

---

## УРОВЕНЬ НАТРИЙУРЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА ТИПА С У ПАЦИЕНТОВ С РЕСПИРАТОРНО-КАРДИАЛЬНОЙ КОМОРБИДНОСТЬЮ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНОТИПОВ ГЕНА ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ СИНТАЗЫ ОКСИДА АЗОТА

О.С. Полунина, А.Х. Ахминеева,  
И.В. Севостьянова, Л.П. Воронина

Кафедра внутренних болезней  
Педиатрический факультет  
Астраханская государственная медицинская академия  
Минздрава России  
*ул. Бакинская, 121, Астрахань, Россия, 414000*

В данной работе был изучен уровень натрийуретического пептида типа С (НУПС) у больных с респираторно-кардиальной коморбидностью (хроническая обструктивная болезнь легких + гипертоническая болезнь, хроническая обструктивная болезнь легких + ишемическая болезнь сердца) в зависимости от генотипов (4a/4b и 4b/4b) гена эндотелиальной синтазы оксида азота. При исследовании было выявлено влияние VNTR-полиморфизма на продукцию НУПС. Так было выявлено влияние VNTR-полиморфизма на уровень НУПС при коморбидном сочетании ХОБЛ + ГБ, статистически значимо повышающего выработку НУПС, по сравнению с монозологией. В то же время у пациентов с сочетанием ХОБЛ + ИБС носительство 4a/4b не оказывает значимого влияния на продукцию НУПС, которая остается сопоставимой с монозологией (ХОБЛ, ИБС).

**Ключевые слова:** натрийуретический пептид типа С, дисфункция эндотелия, хроническая обструктивная болезнь легких, гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца.

Исследованиями последних 15 лет доказано существование семейства натрийуретических пептидов — группы структурно сходных (имеющих в основе молекулы кольцо из 17 аминокислот), но генетически обособленных пептидов, оказывающих влияние на сердечно-сосудистую, мочевую и эндокринную системы. Наиболее изученными в этой группе являются: предсердный натрийуретический пептид типа А, мозговой натрийуретический пептид типа В, а также сосудистый натрийуретический пептид типа С (НУПС).

НУПС проявляет свое действие, образуясь локально в сосудистой стенке, а не поступая из циркулирующей крови. НУПС обладает вазоактивным действием: выделяясь из эндотелиальных клеток и паракринно воздействуя на рецепторы гладкомышечных клеток, вызывает вазодилатацию. Синтез НУПС усиливается в условиях дефицита оксида азота, что имеет компенсаторное значение [3]. Это свойство позволяет использовать уровень НУПС в качестве маркера дефицита оксида азота и дисфункции эндотелия, а также в качестве показателя компенсации данного дефицита.

Последние годы активно ведутся исследования в отношении связи некоторых генотипов с развитием дисфункции эндотелия [2]. Интерес вызывает роль VNTR-полиморфизма (variable number of tandem repeats) гена эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) в развитии эндотелиальной дисфункции при хро-

нической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), гипертонической болезни (ГБ), ишемической болезни сердца (ИБС) и при коморбидных сочетаниях ХОБЛ + ГБ, ХОБЛ + ИБС. VNTR-полиморфизм представляет собой минисателлитный повтор в интроне 4. Данный минисателлит насчитывает 2 аллеля, состоящих из 4 (аллель 4a) или 5 tandemных повторов (аллель 4b) размером 27 пар нуклеотидов [1].

Представляет интерес влияние VNTR-полиморфизма гена eNOS на выработку «компенсирующего» вазодилататора НУПС при сочетании ХОБЛ + ГБ, ХОБЛ + ИБС по сравнению с монозоологией (ХОБЛ, ГБ, ИБС) и соматически здоровыми лицами.

Поэтому цель нашей работы изучить уровень натрийуретического пептида типа С у больных с респираторно-кардиальной коморбидностью (ХОБЛ + ГБ, ХОБЛ + ИБС) в зависимости от генотипов (4a/4b и 4b/4b) гена эндотелиальной синтазы оксида азота.

**Методика исследования.** Было проведено обследование 212 жителей астраханского региона русской национальности, в том числе 40 больных с сочетанием ХОБЛ + ГБ, 40 больных с сочетанием ХОБЛ + ИБС, 27 соматически здоровых лиц (контроль 1), 35 больных ГБ второй стадии (контроль 2), 35 больных ИБС: стенокардией напряжения второго и третьего функционального класса (контроль 3), 35 больных ХОБЛ среднетяжелого и тяжелого течения (контроль 4). От всех больных и лиц контрольной группы было получено информированное согласие на участие в данном исследовании.

Определение уровня НУПС в образцах плазмы осуществлялось методом иммуноферментного анализа с помощью наборов для количественного определения НУПС в биологических жидкостях фирмы «Biomedica», Германия и коммерческих тест систем «NT-proCNP» фирмы «Biomedica Medizinprodukte GmbH & Co KG», Австрия.

Генотипирование по полиморфному маркеру гена eNOS проводили на геномной ДНК, выделенной из цельной крови пациентов указанных групп. Полиморфные участки гена eNOS амплифицировали с помощью полимеразной цепной реакции, используя структуру праймеров и параметры температурных циклов описанных в геномной базе данных. Аллели полиморфного участка eNOS4b/4a идентифицировали путем ПДРФ-анализа, продукты амплификации обрабатывали соответствующими рестриктазами с последующим разделением в 7% акриламидном геле (сток-раствор АА/БА 29:1). Электрофоретическое разделение фрагментов проводили при напряженности поля 16 В/см примерно в течение часа. Фрагменты ДНК окрашивали бромистым этидием и визуализировали в УФ-свете на анализаторе UV-VIS IMAGER-II (США).

Статистическая обработка данных проводилась при помощи статистической программы STATISTICA 7.0, Stat Soft, Inc. Для проверки статистических гипотез при сравнении числовых данных 2 несвязанных групп использовали Mann-Whitney test, при сравнении 3 несвязанных групп использовали Kruskal-Wallis ANOVA test [4].

**Результаты исследования.** Исследуя уровень НУПС у больных с респираторно-кардиальной коморбидностью (ХОБЛ + ГБ, ХОБЛ + ИБС) в зависимости от генотипов (4a/4b и 4b/4b) гена эндотелиальной синтазы оксида азота, мы выявили статистически значимое (Mann-Whitney test) увеличение медианы уровня НУПС у пациентов с 4a/4b генотипом во всех исследуемых группах, кроме группы соматически здоровых лиц, где различия были статистически незначимы ( $p = 0,152$ ), при сохраняющейся тенденции к увеличению уровня НУПС у носителей 4a/4b генотипа. Это указывает на влияние VNTR-полиморфизма на продукцию НУПС.

Так, в группе соматически здоровых лиц у пациентов с 4a/4b уровень НУПС составил 7,0 [5,3; 11,7] пг/мл и был сопоставим ( $p = 0,152$ ) с уровнем НУПС у пациентов с генотипом 4b/4b — 6,5 [4,3; 8,5] пг/мл.

В группе больных ГБ у пациентов с генотипом 4a/4b уровень НУПС составил 13,2 [9,9; 19,6] пг/мл, что было статистически значимо выше по сравнению с пациентами с генотипом 4b/4b ( $p < 0,001$ ). При сравнении с группой соматически здоровых лиц уровень НУПС в группе больных ГБ был статистически значимо выше как у пациентов с генотипом 4a/4b ( $p < 0,001$ ), так и у пациентов с генотипом 4b/4b ( $p = 0,011$ ). То есть у пациентов с ГБ гиперпродукция НУПС вызвана не только наличием VNTR-полиморфизма, а также может быть стимулирована другими воздействиями, например увеличением напряжения сдвига в сосудах и изменением их растяжимости со стимуляцией эндотелиоцитов, характерных для артериальной гипертензии.

В группе больных ХОБЛ у пациентов с генотипом 4a/4b уровень НУПС составил 15,2 [11,1; 18,7] пг/мл, что было статистически значимо выше по сравнению с пациентами с генотипом 4b/4b ( $p < 0,001$ ). При сравнении с группой соматически здоровых лиц уровень НУПС в группе больных ХОБЛ был статистически значимо выше как у пациентов с генотипом 4a/4b ( $p < 0,001$ ), так и у пациентов с генотипом 4b/4b ( $p = 0,002$ ). То есть, при ХОБЛ, как и при ГБ, также имеются факторы, стимулирующие гиперпродукцию НУПС, помимо 4a/4b полиморфизма гена eNOS, например гипоксия, системная воспалительная активация, оксидативный стресс и другие факторы, повреждающие эндотелий, с уменьшением выработки NO, и делающие необходимым выработку «компенсирующего» вазодилатора — НУПС.

В группе пациентов с сочетанием ХОБЛ + ГБ у пациентов с генотипом 4a/4b уровень НУПС составил 17,8 [13,4; 29,5] пг/мл, что было статистически значимо выше по сравнению с пациентами с генотипом 4b/4b ( $p < 0,001$ ), где уровень НУПС составил 9,1 [7,9; 19,2] пг/мл. При сравнении с группой соматически здоровых лиц уровень НУПС в группе больных с сочетанием ХОБЛ + ГБ был статистически значимо выше как у пациентов с генотипом 4a/4b ( $p < 0,001$ ), так и у пациентов с генотипом 4b/4b ( $p < 0,001$ ). При сравнении с группами больных ГБ и ХОБЛ различия в уровне НУПС у пациентов с сочетанием ХОБЛ+ГБ и генотипом 4a/4b были статистически значимы ( $p < 0,001$  и  $p = 0,024$  соответственно),

тогда как в группе пациентов с генотипом 4b/4b статистически значимые различия в уровне НУПС у пациентов с сочетанием ХОБЛ + ГБ наблюдались только с группой больных ГБ ( $p = 0,007$ ), а различия с группой больных ХОБЛ были статистически незначимы ( $p = 0,226$ ).

Таким образом, было выявлено влияние VNTR-полиморфизма на уровень НУПС при коморбидном сочетании ХОБЛ + ГБ, статистически значимо повышавшее выработку НУПС, по сравнению с моноэтиологией, что подтверждалось при межгрупповом (ГБ, ХОБЛ, ХОБЛ + ГБ) сравнении данных Kruskal-Wallis ANOVA test ( $H (df = 2; n = 53) = 12,83$   $p = 0,002$  — для генотипа 4a/4b). Обращает на себя внимание отсутствие влияния 4b/4b полиморфизма на выработку НУПС, что подтверждалось при межгрупповом сравнении данных: в тех же группах у пациентов с генотипом 4b/4b различия были статистически незначимы ( $H (df = 2; n = 72) = 5,92$   $p = 0,052$ ). То есть у пациентов с ХОБЛ — носителей 4b/4b генотипа присоединение ГБ существенно не меняет продукцию НУПС, а следовательно, и состояние сосудистого эндотелия.

В группе больных ИБС у пациентов с генотипом 4a/4b уровень НУПС составил 19,0 [8,5; 44,7] пг/мл, что было статистически значимо выше по сравнению с пациентами с генотипом 4b/4b ( $p < 0,001$ ), где уровень НУПС составил 8,3 [7,7; 18,4] пг/мл. При сравнении с группой соматически здоровых лиц уровень НУПС в группе больных ИБС был статистически значимо выше как у пациентов с генотипом 4a/4b ( $p < 0,001$ ), так и у пациентов с генотипом 4b/4b ( $p = 0,001$ ). При сравнении с группами больных ГБ и ХОБЛ не было выявлено статистически значимого изменения уровня НУПС в группе больных ИБС как с генотипом 4a/4b ( $p = 0,261$ ;  $p = 0,378$  соответственно), так и с генотипом 4b/4b ( $p = 0,076$  и  $p = 0,573$  соответственно). То есть влияние 4a/4b полиморфизма гена eNOS на продукцию НУПС одинаково значимо при каждом из этих заболеваний (ГБ, ХОБЛ, ИБС).

В группе больных с сочетанием ХОБЛ+ИБС у пациентов с генотипом 4a/4b уровень НУПС составил 18,4 [11,2; 46,8] пг/мл, что было статистически значимо выше по сравнению с пациентами с генотипом 4b/4b ( $p < 0,001$ ), где уровень НУПС составил 10,3 [7,9; 13,5] пг/мл. При сравнении с группой соматически здоровых лиц уровень НУПС в группе больных с сочетанием ХОБЛ + ИБС был статистически значимо выше как у пациентов с генотипом 4a/4b ( $p < 0,001$ ), так и у пациентов с генотипом 4b/4b ( $p = 0,001$ ). В группе больных с сочетанием ХОБЛ + ИБС с генотипом 4a/4b уровень НУПС был сопоставим с уровнем НУПС в группе больных ИБС ( $p = 0,557$ ) и в группе больных ХОБЛ ( $p = 0,054$ ). То есть присоединение ИБС у пациентов с ХОБЛ носителей 4a/4b не оказывает значимого влияния на продукцию НУПС, которая остается сопоставимой с моноэтиологией (ХОБЛ, ИБС), что подтверждалось при межгрупповом сравнении данных: Kruskal-Wallis ANOVA test ( $H (df = 2; n = 72) = 5,92$ ;  $p = 0,052$ ).

В группе больных с сочетанием ХОБЛ+ИБС с генотипом 4b/4b уровень НУПС не имел статистически значимых различий как с группой больных ИБС

( $p = 0,563$ ), так и с группой больных ХОБЛ ( $p = 0,091$ ), что также указывает на отсутствие влияния 4b/4b генотипа на продукцию НУПС у пациентов с сочетанием ХОБЛ + ИБС: Kruskal-Wallis ANOVA test ( $H$  ( $df = 2$ ;  $n = 38$ ) = 2,64;  $p = 0,268$ ).

**Выводы.** Обобщая вышеизложенное, можно отметить влияние VNTR-полиморфизма на продукцию НУПС. В то же время складывается впечатление, что при ГБ, ХОБЛ, ИБС имеются дополнительные факторы, помимо 4a/4b полиморфизма гена eNOS, повреждающие эндотелий, уменьшающие выработку NO и делающие необходимой повышенную продукцию «компенсирующего» вазодилатора — НУПС, так как и при 4a/4b и 4b/4b полиморфизме уровень НУПС при данной патологии был выше, чем в группе соматически здоровых лиц. Также было выявлено влияние VNTR-полиморфизма на уровень НУПС при коморбидном сочетании ХОБЛ + ГБ, статистически значимо повышающего выработку НУПС, по сравнению с мононозологией, В то же время у пациентов с сочетанием ХОБЛ + ИБС носительство 4a/4b не оказывает значимого влияния на продукцию НУПС, которая остается сопоставимой с мононозологией (ХОБЛ, ИБС). Этот факт, по нашему мнению, связан с лимитированием выработки «компенсирующих» вазодилаторов определенным пределом, полностью реализованным уже при мононологии (ИБС, ХОБЛ), что делает невозможной дополнительную активацию данного механизма компенсаторной вазодилатации при сочетании ХОБЛ + ИБС.

#### ЛИТЕРАТУРА

- [1] Баранов В. С. Генетический паспорт — основа индивидуальной и предиктивной медицины. — СПб.: Изд-во Н-Л, 2009.
- [2] Воронина Л. П. Генетические, биохимические и функциональные маркеры состояния вазорегулирующей функции эндотелия // Сибирский медицинский журнал. — № 3. — 2011. — С. 29—31.
- [3] Елисеев О.М. Натрийуретические пептиды. Эволюция знаний // Терапевт. арх. — 2003. — № 9. — С. 40—45.
- [4] Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. — М.: МедиаСфера, 2002.

#### LITERATURE

- [1] Baranov V.S. Genetic passport — the basis of individual and predictive medicine. — St. Petersburg.: Publishing House of the H-L, 2009.
- [2] Voronina L.P. Genetic, biochemical and functional markers of endothelial vasoregulating function // Siberian Journal of Medicine. — 2011. — № 3. — P. 29—31.
- [3] Eliseeva O.M. Natriuretic peptides. The evolution of knowledge // Therapist. arch. — 2003. — № 9. — P. 40—45.
- [4] Rebrova O.Yu. Statistical analysis of medical data. Application software package STATISTICA. — M.: Media Sphere, 2002.

**THE LEVEL OF C-TYPE NATRIURETIC PEPTIDE  
IN PATIENTS WITH RESPIRATORY CARDIAL COMORBIDITY,  
DEPENDING ON GENOTYPES OF THE GENE  
OF ENDOTHELIAL NITRIC OXIDE SYNTHASE**

**O.S. Polunina, A.Kh. Akhmineeva,  
I.V. Sevostyanova, L.P. Voronina**

Department of internal medicine of the pediatric faculty  
State Budgetary Educational Institution  
of Higher Professional Education  
“Astrakhan State Medical Academy” of MH RF  
*Bakinskaya str., 121, Astrakhan, Russia, 414000*

In this work we have studied the level of C-type natriuretic peptide in patients with respiratory cardiac comorbidities (COPD + HD, COPD + IHD), depending on the genotypes (4a/4b and 4b/4b) of the gene of endothelial nitric oxide synthase. Investigation revealed the influence of VNTR-polymorphism on the level of CNUP under the comorbidity combination of COPD + HD, significantly increased production of CNUP, compared with a single disease. At the same time, in patients with COPD + IHD combination of 4a/4b has no significant effect on CNUP production, which is comparable with a single disease (COPD, IHD).

**Key words:** C-type natriuretic peptide, endothelial dysfunction, chronic obstructive pulmonary disease, hypertension, ischemic heart disease.