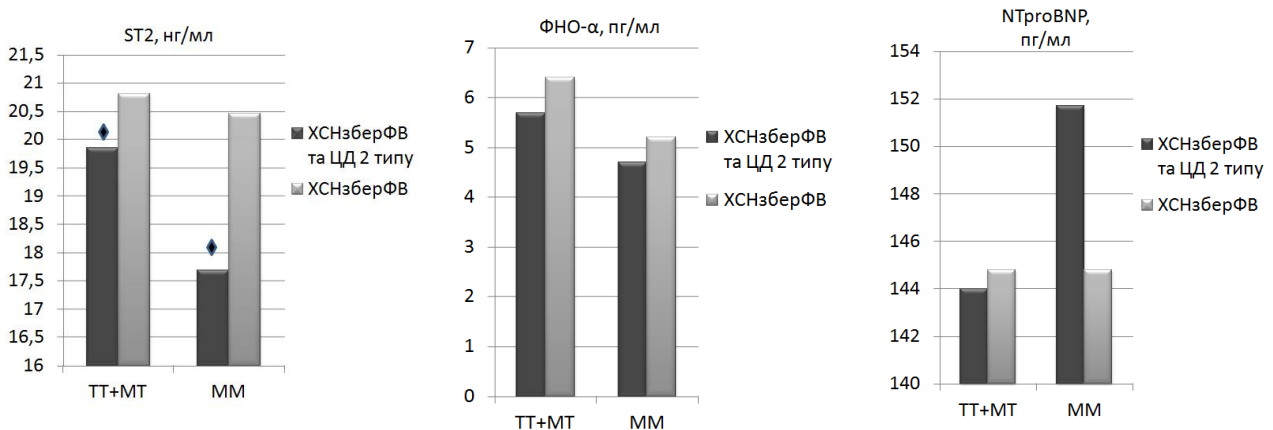


Рис. 2. Рівень ST2, NTproBNP та ФНО-α в залежності від поліморфізму гена ATG. ♦ - достовірна різниця ($p < 0,5$).

У літературі зустрічаються відомості про асоціацію поліморфізму 235Т з більш тяжким перебігом ГХ. Нами виявлено, що серед усіх пацієнтів з ХСНзберФВ ЛШ та генотипом TT+MT переважає II стадія ГХ з ураженням органів-мішеней у порівнянні з хворими з генотипом MM ($p < 0,05$).

Відомо, що у пацієнтів з ЦД 2 типу інсуліно-резистентність та гіперінсулінемія сприяють

розвитку дисліпідемії, стимулюють синтез ендогенного холестерину, а також колагену в клітинах судинної стінки [5]. Згідно з нашими даними, хворі з ХСНзберФВ ЛШ на тлі ЦД 2 типу з генотипом MT+TT мають більш виражену дисліпідемію, ніж пацієнти без діабету. Проведений нами аналіз показників ліпідного обміну показав, що у пацієнтів з ХСНзберФВ ЛШ і супутнім ЦД 2 типу,

які були носіями МТ+ТТ генотипу, спостерігались більш високі рівні ЗХС, ТГ та ХС ЛПДНЩ, ніж у хворих без ЦД ($p < 0,05$).

Результати нашого дослідження показали, що хворі з ХСНзберФВ ЛШ та ЦД 2 типу з генотипом МТ+ТТ мають вищу концентрацію біомаркера фіброзу ST2, ніж носії ММ поліморфізму. Ці дані можуть свідчити про вираженість фібротичних процесів в міокарді даної категорії хворих. Наявність діабету впливає на механізми розвитку фіброзу, оскільки багато прозапальних та профібротичних процесів активуються при порушеннях вуглеводного обміну, що може погіршувати діастолічну функцію у хворих із ХСН.

Висновки

Пацієнти з ХСНзберФВ ЛШ і ЦД 2 типу та без нього мають однаковий розподіл генотипів поліморфізму ангіотензиногена M235T.

Поліморфізм АТГ M235T асоційований з рівнем маркера фіброзу ST2 у хворих з ХСНзберФВ ЛШ.

Носійство алеля Т у пацієнтів з ХСН і ЦД 2 типу асоціюється з більш вираженими порушеннями ліпідного обміну, ніж у пацієнтів без ЦД 2 типу.

Перспективи подальших досліджень

Актуальним і перспективним є подальше дослідження ефективності терапії ХСН на тлі ЦД 2 типу в залежності від генетичних особливостей пацієнта.

Література

1. ESC Clinical Practice Guidelines [Електронний ресурс] // European Heart Journal. – 2016. – Режим доступу до ресурсу: <http://www.escardio.org/Guidelines/Clinical-Practice-Guidelines/Acute-and-Chronic-Heart-Failure>.
2. Braunwald E. The war against heart failure: the Lancet lecture / E. Braunwald // Lancet. - 2015. - Vol. 385 (9970). - P. 812-824.

Реферат

СВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМА M235T ГЕНА АНГИОТЕНЗИНОГЕНА С УРОВНЯМИ ST2, NTproBNP И ФНО-А В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ И САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

Меденцева Е. А.

Ключевые слова: хроническая сердечная недостаточность с сохраненной фракцией выброса, сахарный диабет 2 типа, ST2, генетический полиморфизм АТГ M235T.

Целью работы было исследовать связь полиморфизма M235T гена АТГ с уровнями ST2, NTproBNP и ФНО- α в сыворотке крови у больных с ХСНсохрФВ ЛЖ и СД 2 типа.

В исследовании приняли участие 83 стабильных пациента с ХСНсохрФВ ЛЖ II-III ФК по классификации NYHA с ФВ \geq 45%. Средний возраст больных составил $62,9 \pm 8,1$ лет; средняя продолжительность ХСН составила 3,7 лет. Среди исследуемых было 32 (38,5%) мужчины и 51 (61,5%) женщины. Определяли уровень ОХС, ХС ЛПВП, ТГ колориметрическим энзиматическим методом. Для определения аллелей и генотипов полиморфного гена АТГ M235T проводили выделение геномной ДНК из венозной крови. Молекулярно-генетическое тестирование ДНК выполняли с использованием набора реагентов для выявления полиморфизмов в геноме человека методом ПЦР с электрофоретической схеме детекции результата "СНП-ЭКСПРЕСС". Правильность распределения частот генотипов определяли соответствием равновесия Харди-Вайнберга. Уровень NTproBNP, ФНО- α , ST2 в сыворотке крови определяли методом ИФА. Допплерокардиографическое исследование проводили ультразвуковым методом на аппарате Vivid3 (Япония) с механическим датчиком 3,5 МГц. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета статистических программ SPSS v.19.0.

Все больные с ХСНсохрФВ ЛЖ были распределены на группы: в первую группу входили пациенты с ХСНсохрФВ ЛЖ и СД 2 типа ($n = 45$), в вторую группу - с ХСНсохрФВ ЛЖ без СД 2 типа ($n = 38$), третья группа контроля включала практически здоровых лиц ($n = 29$). В дальнейшем больные были распределены по генотипу на подгруппы. Пациенты с сопутствующим СД 2 типа отличались по показате-

3. Wu Cho-Kai Impact of the renineangiotensin system and inflammatory gene polymorphisms on diastolic heart failure / Cho-Kai Wu, Jen-Kuang Lee, Fu-Tien Chiang // Journal of the Formosan Medical Association. - 2014. - Vol. 113, Issue 2. - P. 69-71.
4. Драпкина О.М. Оценка нарушений сократительной функции предсердий и фиброза как предикторов развития хронической сердечной недостаточности / О.М. Драпкина, Е.В. Черкунова // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. - 2014. - № 10 (2). - С. 231-237.
5. Guanghong Jia. Sowers. Insulin resistance and hyperinsulinaemia in diabetic cardiomyopathy / Jia Guanghong, De Marco Vincent G., R. James // Nat. Rev. Endocrinol. - 2016. - Vol. 12(3). - P. 144-153.
6. Villacorta Humberto Maisel. Soluble ST2 Testing: A Promising Biomarker in the Management of Heart Failure / Humberto Villacorta, S. Alan // Arq. Bras. Cardiol. - 2016. - Vol.106 (2). - P. 145-152.
7. Lin Y.H. Diabetes. Distribution and clinical association of plasma soluble ST2 during the development of type 2 diabetes / Lin Y.H., Zhang R.C., Hou L.B. [et al.] // Res. Clin. Pract. - 2016. - Vol.118. - P. 140-145.
8. Ljungberg Liza U. Associations of genetic polymorphisms in the renin-angiotensin system with central aortic and ambulatory blood pressure in type 2 diabetic patients / Liza U. Ljungberg, Carl Johan Ostgren, Fredrik H. Nyström [et al.] // Journal of the Renin-Angiotensin- Aldosterone System. - 2014. - Vol. 15 (1). - P. 61-68.
9. MacDonald M.R. Treatment of type 2 diabetes and outcomes in patients with heart failure: a nested case-control study from the U.K. / M.R. MacDonald, D.T. Eurich, S.R. Majumdar [et al.] // General Practice Research database. Diabetes Care. - 2010. - Vol. 33. - P. 1213-1218.
10. Zile Michael R. Plasma Biomarkers Reflecting Profibrotic Processes in Heart Failure With a Preserved Ejection Fraction Data From the Prospective Comparison of ARNI With ARB on Management of Heart Failure With Preserved Ejection Fraction Study / Michael R. Zile, Pardeep S. Jhund [et al.] // Circ. Heart Fail. - 2016. - Vol. 9 (1). - P. e002551.
11. Mozaffarian D. Heart disease and stroke statistics—2015 update: a report from the American Heart Association / D. Mozaffarian, E.J. Benjamin, A.S. Go [et al.] // Circulation. - 2015. - Vol.131 (4). - P. e29-322.
12. Шевченко О.В. Молекулярно-генетические исследования больных эссенциальной артериальной гипертензией / О.В. Шевченко, А.А. Свистунов, Е.Н. Бычков, В.Б. Бородулин // Медицинский альманах. - 2011. - № 3 (16). - С. 88-91.
13. Chen Song The M235T polymorphism in the angiotensinogen gene and heart failure: a meta-analysis / Song Chen, Lan Zhang, Hong-Wei Wang [et al.] // Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System. - 2014. - Vol. 15(2). - P. 190-195.
14. Wang T.J. Prognostic utility of novel biomarkers of cardiovascular stress: the Framingham Heart Study / T.J. Wang, K.C. Wollert, M.G. Larson [et al.] // Circulation. - 2012. - Vol. 126 (13). - P. 1596-1604.

лям углеводного, липидного обмена, ИМТ и имели более выраженную диастолическую дисфункцию ($p < 0,5$). Исследуемые группы не отличались по распределению полиморфных вариантов M235T гена ATG. У больных 1-й группы MM генотип встречался в 20% случаев, MT - у 47% и TT - в 33%. У пациентов 2-й группы MM встречался в 24% случаев, MT в 50% и TT - в 26%. В группе контроля MM генотип встречался в 14,8% случаев, MT - в 55,6% и TT - в 29,6%. Выявлено что, первый и второй группы больных не отличались по уровню NTproBNP, ФНО- α и ST2. В группах по генотипу не было разницы в концентрации NTproBNP и ФНО- α между носителями T и M аллелей как в 1-й, так и во 2-й группе больных. У больных с ХСНзберФВ и СД 2 типа, которые были носителями T аллеля, уровень ST2 достоверно превышал этот показатель в MM гомозигот ($p < 0,5$). Среди всех пациентов с ХСНзберФВ ЛЖ и генотипом TT+MT преобладает II стадия ГБ по сравнению с больными с генотипом MM ($p < 0,05$). У пациентов с ХСНзберФВ ЛЖ и сопутствующим СД 2 типа, которые были носителями MT + TT генотипа, более высокие уровни ОХС, ТГ и ХС ЛПОНП, чем у больных без СД ($p < 0,05$). Пациенты с ХСНзберФВ ЛЖ и СД 2 типа и без него имеют одинаковое распределение генотипов полиморфизма ангиотензиногена M235T. Полиморфизм ATG M235T ассоциированный с уровнем маркера фиброза ST2 у больных с ХСНзберФВ ЛЖ. Носительство аллеля T у пациентов с ХСН и СД 2 типа ассоциируется с более выраженными нарушениями липидного обмена, чем у пациентов без СД 2 типа.

Summary

ASSOCIATION BETWEEN ANGIOTENSINOGEN GENE M235T POLYMORPHISM AND ST2, NTPROBNP AND TNF-A LEVELS IN BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH CHRONIC HEART FAILURE AND TYPE 2 DIABETES MELLITUS

Medentseva O.O.

Key words: heart failure with preserved ejection fraction, type 2 diabetes mellitus, ST2, genetic polymorphism M235T ATG.

Purpose: To investigate the correlation between ATG gene M235T polymorphism and levels of ST2, NTproBNP and TNF- α in patients with heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF) and diabetes mellitus type 2 (T2DM). 83 patients with HFpEF II-III class NYHA were examined (32 males and 51 females; mean age $62,9 \pm 8,1$ years), including 45 patients with HFpEF and (T2DM), 38 non-diabetic patients, and 29 healthy individuals. To determine the genotypes and alleles of ATG gene M235T polymorphic we removed genomic DNA from venous blood. Molecular genetic testing of DNA was performed by using a set of reagents for the detection of SNPs in the human genome by PCR with electrophoretic pattern detection result "SNP-Express". Correct distribution of frequencies of genotypes was assessed by compliance with the Hardy-Weinberg equilibrium. The levels of ST2, NT-pro-BNP, and TNF- α in serum were determined by ELISA. To assess lipid metabolism we investigated content of total cholesterol (total cholesterol), HDL cholesterol, triglycerides (TG). Cardiac parameters were investigated by Doppler echocardiography. Statistical analysis was performed by using the statistical software package SPSS v.19.0.

All patients with HFpEF and T2DM terms of carbohydrate and lipid metabolism were distributed into groups. Study groups did not differ in the distribution of polymorphic variants of the gene M235T ATG. Among the patients of group 1 MM genotype was detected in 20% of cases, MT – in 47% and TT – in 33%. Among the patients of the group 2 MM was found in 24% of cases, MT – in 50% and TT - in 26%. In the control group MM genotype was found in 14.8% of cases, MT - in 55.6% and TT - in 29.6%. Patients with HFpEF and T2DM and non-diabetic did not differ in NTproBNP, TNF- α and ST2 levels. Genotype groups demonstrated no difference in the concentration between NTproBNP and TNF- α and carriers of T and M allele in both groups of patients. HFpEF and T2DM who were carriers of the T allele, the level of ST2 was significantly higher than the figure in MM homozygotes ($p < 0,5$). Among all HFpEF patients genotype TT + MT dominated by Stage II essential hypertension compared with patients with genotype MM ($p < 0,05$). In HFpEF and T2DM patients-carriers MT + TT genotype, higher levels of total cholesterol, TG and VLDL cholesterol than patients without diabetes ($p < 0,05$). Patients with HFpEF and T2DM and non-diabetic have the same genotypes distribution of angiotensinogen M235T polymorphism. Polymorphism M235T ATG associated with the level of ST2 in HFpEF and T2DM patients. The HFpEF and T2DM patients, carrier T allele had more severe disorders of lipid metabolism than patients without type 2 diabetes.