

ОБЩАЯ ПАТОЛОГИЯ И ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ

СОДЕРЖАНИЕ ПЕПТИДА HLDF24 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КАК ОБЪЕКТИВНЫЙ ПОКАЗАТЕЛЬ РАЗВИТИЯ ПРЕДГИПЕРТОНИИ

В.В.Шерстнёв¹, М.А.Грудень¹, В.П.Карлина²,
В.М.Рыжков², А.В.Кузнецова³, О.В.Сенько⁴

¹ФГБНУ НИИ нормальной физиологии им. П.К.Анохина, Москва, РФ; ²ФГБУЗ МС Санитарная часть № 170 ФМБА России, Москва; ³ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М.Эмануэля РАН, Москва, РФ; ⁴Вычислительный центр им. А.А.Давидовича РАН ФИЦ "Информатика и управление" РАН, Москва, РФ

Исследовали содержание ряда ключевых факторов молекулярного патогенеза предгипертонии: пептидов ангиотензина II, HLDF24, белков S100b, эндотелина и аутоантител к ним, а также VEGF в сыворотке крови у лиц с "оптимальным" АД (АД < 120/80 мм рт. ст.) и предгипертонией (АД 120-139/80-89 мм рт. ст.). Выполнен сравнительный и корреляционный анализ содержания молекулярных факторов. Обнаружено статистически значимое снижение уровня HLDF24 при предгипертонии по сравнению с оптимальным АД. Выявлены особенности взаимосвязи исследованных факторов при оптимальном АД и предгипертонии. Рассмотрены механизмы, лежащие в основе выявленной ассоциации содержания пептида HLDF24 в сыворотке крови с развитием предгипертонии.

Ключевые слова: биомаркеры, предгипертония, оптимальное артериальное давление, пептид HLDF24

Профилактика и лечение предгипертонии (ПГ) у лиц, имеющих АД 120/80-139/89 мм рт. ст., является актуальной медико-социальной проблемой, которая обусловлена распространённостью и "омоложением" ПГ, значимо более высокими рисками развития артериальной гипертонии (АГ) и других сердечно-сосудистых заболеваний, а также их осложнений и смертности по сравнению с лицами с "оптимальным" АД (менее 120/80 мм рт. ст.) [1, 11]. Перспективным аспектом исследований указанной проблемы является поиск и характеристика молекулярных маркеров риска возникновения и прогноза развития ПГ. В качестве потенциальных молекулярных биомаркеров рассматриваются факторы-участники ключевых звеньев молекулярного патогенеза АГ и ПГ. В настоящее время к ним относятся нарушение ангиотензин-ренин-альдостероновой

системы, эндотелиальную дисфункцию, провоспаления, атеросклероза и аутоиммунные реакции [8, 9]. Ранее нами проведено исследование ряда факторов, вовлечённых в регуляцию указанных молекулярных событий: ангиотензин II (AngII), пептида HLDF24, эндотелина, белка S100b. Полученные результаты характеризуют данные факторы как потенциальные прогностические биомаркеры АГ [7].

Учитывая современные знания о механизмах патогенеза ПГ, представляется актуальным и перспективным исследовать выявленные биомаркеры АГ в качестве возможных молекулярных маркеров развития ПГ.

Цель данной работы — исследовать содержание AngII, пептида HLDF24, эндотелина, белка S100b и AT к ним, а также VEGF в сыворотке крови у лиц с "оптимальным" АД и ПГ и проанализировать взаимосвязь их содержания при "оптимальном" АД и

Адрес для корреспонденции: sherstnev.vv@yandex.ru. Шерстнёв В.В.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено в сформированной при плановом диспансерном обследовании когорте: 115 человек (49 мужчин и 65 женщин, средний возраст — 47.6 ± 0.7 лет). По результатам измерения АД были выделены группы с "оптимальным" АД (АД < 120/80 мм рт. ст.) и ПГ (диапазон АД 120/80–139/89 мм рт. ст.), что соответствует категориям "нормальное" АД и "высокое нормальное" АД [3]. Содержание HLDF24 (нг/мл), S100b (нг/мл) и уровень АТ к ним, выраженный в титрах, определяли методом гетерогенного твердофазного ИФА [4,7]. Концентрация AngII (пг/мл), эндотелина (пмоль/л) и VEGF (пг/мл) определяли методом конкурентного ИФА с использованием коммерческих наборов (RayBiotech, Inc.; Biomedica). Титры антител к AngII и эндотелину выявляли с помощью ИФА, используя синтетический конъюгат AngII с БСА и очищенный препарат эндотелина (Sigma).

Исследование одобрено комиссией по этике ФГБНУ НИИ нормальной физиологии им. П.К.Анохина и выполнено в соответствии с Хельсинкской декларацией, Рекомендациями для врачей, занимающихся биомедицинскими исследованиями с участием людей (ВМА).

Статистический и корреляционный анализ (коэффициент корреляции Спирмена) полученных результатов проводили по алгоритму пакета программ Statistica 8.0 с оценкой статистической значимости различий между группами с помощью t критерия Стьюдента и U критерия Манна—Уитни. Для сравнительного изучения межгрупповых различий использовался оригинальный метод оптимальных достоверных разбиений (ОРД) с оценкой значимости по каждому из показателей с помощью рандомизированного перестановочного теста [6]. Критическое значение уровня гипотез принималось равным 0.05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При сравнительном анализе содержания исследованных факторов в сыворотке крови обследованных с ПГ и с оптимальным АД выявлено статистически высокозначимое ($p < 0.0001$) снижение концентрации пептида HLDF24 и слабая тенденция к увеличению титров АТ к S100b. Достоверных различий между группами в содержании других изученных молекулярных факторов обнаружено не было (табл. 1).

Анализ с использованием метода ОДР подтверждает полученные результаты: высокозначимые различия по содержанию HLDF24 (перестановочный тест $p < 0.0003$, U критерий $p < 0.0001$). В группе ПГ уровень HLDF24 ниже 86 нг/мл наблюдался в абсолютном числе случаев (38 наблюдений против 1 случая из группы оптимального АД), тогда как в группе оптимального АД преобладал уровень HLDF24 выше 86 нг/мл (50 наблюдений при отсутствии таковых в группе ПГ). При этом выявлены межгрупповые различия на уровне тенденции в титрах АТ к S100b (перестановочный тест $p < 0.164$, U критерий $p < 0.09$) (табл. 2).

Ранее нами не было обнаружено достоверных различий в содержании HLDF24 в сыворотке крови между группами лиц с оптимальным АД, "нормальным" и "высоким нормальным" АД. Вместе с тем содержание AngII и эндотелина и АТ к HLDF24 было значимо повышено, а титры АТ к AngII снижены у лиц с "высоким нормальным" АД по сравнению с лицами с оптимальным и "нормальным" АД [7]. Указанная противоречивость полученных данных обусловлена различиями в количественном составе групп с оптимальным АД в наших работах ($N=60$ и $N=18$), а также тем, что сравнительный анализ в работе [7] проводили между тремя группами: оптимальное АД, "нормальное" АД и "высокое нормальное" АД. В данной работе лица с "нормальным" АД

Таблица 1. Содержание молекулярных факторов в сыворотке крови у лиц с "оптимальным" АД и ПГ

Показатель	ПГ		Оптимальное АД	
	N	среднее значение	N	среднее значение
Белок S100b, нг/мл	38	84.10	51	103.02
Эндотелин, пмоль/л	38	0.98	51	0.5731
VEGF, пг/мл	38	547.23	51	610.88
Пептид AngII, пг/мл	38	22.98	51	29.57
Пептид HLDF24, нг/мл	38	60.34	51	104.28*
АТ к S100b, титр	50	1:373	67	1:255.23
АТ к AngII, титр	50	1:499	67	1:425.37
АТ к эндотелину, титр	50	1:142.0	67	1:150.75
АТ к HLDF24, титр	50	1:153.0	67	1:246.26

Примечание. * $p=0.0001$ по сравнению с группой ПГ.

Таблица 2. Содержание молекулярных факторов в сыворотке крови у лиц с "оптимальным" АД (О) (данные одномерного анализа методом ОДР)

Показатель	Граница	Ниже границы		Выше границы		F	ОДР
		ОП	ПГ	ОП	ПГ		
Белок S100b, нг/мл	159.05	45	38	6	0	4.74	0.33
Пептид AngII, пг/мл	3.23	2	0	49	38	1.51	1
Эндотелин, пмоль/л	8.84	51	36	0	2	2.71	0.75
VEGF, пг/мл	142	5	0	46	38	3.9	0.59
Пептид HLDF24, нг/мл	86	1	38	50	0	84.0	0.0003
АТ к S100b, титр	350	52	30	15	20	4.2	0.16
АТ к AngII, титр	150	36	23	31	27	0.67	1
АТ к эндотелину, титр	1200	66	50	1	0	0.75	1
АТ к HLDF24, титр	600	59	48	8	2	2.29	0.45

и "высоким нормальным" АД составили единую группу ПГ. Следует отметить, что риск развития АГ и других сердечно-сосудистых заболеваний, их осложнений и смертности у пациентов с "высоким нормальным" АД достоверно возрастает, в отличие от лиц с "нормальным" АД [10, 12]. В 2017 г. Американская кардиологическая ассоциация опубликовала руководство по лечению АГ, в котором диапазон АД, соответствующий категории "высокое нормальное" АД, классифицируется как артериальная гипертензия I степени [13].

Корреляционный анализ выявил особенности взаимосвязи между показателями содержания определённых молекулярных факторов у лиц с оптимальным АД и ПГ. Показано наличие четырёх достоверных положительных корреляций, общих для исследованных групп: АТ к S100b и АТ к AngII; АТ к AngII и АТ к HLDF24; AngII и АТ к HLDF24; АТ к AngII и эндотелин (табл. 3). При этом группа ПГ характеризовалась более сильными и статистически значимыми связями (АТ к S100b и АТ к AngII $r=0.4$, $p=0.004$ и AngII и АТ к HLDF24 $r=0.46$, $p=0.004$) по сравнению с группой с оптимальным АД ($r=0.13$, $p<0.31$ и $r=0.02$, $p<0.87$ соответственно). Группа с оптимальным АД по сравнению с группой ПГ имела более сильную и значимую корреляцию АТ к AngII и АТ к HLDF24 ($r=0.47$, $p=0.0001$ и $r=0.11$, $p<0.44$). Результаты корреляционного анализа свидетельст-

вуют об усилении в группе ПГ позитивного взаимодействия между факторами, обладающими наиболее выраженными вазоконстрикторными эффектами, а также пролиферативными эффектами (AngII и эндотелин). Выявлено также усиление взаимосвязи, опосредующей нейроиммунную активацию ренин-ангиотензиновой системы (АТ к S100b и АТ к AngII), и ослабление положительной взаимосвязи между АТ к молекулярным факторам (АТ к AngII и АТ к HLDF24). Таким образом, полученные данные отражают, по-видимому, ключевые молекулярные события при формировании ПГ.

Пептид HLDF24, высокозначимое снижение которого мы наблюдали, является пептидным компонентом белка HLDF. Экспериментально подтверждено, что гемодинамическая активность HLDF24: при внутривенном введении пептид вызывает дозозависимую гипотензию и рефлекторное повышение ЧСС. Увеличение дозы HLDF24 инициирует появление ранней гипертензивной фазы, предшествующей гипотензии. Предполагают, что гипертензивная фаза обусловлена действием пептидного компонента HLDF24 — 8-членного пептида HLDF24 в качестве одного из механизмов гемодинамической активности HLDF24 рассматривают возможность пептида выступать в роли антагониста эндотелина, превращающего фермента и снижать тем-

Таблица 3. Корреляционные взаимосвязи (коэффициент ранговой корреляции Спирмена) между содержанием молекулярных факторов в сыворотке крови у лиц с "оптимальным" АД и ПГ

Корреляция между показателями	"Оптимальное" АД	ПГ
АТ к S100b и АТ к AngII	0.13 ($p=0.31$)	0.40 ($p=0.004$)
АТ к AngII и АТ к HLDF24	0.47 ($p=0.001$)	0.11 ($p=0.44$)
AngII и АТ к HLDF24	0.26 ($p=0.069$)	0.16 ($p=0.34$)
AngII и эндотелин	0.02 ($p=0.87$)	0.46 ($p=0.004$)

образование эндогенного эндотелина, обладающего мощным вазоконстрикторным действием [5]. Другим механизмом биологической активности HLDF24 может являться его способность влиять на уровень половых гормонов. Учитывая высокую иммуногенность HLDF24, полагают, что его эффекты могут опосредоваться аутоиммунными процессами [2].

Полученные нами результаты и имеющиеся данные о гемодинамической активности и механизмах действия HLDF24 позволяют полагать, что для поддержания оптимального АД необходим определённый уровень взаимодействующих молекулярных факторов, вовлечённых в ключевые звенья основных систем регуляции АД. Одним из таких факторов является пептид HLDF24, снижение содержания которого вызывает нарушение межсистемной регуляции АД на молекулярном уровне, инициируя развитие ПГ. Для лиц с ПГ исследованного возраста критическим уровнем является содержание HLDF24 в сыворотке крови в пределах 86 нг/мл, о чём свидетельствуют данные анализа с использованием метода ОДР. Полученные результаты дают основание рассматривать содержание пептида HLDF24 в сыворотке крови в качестве объективного показателя формирования ПГ.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 17-06-00707-ОГН).

ЛИТЕРАТУРА

1. Барбараш Н.А., Кувшинов Д.Ю. Актуальные проблемы предгипертензии // *Фундамент. и клин. медицина*. 2016. Т. 1, № 1. С. 73-77.
2. Гапон М.В., Драницына С.М., Минкевич Н.И., Грудень М.А., Бабиченко И.И., Костянян И.А. Экспериментальная модель геморрагического инсульта: иммунизация кроликов фактором дифференцировки промиелоцитарных клеток линии HL-60 // *Бюл. экспер. биол.* 2006. Т. 141, № 2. С. 237-240.
3. *Диагностика и лечение артериальной гипертензии (клинические рекомендации)* // *Кардиол. вестник*. 2015. Т. 10, № 1, С. 3-30.
4. Елистратова Е.И., Грудень М.А., Давыдова Т.В., Шерстнев В.В. Особенности иммунобиохимических показателей у пациентов с различными цереброваскулярными заболеваниями гипертензивного генеза // *Патол. физиол. и экспер. тер.* 2011. № 3. С. 25-28.
5. Ржевский Д.И., Драницына С.М., Байдакова Л.К., Мурашев А.Н., Костянян И.А. Гемодинамические эффекты пептидных фрагментов фактора дифференцировки HLDF // *Бюл. экспер. биол.* 2006. Т. 141, № 6. С. 652-655.
6. Сенько О.В., Морозов А.М., Кузнецова А.В., Клименко Л.Л. Оценка эффекта множественного тестирования в методе оптимальных достоверных разбиений // *Машинное обучение и анализ данных*. 2016. Т. 2, № 1. С. 26-38.
7. Шерстнев В.В., Грудень М.А., Елистратова Е.И., Карлина В.П., Кузнецова А.В., Рыжова Т.В., Рыжов В.М., Сенько О.В. Молекулярные маркеры артериальной гипертензии у пациентов с нормотонией, предгипертензией и гипертензией // *Бюл. экспер. биол.* 2014. Т. 158, № 11. С. 549-551.
8. Albarwani S., Al-Siyabi S., Tanira M.O. Prehypertension: Underlying pathology and therapeutic options // *World J. Cardiol.* 2014. Vol. 6, N 8. P. 728-743.
9. Assadi F. Prehypertension: A warning sign of future cardiovascular risk // *Int. J. Prev. Med.* 2008. Vol. 5, Suppl. 1. P. S4-S9.
10. Egan B.M., Stevens-Fabry S. Prehypertension – prevalence, health risks, and management strategies // *Nat. Rev. Cardiol.* 2015. Vol. 12, N 5. P. 289-300.
11. Huang Y., Su L., Cai X., Mai W., Wang S., Hu Y., Wu Y., Tang H., Xu D. Association of all-cause and cardiovascular mortality with prehypertension: a meta-analysis // *Am. Heart J.* 2014. Vol. 167, № 2. P. 160-168.e1.
12. Liszka H.A., Mainous A.G.3rd, King D.E., Everett C.J., Egan B.M. Prehypertension and cardiovascular morbidity // *Ann. Fam. Med.* 2005. Vol. 3, N 4. P. 294-299.
13. Whelton P.K., Carey R.M., Aronow W.S., Casey D.E.Jr, Collins K.J., Dennison Himmelfarb C., DePalma S.M., Gidding S., Jamerson K.A., Jones D.W., MacLaughlin E.J., Muntner P., Ovbigele B., Smith S.C.Jr, Spencer C.C., Stafford R.S., Taler S.J., Thomas R.J., Williams K.A.Sr., Williamson J.D., Wright J.T.Jr. 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA Guideline for the Prevention, Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines // *Hypertension*. 2018. Vol. 71, N 6. P. e13-e115.

Получено 16.05.19