

ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ НОСИТЕЛЬСТВА 4a/4b И 4b/4b ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА eNOS У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

Фалчари Р.А., Полунина Е.А.

ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Астрахань, e-mail: agma@astranet.ru

В данной статье приводятся результаты анализа частоты встречаемости генотипов 4a/4b и 4b/4b гена eNOS у 280 пациентов с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) со сниженной и с сохранной сократительной функцией левого желудочка и 60 соматически здоровых лиц (средний возраст 54 (47; 60) года). В результате проведенного исследования было обнаружено увеличение частоты встречаемости полиморфного генотипа 4a/4b гена по сравнению с частотой встречаемости 4b/4b генотипа у пациентов с ХСН со сниженной сократительной функцией левого желудочка, в то время как в группе контроля и группе пациентов с ХСН с сохранной сократительной функцией левого желудочка данные генотипы по частоте встречаемости были сопоставимы. Было установлено увеличение частоты встречаемости, относительного, абсолютного риска и отношения шансов наличия генотипа 4a/4b в группе пациентов с ХСН со сниженной сократительной функцией левого желудочка по сравнению с группой контроля. Полученные данные могут быть использованы для составления программ расчета индивидуального риска развития и прогрессирования ХСН.

Ключевые слова: хроническая сердечная недостаточность, полиморфизм гена eNOS.

THE FREQUENCY OF DIFFERENT GENOTYPES OF THE GENE OF eNOS IN PATIENTS WITH CHRONIC HEART FAILURE

Falchari R.A., Polunina E.A.

Federal state budget educational institution of higher education «Astrakhan state medical university», Astrakhan, e-mail: agma@astranet.ru

This article summarizes the results of the analysis of frequency of occurrence of genotypes 4a/4b and 4b/4b gene of eNOS in 280 patients with chronic heart failure (CHF) with reduced and with preserved ejection fraction of the left ventricle and 60 somatically healthy individuals (mean age 54 (47; 60) years). As a result, it has discovered an increase in the frequency of occurrence of polymorphic genotype 4a/4b gene compared with the frequency of occurrence of 4b/4b genotype in patients with CHF with reduced ejection fraction of the left ventricle, while in the control group and the group of patients with CHF with preserved ejection fraction of the left ventricle data of genotype frequency was comparable. And it has established increase in the frequency of occurrence and relative, absolute risk and odds ratios of the presence of genotype 4A/4b in the group of patients with CHF with reduced ejection fraction of the left ventricle compared with the control group. The findings of this research can be used for programming the calculation of individual risk of development and progression of CHF.

Keywords: chronic heart failure, gene polymorphisms of eNOS.

Уже много лет заболевания сердечно-сосудистой системы (ЗСС) не уступают лидирующие позиции среди причин инвалидизации населения и летальных исходов у лиц трудоспособного возраста, что влечет за собой большой социально-экономический ущерб для государства [1-4].

В основе развития ЗСС лежат различные механизмы, в том числе влияние факторов внешней среды и наличие предрасполагающих генетических факторов, изучение которых в последние годы привлекает особое внимание ученых [5-7]. При этом известно, что ЗСС являются многофакторными, любое ЗСС может быть обусловлено наличием того или иного

неблагоприятного полиморфизма, а также наличием неблагоприятной комбинации аллелей нескольких генов [8, 9].

Особый интерес для изучения у больных с ЗСС представляет ген синтазы оксида азота (eNOS), который кодирует фермент – синтазу оксида азота (NO) и влияет на выработку NO. Ген, кодирующий eNOS, находится в хромосоме 7 (q35-36) и состоит из 26 экзонов. Данный ген является одним из генов-кандидатов, определяющих развитие сердечно-сосудистых заболеваний. Основанием для данного утверждения служат данные многочисленных исследований о роли продуктов данного гена в физиологии сердечно-сосудистой системы в целом и сосудов в частности [10-14].

В современной литературе представлено малое количество исследований по определению генотипов 4a/4b и 4b/4b гена eNOSy пациентов с хронической сердечной недостаточностью (ХСН), особенно в аспекте классификации по фракции выброса левого желудочка. При этом изучение генотипов 4a/4b и 4b/4b гена eNOSy пациентов с ХСН, на наш взгляд, является актуальным направлением современной кардиологии.

Цель исследования. Определить частоту встречаемости генотипов 4a/4b и 4b/4b гена эндотелиальной синтазы оксида азота у пациентов с хронической сердечной недостаточностью с сохранной и сниженной сократительной функцией левого желудочка.

Материалы и методы исследования. Для достижения цели исследования нами было обследовано 280 пациентов с ХСН, которые были разделены на две группы в зависимости от сократительной функции левого желудочка. Первую группу составили 148 пациентов с ХСН со сниженной сократительной функцией левого желудочка (ХСН снСФЛЖ), вторую группу составили 132 пациента с ХСН с сохранной сократительной функцией левого желудочка (ХСН с сСФЛЖ). Группа контроля включала 60 соматически здоровых лиц Астраханского региона. Медиана среднего возраст всех обследуемых пациентов составила 54 (47; 60) года. Группа соматически здоровых лиц была сопоставима по возрасту и полу с пациентами с ХСН.

Данное исследование было одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ МЗ РФ (заседание РНЭК от 17. 09. 2012 г., протокол № 2 от 17.09.2012 года).

Диагноз ХСН ставился на основании Национальных рекомендаций по диагностике и лечению ХСН (четвертый пересмотр), утвержденных в 2013 году.

Критериями включения в исследование были: наличие ХСН, возникшей на фоне подтвержденной ишемической болезни сердца: стабильная стенокардия напряжения 2–3 функциональный класс, постинфарктный кардиосклероз, фибрилляция предсердий, артериальная гипертензия 2–3 степени; возраст не старше 60 лет. Критериями исключения служили: перенесенные инфаркт миокарда в течение последних 6 месяцев, острое нарушение

мозгового кровообращения, аорто-коронарное шунтирование, ангиопластика (менее 6 мес. назад); врожденные и приобретенные пороки сердца; злокачественные новообразования; выраженная почечная недостаточность, печеночная недостаточность; системные заболевания; остеопороз и другие заболевания опорно-двигательного аппарата.

При выполнении исследования применялись следующие реактивы и ферменты: персульфат аммония, протеиназа К («Helicon», Россия), додецилсульфат натрия, трис-НСI («Serva», ФРГ), хлорид натрия, хлорид магния, сульфат аммония («Сибэнзим», Россия), буфер для ДНК-полимеразы («Сибэнзим», Россия), олигонуклеотидные праймеры («Литех», Россия), дезоксирибонуклеозидтрифосфаты, агароза; и оборудование: программируемый термоциклер «Biometra» (США), центрифугу «Beckman» (Великобритания), автоматический анализатор «BioRad» (Италия).

Генотипирование по полиморфному маркеру гена eNOS проводили на геномной ДНК, выделенной из цельной крови. Аллели полиморфного участка eNOS4b/4a идентифицировали путем анализа полиморфизма длин рестриционных фрагментов. Разделение фрагментов проводили при помощи электрофореза.

Статистическая обработка данных проводилась при помощи статистической программы STATISTICA 11.0, StatSoft, Inc. Критический уровень статистической значимости принимали 5% ($p=0,05$). Для проверки статистических гипотез при сравнении данных использовали непараметрический U-критерий Манна – Уитни. При сравнении качественных данных использовали критерий хи-квадрат (χ^2) Пирсона.

Результаты исследования и их обсуждения. При анализе частоты выявления генотипа 4b/4b у всех исследуемых групп пациентов было установлено, что в группе пациентов с ХСН с СФЛЖ генотип 4b/4b встречался у 75 чел., что было сопоставимо ($\chi^2=0,6$; $df=1$; $p= 0,437$) с частотой выявления данного генотипа в группе контроля – 37 чел. (таблица).

Частота встречаемости генотипов 4a/4b и 4b/4/b гена eNOS у пациентов с ХСН

Генотип	Группа контроля n=60	Группа ХСН сСФЛЖ n=148	Группа ХСН снСФЛЖ n=132
4b/4b, чел. (%)	37 чел. (62 %)	75 чел. (51 %) $\chi^2=0,6$; $df=1$; $p_1= 0,437$	43 чел. (33 %) $\chi^2=5,54$; $df=1$; $p_1= 0,019$ $\chi^2=3,86$; $df=1$; $p_2= 0,049$
4a/4b	23 чел. (38 %)	73 чел. (49 %)	89 чел. (67 %)

чел. (%)	$\chi^2=2,19; df=1;$ $p_1= 0,139$	$\chi^2=0,79; df=1; p_1= 0,374$ $\chi^2=0,02; df=1; p_3= 0,893$	$\chi^2=4,09; df=1; p_1=0,043$ $\chi^2=2,49; df=1; p_2= 0,114$ $\chi^2=10,83; df=1; p_2= 0,001$
----------	--------------------------------------	--	---

Примечание:

p_1 – уровень статистической значимости различий с группой контроля;

p_2 – уровень статистической значимости различий с группой пациентов с ХСН с сохранной сократительной функцией левого желудочка;

p_3 – уровень статистической значимости различий с носителями генотипа 4b/4b в соответствующей группе.

У пациентов с ХСН снСФЛЖ генотип 4b/4b был определен у 43 чел., что было статистически значимо меньше ($\chi^2=5,54; df=1; p= 0,019$), чем в группе контроля, и статистически значимо меньше ($\chi^2=3,86; df=1; p= 0,049$), чем в группе пациентов с ХСН сСФЛЖ. В группе пациентов с ХСН сСФЛЖ генотип 4a/4b был определен у 73 чел., что было сопоставимо ($\chi^2=0,97; df=1; p= 0,324$) с частотой выявления данного генотипа в группе контроля – 23 чел. (38 %). У пациентов с ХСН снСФЛЖ генотип 4a/4b был определен у 89 чел., что было статистически значимо чаще ($\chi^2=4,09; df=1; p=0,043$), чем в группе контроля, однако сопоставимо с частотой выявления данного генотипа в группе пациентов с ХСН сСФЛЖ ($\chi^2=2,49; df=1; p= 0,114$). При проведении внутригрупповых сравнений было установлено, что по частоте выявления генотипы 4b/4b и 4a/4b в группе контроля ($\chi^2=2,19; df=1; p_1= 0,139$) и группе пациентов с ХСН сСФЛЖ ($\chi^2=0,02; df=1; p_3= 0,893$) были сопоставимы. В то же время в группе пациентов с ХСН снСФЛЖ генотип 4a/4b выявлялся статистически значимо чаще ($\chi^2=10,83; df=1; p_2= 0,001$), чем генотип 4b/4b.

Затем с помощью вычисления абсолютного риска, доверительного интервала, относительного риска и отношения шансов мы проанализировали ассоциацию выявления 4a/4b генотипа у пациентов с наличием ХСН сСФЛЖ и ХСН снСФЛЖ, сравнив с группой контроля.

Было установлено, что в группе больных ХСН сСФЛЖ абсолютный риск (АР) встречаемости генотипа 4a/4b составил 0,49 (59 %) против 0,38 (38 %) в группе контроля. Повышение АР выявления генотипа 4a/4b в группе больных ХСН сСФЛЖ и 95 % доверительный интервал (ДИ) относительно группы контроля составили 0,11 и [-0,04; 0,26] или 11 %. Значение ДИ включает 0, следовательно, различия по изучаемому признаку являются статистически незначимыми.

Значение относительного риска встречаемости генотипа 4a/4b у пациентов с ХСН сСФЛЖ относительно группы контроля составило 1,29 [95 % доверительный интервал [1,11; 1,37]]. При этом относительный риск встречаемости генотипа 4a/4b в группе пациентов с ХСН сСФЛЖ находился в диапазоне 1,1–1,5 это позволило расценить его как низкий, а

отношение шансов наличия генотипа 4a/4b в группе пациентов с ХСН сСФЛЖ относительно группы контроля составило 1,57 [1,28; 1,82]. У группы пациентов с ХСН снСФЛЖ значение относительного риска встречаемости генотипа 4a/4b в группе пациентов с ХСН снСФЛЖ относительно группы контроля было 1,76 [95 % доверительный интервал [1,51; 1,87]. Относительный риск встречаемости генотипа 4a/4b в группе пациентов с ХСН снСФЛЖ находился в диапазоне 1,5–2, это позволило расценить его как средний, а отношение шансов наличия генотипа 4a/4b в группе пациентов с ХСН снСФЛЖ относительно группы контроля составило 3,33 [2,69; 3,88]. Полученное значение доверительного интервала больше 1 указывает на статистическую значимость различий по изучаемому признаку между группой пациентов с ХСН снСФЛЖ и группой контроля.

Из проведенного анализа следует, что не было получено убедительных данных увеличения частоты встречаемости, а также относительного, абсолютного риска и отношения шансов наличия генотипа 4a/4b в группе пациентов с ХСН сСФЛЖ по сравнению с группой контроля, но было установлено увеличение частоты встречаемости, а также относительного, абсолютного риска и отношения шансов наличия генотипа 4a/4b в группе пациентов с ХСН снСФЛЖ по сравнению с группой контроля.

Затем мы оценили ассоциацию выявления генотипа 4a/4b у группы пациентов с ХСН сСФЛЖ относительно группы пациентов с ХСН снСФЛЖ и получили следующие данные: в группе пациентов с ХСН снСФЛЖ абсолютный риск встречаемости генотипа 4a/4b составил 0,67 (67 %) против 0,49 (38 %) в группе пациентов с ХСН сСФЛЖВ. Повышение абсолютного риска выявления генотипа 4a/4b в группе пациентов с ХСН снСФЛЖ относительно группы пациентов с ХСН сСФЛЖ составили 0,18 и [0,06; 0,44] или 18 %. Значение доверительного интервала не включает 0, следовательно, различия по изучаемому признаку являются статистически значимыми.

В группе пациентов с ХСН снСФЛЖ значение относительного риска встречаемости генотипа 4a/4b относительно группы контроля составило 1,37 [95 % доверительного интервала [1,21; 1,87]. Так как относительный риск встречаемости генотипа 4a/4b в группе пациентов с ХСН снСФЛЖ находился в диапазоне 1,1–1,5 это позволило расценить его как низкий. Отношение шансов наличия генотипа 4a/4b в группе пациентов с ХСН снСФЛЖ относительно группы пациентов с ХСН сСФЛЖ составило 2,13 [1,88; 2,39]. При этом значение доверительного интервала больше 1 указывает на статистическую значимость различий по изучаемому признаку между группой пациентов с ХСН снСФЛЖВ и группой сСФЛЖ.

Данные проведенного анализа свидетельствуют об увеличении частоты встречаемости, а также абсолютного риска и отношения шансов наличия генотипа 4a/4b в

группе пациентов с ХСН снСФЛЖ по сравнению с группой пациентов ХСН сСФЛЖ. Но относительный риск встречаемости полиморфного генотипа 4a/4b в группе пациентов ХСН снСФЛЖ относительно ХСН сСФЛЖ был низким.

В связи с неоднозначностью полученных результатов была проведена оценка риска развития ХСН снСФЛЖ у пациентов-носителей генотипа 4a/4b. Установлено, что в группе пациентов носителей генотипа 4a/4b абсолютный риск встречаемости ХСН снСФЛЖ составил 0,55 (55 %) против 0,36 (36%) в группе пациентов носителей генотипа 4b/4b. Повышение абсолютного риска встречаемости ХСН снСФЛЖ в группе пациентов с ХСН носителей генотипа 4a/4b относительно группы пациентов с ХСН носителей генотипа 4b/4b составили 0,18 и [0,06; 0,31] или 18%. Значение доверительного интервала не включает 0, следовательно, различия по изучаемому признаку являются статистически значимыми. Значение относительного риска встречаемости генотипа 4a/4b в группе пациентов с ХСН снСФЛЖ относительно группы контроля составило 1,51 [95 % доверительного интервала [1,34; 1,57]. Так как относительный риск встречаемости ХСН снСФЛЖ в группе пациентов ХСН носителей генотипа 4a/4b находился в диапазоне 1,5-2,0, это позволило расценить его как средний. Отношение шансов наличия ХСН снСФЛЖ в группе пациентов ХСН носителей генотипа 4a/4b относительно группы больных ХСН носителей генотипа 4b/4b составило 2,13 [1,88; 2,4]. Полученное значение доверительного интервала больше 1 указывает на статистическую значимость различий по изучаемому признаку между группой пациентов с ХСН снСФЛЖ и группой ХСН с СФЛЖ.

Таким образом, было установлено увеличение частоты встречаемости, а также абсолютного, относительного риска и отношения шансов наличия ХСН снСФЛЖ в группе больных ХСН носителей генотипа 4a/4b по сравнению с группой больных ХСН носителей генотипа 4b/4b.

Вывод

По результатам статистического анализа было выявлено:

1. Увеличение частоты встречаемости генотипа 4a/4b в группе пациентов с ХСН снСФЛЖ по сравнению с частотой встречаемости 4b/4b генотипа, в то время как в группе контроля и группе пациентов с ХСН с СФЛЖ данные генотипы по частоте встречаемости были сопоставимы;

2. Увеличение абсолютного риска и отношения шансов наличия генотипа 4a/4b в группе пациентов ХСН снСФЛЖ по сравнению с группой контроля и группой пациентов с ХСН с СФЛЖ;

3. Не было получено убедительных данных увеличения частоты встречаемости, а также относительного, абсолютного риска и отношения шансов наличия генотипа 4a/4b в группе пациентов ХСН сСФЛЖ по сравнению с группой контроля;

4. Увеличение частоты встречаемости, а также абсолютного риска и отношения шансов наличия генотипа 4a/4b в группе пациентов с ХСН снСФЛЖ по сравнению с группой с ХСН сСФЛЖ. В то же время относительный риск встречаемости генотипа 4a/4b в группе пациентов с ХСН снСФЛЖ относительно ХСН сСФЛЖ был низким;

5. Увеличение частоты встречаемости, абсолютного, относительного риска и отношения шансов пациентов с ХСН снСФЛЖ в группе пациентов с ХСН носителей генотипа 4a/4b по сравнению с группой пациентов носителей генотипа 4b/4b.

Полученные данные могут быть использованы для составления программ расчета индивидуального риска развития и прогрессирования ХСН, а также свидетельствуют о перспективном значении дальнейшего исследования полиморфизма гена eNOS-синтазы у больных ХСН.

Список литературы

1. Национальные рекомендации ОССН, РКО и РНМОТ по диагностике и лечению ХСН (четвертый пересмотр) / В.Ю. Мареев [и др.] // Журнал Сердечная Недостаточность. – 2013. – Т. 14, № 7. – С. 379-472.
2. Распространенность артериальной гипертонии в крупном промышленном регионе (по данным эпидемиологического исследования ЭССЕ-РФ) / Ю.И. Гринштейн [и др.] // Евразийский кардиологический журнал. – 2016. – № 3. – С. 148-149.
3. Анализ структурно-функциональных показателей левого желудочка у пациентов с хронической сердечной недостаточностью / Е.А. Полунина [и др.] // Естественные науки. – 2015. – № 1 (50). – С. 67-72.
4. Распространенность электрокардиографических изменений у мужчин и женщин старшего возраста в российской федерации / Г.А. Муромцева [и др.] // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2016. – Т. 12, № 6. – С. 711-717.
5. Полунина О.С. Роль белков-матриксинов и их ингибиторов в развитии сердечно-сосудистой патологии и ремоделирования миокарда / О.С. Полунина, А.И. Аксенов // Астраханский медицинский журнал. – 2016. – Т. 11, № 2. – С. 42-57.
6. Функциональные, генетические и биохимические маркеры состояния сосудистого эндотелия при гипертонической болезни / А.Х. Ахминеева [и др.] // Астраханский медицинский журнал. – 2013. – Т. 8, № 3. – С. 40-43.

7. Связь между уровнем оксида азота в сыворотке периферической крови и характером патологии сердечно-сосудистой системы и внутренних органов у больных первичной артериальной гипертензией / В.А. Метельская [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2011. – № 4. – С. 23-31.
8. Влияние полиморфизма гена каталазы на развитие сердечно-сосудистой патологии при хронической обструктивной болезни легких / Т.А. Уклистая [и др.] // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. – 2012. – № 4. – С. 53-58.
9. Полиморфизм генов, ассоциированных с развитием атеросклероза, и когнитивные расстройства у пациентов с хронической сердечной недостаточностью ишемического генеза / Т.В. Мартынович [и др.] // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2015. – Т. 14, № 1. – С. 30-34.
10. Клинико-прогностическое значение полиморфизма гена эндотелиальной NO-синтетазы у больных с острыми коронарными синдромами / А.Н. Пархоменко [и др.] // Медицина Неотложных Состояний. – 2014. – № 3 (58). – С. 45-54.
11. Поздняков Н.О. Полиморфизм гена eNOS: распространенность и связь с заболеваниями / Н.О. Поздняков, А.Л. Хохлов // Фарматека. – 2015. – № 13. – С. 21-24.
12. Влияние полиморфизма гена эндотелиальной синтазы оксида азота на состояние сосудистого эндотелия у больных бронхиальной астмой / И.В. Севостьянова [и др.] // Астраханский медицинский журнал. – 2013. – Т. 8, № 3. – С. 83-85.
13. Tong Y. A tailed primers protocol to identify the association of eNOS gene variable number of tandem repeats polymorphism with ischemic stroke in Chinese Han population by capillary electrophoresis / Y. Tong, X. Yin, Z. Wang // Gene. – 2013. – Vol. 517, № 2. – P. 218–223.
14. Exendin-4 inhibits structural remodeling and improves Ca²⁺ homeostasis in rats with heart failure via the GLP-1 receptor through the eNOS/cGMP/PKG pathway / C. Jingjing [et al.] // Peptides. – 2017. – Vol. 90. – P. 69-77.