Сенаторова А.С. Гончарь М.А. Коновалова Н.В., Муратов Г.Р., Страшок А.И. ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ СИНТАЗЫ ОКСИДА АЗОТА У ПОДРОСТКОВ С ГИПОТАЛАМИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ ПУБЕРТАТНОГО ПЕРИОДА И АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ. - Новый Армянский Медицинский Журнал. -2015. - Том 9. - № 1. - С.31 - 35.

НОВЫЙ АРМЯНСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЖУРНАЛ Том 9 (2015), № 1, с. 31-35 ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ СИНТАЗЫ ОКСИДА АЗОТА У ПОДРОСТКОВ С ГИПОТАЛАМИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ ПУБЕРТАТНОГО ПЕРИОДА И АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ Сенаторова А.С.1 , Гончарь М.А. 1 , Коновалова Н.В. 2\*, Муратов Г.Р. 2 , Страшок А.И. 2

1 Кафедра педиатрии № 1 и неонатологии Харьковского национального медицинского университета, Харьков, Украина

2 Областная детская клиническая больница, Харьков, Украина

Реферат

Целью настоящего исследования явилось совершенствование ранней диагностики пораже- ния сердечно-сосудистой системы у подростков с гипоталамическим синдромом пубертатного периода и артериальной гипертензией. Известно, что гипоталамический синдром является наиболее распространенной эндокринной патологией пубертатного периода. Данный синдром протекает на фоне гипоталамо-гипофизарной дисфункции и характеризуется возрастной нейроэндокринной перестройкой подросткового организма. При гипоталамическом синдроме наблюдаются нарушения углеводного и липидного обменов, а также ожирения различной сте- пени. В структуру гипоталамического синдрома входит и артериальная гипертензия, которая зачастую встречается у половины пациентов с этим синдромом. При отсутствии должных методов наблюдения и лечения синдрома, он может принимать прогрессирующее течение с развитием стойкой артериальной гипертензии, абдоминального типа ожирения, формирова- нием метаболических нарушений, что в будущем может способствовать поражению органов- мишеней. Поэтому важно проводить соответсвующую диагностику у подростков с гипота- ламическим синдромом пубертатного периода и артериальной гипертензией с целью своевре- менной профилактики поражения у них сердечно-сосудистой системы. Авторами изучен полиморфизм гена эндотелиальной синтазы оксида азота – 4/5-кратный повтор 27 нуклеотидных пар в интроне 4 (4b,4a) – у подростков с гипоталамическим синдро- мом пубертатного периода и артериальной гипертензией. Определен уровень гомоцистеина в сыворотке крови у подростков с гипоталамическим син- дромом пубертатного периода при различном генотипе. Следует отметить, что высокий уро- вень гомоцистеина в сыворотке крови выявлен у подростков c гипоталамическим синдромом пубертатного периода и генотипами 4b/4b, 4b/4a. Исходя из этого, можно заключить, что пациенты с поименованными генотипами относятся к группе повышенного риска по разви- тию сосудистых осложнений, обусловленных влиянием гипергомоцистеинемии. Выявлено также, что подростки с генотипом 4a/4a имеют наиболее высокие значения инсулина сыворотки крови, триглицеридов и липопротеидов очень низкой плотности. Этот факт заслуживает внимания, так как именно гиперинсулинемия является ранним маркером формирования инсулинорезистентности, что, в свою очередь, приводит к нарушениям липид- ного спектра крови. Выше изложенное позволяет заключить, что подростки с гипоталамиче- ским синдромом пубертатного периода и генотипом 4a/4a относятся к группе повышенного риска по развитию атеросклероза и прогрессированию метаболических нарушений. Ключевые слова: полиморфизм гена, эндотелиальная NO-синтаза, подростки, артериальная гипертензия. Address for Correspondence: Department of Pediatrics No. 1 with Neonatology 5, Muranova Street, Kharkiv, 61093, Ukraine Tel./Fax (+057) 777-37-81 E-mail: konovalova1972@mail.ru Введение Достижения современной генетики в последние десятилетия создали возможность поиска кандидат- ных генов, кодирующих предрасположенность к различным заболеваниям. Одним из генов-кандида- тов, определяющих развитие сердечно-сосудистых заболеваний, признан ген синтазы оксида азота (NO) 3-го типа (eNOS-3). Ген eNOS-3 кодирует фер- мент – синтазу окиси азота, функцией которого яв- ляется выработка NO. Последний относится к наи- более важным биологическим медиаторам, уча- ствует во множестве физиологических и патофизио- логических процессах. Так, NO принимает участие в расслаблении гладкой мускулатуры сосудов, регу- ляции их роста, передаче нервных импульсов, сни- жении адгезии тромбоцитов, иммунных реакциях и др [Karvonen J et al., 2002; Persu A et al., 2002]. NO вырабатывается из L-аргинина при участии фер- мента NO-синтазы, три формы которого кодиру- ются разными генами [Котовская ЮВ и соавт., 2002; Persu A et al., 2002]. Эндотелиальная NO- синтаза является продуктом гена eNOS-3, располо- женного на хромосоме 7q36. Полиморфизм гена eNOS-3 в 4-ом интроне представлен двумя алле- лями: аллелем b, в котором имеются 5 повторяю- щихся фрагментов размером 27 нуклеотидных пар, и аллелем а, в котором только 4 таких повтора. Из- вестно, что в популяции значительно чаще встреча- ются аллели с пятью повторами, чем с четырьмя [Котовская ЮВ и соавт., 2002]. У лиц, гомозигот- ных по редкому аллелю, имеющих генотип 4а/4а по- вышен уровень нитратов и нитритов в крови, напря- мую связанный со скоростью выработки NO эндо- телием сосудов [Мищенко ЛА, 2006]. Данное явле- ние свидетельствует о потенциальной генетической роли генотипа 4а/4а как фактора риска развития атеросклероза и заболеваний, приводящих к нару- шению нормальной выработки NO. Достоверно большая частота аллеля а (4 повтора) выявлена у больных инфарктом миокарда по сравнению со здо- ровыми людьми в японской (р=0,007) и корейской (р=0,00487) популяциях [Persu A et al., 2002]. Обна- ружена достоверно большая частота аллеля а у па- циентов с эссенциальной гипертонией в японской популяции, в группе больных с артериальной гипер- тензией и гипертрофией левого желудочка по срав- нению со здоровыми [Luma GB, Spiotta RT, 2006]. В доступной литературе нет данных о подоб- ных исследованиях среди пациентов детского воз- раста. В то же время, необходимо отметить, что сердечно-сосудистая патология остается одной из ведущих причин инвалидности и смертности среди взрослого населения, причем значительное место в ее структуре занимает артериальная гипер- тензия (АГ), протекающая зачастую в сочетании с ожирением [Майданник ВГ, 2006; Мищенко ЛА, 2006; Кисляк ОА, 2009; Сиренко ЮН, 2010; Luma GB, Spiotta RT, 2006]. Количество детей, больных ожирением, в мире удваивается каждые три деся- тилетия и за последние 20 лет распространен- ность ожирения среди подростков от 12 до 19 лет возросла почти в 3 раза (с 5 до 14%) [Сиренко ЮН, 2010]. Зафиксирован рост частоты гипоталамиче- ского синдрома пубертатного периода (ГСПП), включающего ожирение различной степени, АГ, нарушения углеводного и липидного обменов [Кисляк ОА, 2009; Beaudin AE, Stover PJ, 2007]. Установлено, что почти у 1/3 детей и подростков с ГСПП АГ “переходит” во взрослый период жизни [Майданник ВГ, 2006]. Вышеизложенное диктует целесообразность и перспективность изучения полиморфизма гена эн- дотелиальной синтазы оксида азота у подростков с избыточной массой тела и артериальной гипертен- зией, что расширит возможности индивидуального наблюдения и своевременной профилактики раз- вития сердечно-сосудистых осложнений. Перспек- тивно также изучение взаимосвязи различных ва- риантов генотипа и уровня гомоцистеина сыво- ротки крови у подростков с АГ, поскольку послед- ний так же отнесен к независимым модифицируе- мым факторам риска сердечно-сосудистых заболе- ваний [Шевченко ОП, Олефриенко ГА, 2002]. Материалы и методы Для решения поставленной задачи на базе КУОЗ Областной детской клинической больницы и кафедры педиатрии и неонатологии №1 ХНМУ обследовано 101 подростков (88,1±3,1% мальчи- ков и 11,9±3,2% девочек) в возрасте от 14 до 17 лет (средний возраст 15,8±0,66). Все пациенты были разделены на III группы в соответствии с ге- нотипом. При изучении полиморфизма гена эндо- телиальной синтазы оксида азота, у обследован- ных установлено наличие следующих генотипов: I группа– генотип 4b/4b у 47 подростков (46,5±7,3%), II группа – генотип 4b/4а у 43 детей (42,5±7,6%) и III группа – генотип 4а/4а у 11 под- ростков (11±9,9%). Все подростки поступили на обследование в связи с наличием у них в анамнезе указаний на эпизоды повышения артериального давления (АД). Изучены данные анамнеза и клиники, оценено физическое развитие с определением объема талии (ОТ), объема бедер (ОТ), абдоминального ожирения (соотношение ОТ/ОБ), индекса массы тела (ИМТ). С целью верификации изменений АД и уточнения диагноза проведено суточное мони- торирование артериального давления (СМАД) с помощью аппарата “Mdplus” (Россия). Диагноз артериальной гипертензии устанавливался в соот- ветствии с Международной классификацией бо- лезней (МКБ) 10 (шифр I-15.2). Изучено состоя (NO) 3-го типа (eNOS-3). Ген eNOS-3 кодирует фер- мент – синтазу окиси азота, функцией которого яв- ляется выработка NO. Последний относится к наи- более важным биологическим медиаторам, уча- ствует во множестве физиологических и патофизио- логических процессах. Так, NO принимает участие в расслаблении гладкой мускулатуры сосудов, регу- ляции их роста, передаче нервных импульсов, сни- жении адгезии тромбоцитов, иммунных реакциях и др [Karvonen J et al., 2002; Persu A et al., 2002]. NO вырабатывается из L-аргинина при участии фер- мента NO-синтазы, три формы которого кодиру- ются разными генами [Котовская ЮВ и соавт., 2002; Persu A et al., 2002]. Эндотелиальная NO- синтаза является продуктом гена eNOS-3, располо- женного на хромосоме 7q36. Полиморфизм гена eNOS-3 в 4-ом интроне представлен двумя алле- лями: аллелем b, в котором имеются 5 повторяю- щихся фрагментов размером 27 нуклеотидных пар, и аллелем а, в котором только 4 таких повтора. Из- вестно, что в популяции значительно чаще встреча- ются аллели с пятью повторами, чем с четырьмя [Котовская ЮВ и соавт., 2002]. У лиц, гомозигот- ных по редкому аллелю, имеющих генотип 4а/4а по- вышен уровень нитратов и нитритов в крови, напря- мую связанный со скоростью выработки NO эндо- телием сосудов [Мищенко ЛА, 2006]. Данное явле- ние свидетельствует о потенциальной генетической роли генотипа 4а/4а как фактора риска развития атеросклероза и заболеваний, приводящих к нару- шению нормальной выработки NO. Достоверно большая частота аллеля а (4 повтора) выявлена у больных инфарктом миокарда по сравнению со здо- ровыми людьми в японской (р=0,007) и корейской (р=0,00487) популяциях [Persu A et al., 2002]. Обна- ружена достоверно большая частота аллеля а у па- циентов с эссенциальной гипертонией в японской популяции, в группе больных с артериальной гипер- тензией и гипертрофией левого желудочка по срав- нению со здоровыми [Luma GB, Spiotta RT, 2006]. В доступной литературе нет данных о подоб- ных исследованиях среди пациентов детского воз- раста. В то же время, необходимо отметить, что сердечно-сосудистая патология остается одной из ведущих причин инвалидности и смертности среди взрослого населения, причем значительное место в ее структуре занимает артериальная гипер- тензия (АГ), протекающая зачастую в сочетании с ожирением [Майданник ВГ, 2006; Мищенко ЛА, 2006; Кисляк ОА, 2009; Сиренко ЮН, 2010; Luma GB, Spiotta RT, 2006]. Количество детей, больных ожирением, в мире удваивается каждые три деся- тилетия и за последние 20 лет распространен ность ожирения среди подростков от 12 до 19 лет возросла почти в 3 раза (с 5 до 14%) [Сиренко ЮН, 2010]. Зафиксирован рост частоты гипоталамиче- ского синдрома пубертатного периода (ГСПП), включающего ожирение различной степени, АГ, нарушения углеводного и липидного обменов [Кисляк ОА, 2009; Beaudin AE, Stover PJ, 2007]. Установлено, что почти у 1/3 детей и подростков с ГСПП АГ “переходит” во взрослый период жизни [Майданник ВГ, 2006]. Вышеизложенное диктует целесообразность и перспективность изучения полиморфизма гена эн- дотелиальной синтазы оксида азота у подростков с избыточной массой тела и артериальной гипертен- зией, что расширит возможности индивидуального наблюдения и своевременной профилактики раз- вития сердечно-сосудистых осложнений. Перспек- тивно также изучение взаимосвязи различных ва- риантов генотипа и уровня гомоцистеина сыво- ротки крови у подростков с АГ, поскольку послед- ний так же отнесен к независимым модифицируе- мым факторам риска сердечно-сосудистых заболе- ваний [Шевченко ОП, Олефриенко ГА, 2002]. Материалы и методы Для решения поставленной задачи на базе КУОЗ Областной детской клинической больницы и кафедры педиатрии и неонатологии №1 ХНМУ обследовано 101 подростков (88,1±3,1% мальчи- ков и 11,9±3,2% девочек) в возрасте от 14 до 17 лет (средний возраст 15,8±0,66). Все пациенты были разделены на III группы в соответствии с ге- нотипом. При изучении полиморфизма гена эндо- телиальной синтазы оксида азота, у обследован- ных установлено наличие следующих генотипов: I группа– генотип 4b/4b у 47 подростков (46,5±7,3%), II группа – генотип 4b/4а у 43 детей (42,5±7,6%) и III группа – генотип 4а/4а у 11 под- ростков (11±9,9%). Все подростки поступили на обследование в связи с наличием у них в анамнезе указаний на эпизоды повышения артериального давления (АД). Изучены данные анамнеза и клиники, оценено физическое развитие с определением объема талии (ОТ), объема бедер (ОТ), абдоминального ожирения (соотношение ОТ/ОБ), индекса массы тела (ИМТ). С целью верификации изменений АД и уточнения диагноза проведено суточное мони- торирование артериального давления (СМАД) с помощью аппарата “Mdplus” (Россия). Диагноз артериальной гипертензии устанавливался в соот- ветствии с Международной классификацией бо- лезней (МКБ) 10 (шифр I-15.2). Изучено состоя ние сердечно-сосудистой системы (ССС) методом допплерэхокардиографии по стандартной мето- дике, рекомендованной Ассоциацией специали- стов по эхокардиографии [Воробьев АС, 2010]; проведено ЭКГ исследование. Полиморфизм гена эндотелиальной синтазы оксида азота изучался с помощью полимеразной цепной реакции. Иссле- дование уровня гомоцистеина сыворотки крови у пациентов с различным генотипом осуществля- лось методом иммуноферментного анализа на ав- томатическом биохимическом анализаторе “Cobas c111 Roche” (Германия), реагенты “Human” (Гер- мания). Уровень иммунореактивного инсулина в сыворотке крови был определен методом иммуно- ферментного анализа на автоматическом биохи- мическом анализаторе “Cobas c111 Roche” (Гер- мания), реагенты “DRG” (Германия). Липидный спектр крови изучался также методом иммуно- ферментного анализа на автоматическом биохи- мическом анализаторе “Cobas c111 Roche” (Гер- мания), реагенты “Roche” (Германия). Статисти- ческая обработка данных проводилась с помощью STATISTICA-6 с применением параметрических и непараметрических методов. Результаты и их обсуждение При анализе клинических симптомов у паци- ентов с различным генотипом выявлено, что жа- лобы на наличие эпизодов повышения артериаль- ного давления присутствовали у 90% детей, неза- висимо от генотипа. Наличие головных болей и кардиалгий отмечалось у 67,4% обследованных. При анализе антропометрических показателей различий по показателям роста у пациентов с раз- личным генотипом не выявлено. Установлено на- личие абдоминального типа ожирения и нараста- ние ИМТ у детей с генотипом 4а/4а (p=0,01). Кроме того, в группе подростков с генотипом 4а/4а преобладали стабильные формы артериаль- ной гипертензии. При анализе уровня гомоцистеина в сыворотке крови установлены достоверные различия между группами пациентов с различным генотипом (р=0,0001) (рис. 1). Так, уровень гомоцистеина сыворотки крови составил: у пациентов с генотипом 4b/4b – ME=11,8 (LQ (25%) – 6,9; UQ (75%) – 17,3) мкмоль/л; 4b/4а – ME=12,2 (LQ (25%) – 7,9; UQ (75%) – 19,3) мкмоль/л; 4а/4а – ME=2,9 (LQ (25%) – 2,5; UQ (75%) – 4,6) мкмоль/л. Достоверные от- личия уровня гомоцистеина установлены для па- циентов с генотипом 4а/4а (р=0,0001), что можно объяснить с позиций его взаимосвязи с концен- трацией внутриклеточного NO. Известно, что повышение уровня гомоцисте- ина связано с оксидационным стрессом, так как данная аминокислота является предшественни- ком главного клеточного антиоксидантного сое- динения – глутатиона. В результате оксидацион- ного стресса образуются свободные радикалы, которые изменяют течение окислительно-восста- новительных процессов внутри клетки и приво- дят к развитию апоптоза [Coppola A et al., 2002]. С другой стороны, эндогенный NO может регулиро- вать метильный цикл потоком железа и активиро- ванием цистатион-β-синтазы. Это доказано иссле- дованиями последних лет, показавшими, что уменьшение концентрации внутриклеточного NO увеличивает гомеостаз железа и указывает на от- рицательную корреляцию между эндогенным NO и внутриклеточным уровнем железа [Шевченко ОП, Олефриенко ГА, 2002]. Иными словами, NO вы- зывает супрессию прооксидантных и проапоптоз- ных эффектов церамида, сохраняя гомеостаз вну- триклеточного железа. Логично предположить, что понижение уровня оксида азота изменяет метильный цикл. Оксида- ционный стресс, прямо или с помощью редокс- чувствительных транскрипционных факторов, может изменить активность цистатион-β-синтазы и метионинсинтазы, что переключает пути ме- тильного цикла с реметилирования на транссуль- фирование, сохраняя внутриклеточный резерв глутатиона с помощью адаптационных процес- сов, которые важны для жизнеспособности кле- ток. Вышеизложенное объясняет выявление наи меньшего содержания гомоцистеина в сыворотке крови у пациентов с генотипом 4а/4а. Также установлены достоверные различия между показателями пациентов с различным ге- нотипом по уровню триглицеридов .

Повышение уровня триглицеридов и липопро- теидов очень низкой плотности у подростков с генотипом 4а/4а вероятнее всего может привести к дестабилизации сосудистой стенки в условиях оксидативного стресса и приводить к прогресси- рованию артериальной гипертензии. Таким образом, повышение инсулина в сыво- ротке крови у пациентов с генотипом 4а/4а отра- жает неблагоприятное влияние гиперинсулинемии (ГИ) на сосудистую стенку. Это приводит к серии метаболических нарушений, конечным результатом которых является прогрессирование атеросклероза [Karvonen J et al., 2002; Persu A et al., 2002]. Анализ результатов проведенных исследова- ний позволяет сделать следующие выводы: Определение уровня гомоцистеина в сыво- ротке крови как независимого модифицируемого фактора риска сердечно-сосудистых заболеваний и изучение полиморфизма гена эндотелиальной синтазы оксида азота целесообразно проводить у подростков с артериальной гипертензией и избы- точной массой тела с целью прогнозирования и своевременной профилактики осложнений арте- риальной гипертензии.

Достоверные отличия уровня гомоцистеина в сыворотке крови, установленные у пациентов с генотипом 4а/4а (р=0,0001), а также выявленные у обследованных данной группы изменения уровня триглицеридов . Считаем перспективным продолжение иссле- дований в данном направлении с целью уточне- ния прогностических факторов поражения сер- дечно-сосудистой системы у подростков с избы- точной массой тела и артериальной гипертензией.