<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2023.03.54-58>

Ассоциация однонуклеотидного полиморфизма *Lys198Asn* гена эндотелина-1 с его концентрацией в сыворотке больных множественной миеломой

Мордвинова Е.В.¹, Сустретов А.С.², Миронова Т.П.¹, Давыдкин И.Л.¹, Наумова К.В.¹, Степанова Т.Ю.¹

1 – ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
443099 г. Самара, ул. Чапаевская, д.89

2 – Институт экспериментальной медицины и биотехнологий
443079, г. Самара, ул. Гагарина, д. 20

Множественная миелома (ММ) – гематологическое злокачественное новообразование, характеризующееся клональной пролиферацией патологических плазматиков. Пациенты с ММ имеют риск сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) на исходном уровне 54–74%. Важную роль в развитии и/или прогрессировании ССЗ играет эндотелиальная дисфункция (ЭД), в основе которой лежит дисбаланс, в частности, между синтезом и секрецией вазоконстрикторов и вазодилаторов. В связи с предиктивно-превентивной направленностью медицины актуальным стало изучение генетической предрасположенности к развитию ЭД. Нами была изучена связь генетических вариантов *EDN1* (rs5370) с концентрацией эндотелина-1 (ЭТ-1) в сыворотке крови у пациентов с впервые выявленной ММ до начала противоопухолевой терапии. В результате исследования было выявлено следующее распределение генетических вариантов в исследуемой группе: доля гомозигот по варианту дикого типа составила 13,64%, по минорному варианту – 29,55%, доля гетерозигот – 56,82%. В контрольной группе распределение было следующим: 40,00%, 24,44% и 35,56%, соответственно. У больных ММ наблюдалась более высокая концентрация ЭТ-1 в сыворотке при сравнении с пациентами без ММ.

Ключевые слова: однонуклеотидный полиморфизм, *Lys198Asn*, эндотелин-1, множественная миелома.

Для цитирования: Мордвинова Е.В., Сустретов А.С., Миронова Т.П., Давыдкин И.Л., Наумова К.В., Степанова Т.Ю. Ассоциация однонуклеотидного полиморфизма *Lys198Asn* гена эндотелина-1 с его концентрацией в сыворотке больных множественной миеломой. *Медицинская генетика* 2023; 22(3): 54–58.

Автор для корреспонденции: Мордвинова Е.В., e-mail: e.v.mordvinova@samsmu.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 10.03.2023

Association of single nucleotide polymorphism *Lys198Asn* of the endothelin-1 gene with it's concentration in the serum of multiple myeloma patients

Mordvinova E.V.¹, Sustrtov A.S.², Mironova T.P.¹, Davydkin I.L.¹, Naumova K.V.¹, Stepanova T.Yu.¹

1 – Samara State Medical University
89, Chapaevskaya st., Samara, 443099 Russian Federation

2 – Institute of Experimental Medicine and Biotechnology
20, Gagarina st., Samara, 443079, Russian Federation

Multiple myeloma (MM) is a hematological malignancy characterized by clonal proliferation of abnormal plasma cells. Patients with MM have a baseline cardiovascular disease (CVD) risk of 54–74%. An important role in the development and/or progression of CVD is played by endothelial dysfunction (ED), which is based on an imbalance, in particular, between the synthesis and secretion of vasoconstrictors and vasodilators. In connection with the predictive and preventive focus of medicine, it has become relevant to study the genetic predisposition to the development of ED. We have studied the association of genetic variants of endothelin-1 gene (rs5370) with the concentration of endothelin-1 (ET-1) in the blood serum of patients with newly diagnosed MM before the start of anticancer therapy. As a result of the study, the following distribution of genetic variants in the study group was revealed: the wild variant was 13.64%, the minor variant was 29.55%, and the heterozygous variant was 56.82%. While in the control group it was as follows: 40.00%, 24.44% and 35.56%, respectively. Patients with MM had higher serum ET-1 concentrations when compared with patients without MM.

Key words: single nucleotide polymorphism, *lys198asn*, endothelin-1, multiple myeloma.

For citation: Mordvinova E.V., Sustrtov A.S., Mironova T.P., Davydkin I.L., Naumova K.V., Stepanova T.Yu. Association of single nucleotide polymorphism *Lys198Asn* of the endothelin-1 gene with it's concentration in the serum of multiple myeloma patients. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]* 2023; 22(3): 54–58. (In Russ.)

Corresponding author: Mordvinova E.V., e-mail: e.v.mordvinova@samsmu.ru

Funding. The study was not sponsored.

Conflict of interest. The authors declare no conflicts of interest.

Accepted: 10.03.2023

Введение

Множественная миелома (ММ) – гематологическое злокачественное новообразование, характеризующееся клональной пролиферацией патологических плазматитов. В период с 1990 по 2016 гг. заболеваемость данной патологией во всем мире увеличилась на 126% [1]. За последние несколько десятилетий благодаря прогрессу в области лечения онкологических заболеваний отмечается существенное увеличение продолжительности жизни пациентов с ММ. Средняя общая выживаемость больных ММ оставалась стабильной на уровне 30 месяцев в течение 1990-х годов, увеличилась до 43 месяцев к 2008 году и к 2015 году достигла 60 месяцев [2]. Поскольку увеличилась выживаемость пациентов, основной причиной длительного пребывания в стационаре и смертности стали сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ). Пациенты с ММ имеют риск ССЗ на исходном уровне 54–74% [3]. Важную роль в развитии и/или прогрессировании ССЗ играет эндотелиальная дисфункция (ЭД), в основе которой лежит дисбаланс, в частности, между синтезом и секрецией вазоконстрикторов и вазодилататоров. В связи с предиктивно-превентивной направленностью медицины актуальным стало изучение генетической предрасположенности к развитию ЭД.

Кроме того, теперь, когда традиционная цитотоксическая химиотерапия наряду с молекулярно-направленной терапией и иммунотерапией улучшили показатели выживаемости, очень важно, что стало уделяться должное внимание побочным эффектам их применения [4]. Осложнения со стороны сердечно-сосудистой системы считаются наиболее выраженными, и чаще всего именно они приводят к увеличению смертности в данной когорте пациентов [5 - 7]. Механизм развития нежелательных явлений со стороны сердечно-сосудистой системы у пациентов с ММ еще не до конца изучен. Однако считается, что окислительный стресс и ЭД играют важную роль в патогенезе ССЗ [8, 9].

Эндотелий является активным органом, который играет решающую роль в поддержании сосудистого гомеостаза. Одной из самых важных функций эндотелия является поддержание баланса между вазодилата-

цией и вазоконстрикцией. Вазодилатация в основном опосредована оксидом азота (NO) и простаглицлином, в то время как вазоконстрикция осуществляется такими веществами, как ЭТ-1, ангиотензин II и тромбоксан A2 [10]. ЭТ-1 представляет собой пептид эндотелиального происхождения, обладающий мощными сосудосуживающими свойствами [11]. Также ЭТ-1 стимулирует окислительную активность системы NADH/NADPH, которая была определена как основной источник реактивных форм кислорода (РФК), способствующих снижению биодоступности NO и ЭД [12]. Таким образом, повышенное содержание ЭТ-1 в сыворотке считается важным фактором развития сосудистой дисфункции и ССЗ [11]. В связи с тем, что медицина в настоящее время развивается в направлении персонализированного подхода к лечению, актуальным является изучение генетических особенностей, предрасполагающих к увеличению содержания ЭТ-1.

Известно о нескольких единичных нуклеотидных полиморфизмах (SNP) гена *EDN1* [13], но только два из них считаются наиболее тесно связанными с развитием ССЗ – rs5370 и rs10478694 [14].

Цель работы – изучить влияние генетических вариантов *EDN1* (rs5370) на уровень ЭТ-1 в сыворотке крови у пациентов с впервые выявленной ММ до начала противоопухолевой терапии.

Методы

В проспективное когортное исследование были включены 99 человек с медианой возраста 60 ± 7 лет, сопоставимых по полу и возрасту. В исследуемую группу вошли 44 пациента с ММ IIА стадии по Durie-Salmon в сочетании с артериальной гипертензией 1 степени. Контрольная группа – 45 пациентов с артериальной гипертензией 1 степени без ММ. Все участники исследования относятся к европеоидной расе и проживают на территории г. Самары и Самарской области. Этническая принадлежность добровольцев устанавливалась на основании оценки генеалогии участника исследования по обеим родительским линиям до третьего поколения с помощью анкетирования. Длительность наблюдения состави-

ла 60±4 дня. Проводилась оценка содержания ЭТ-1 в сыворотке и однонуклеотидного полиморфизма Lys198Asn гена EDN1 (rs5370) методами метода ИФА и ПЦР. Исследования проводили с помощью лабораторного набора «CEA482Hu, Cloud-Clone Corp.» (США) и «SNP-ЭКСПРЕСС-КАРДИОГЕНЕТИКА» (Россия), соответственно. Исследование выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и прин-

ципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации. Протокол исследования одобрен этическим комитетом ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. От всех пациентов получено письменное информированное согласие. Статистический анализ данных выполнялся на компьютере под управлением операционной системы Microsoft Windows 10 с применением статистического пакета SPSS Statistics 26.0.

Таблица 1. Распределение генотипов Lys198Asn гена EDN1 (rs5370) в исследуемых группах.

Table 1. Distribution of Lys198Asn genotypes of the EDN1 gene (rs5370) in the studied groups.

Показатель	Генотип	Наличие ММ		P
		Исследуемая группа, n=44	Контрольная группа, n=45	
Lys198Asn EDN1 rs5370	LysLys	6 (13,64)	18 (40,00)	0,041*
	LysAsn	25 (56,82)	16 (35,56)	
	AsnAsn	13 (29,55)	11 (24,44)	

Примечание: * – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

Note: * - differences in indicators are statistically significant (p < 0.05)

Таблица 2. Соответствие частот аллелей и генотипов равновесию Харди-Вайнберга.

Table 2. Correspondence of allele and genotype frequencies to the Hardy-Weinberg equilibrium

	Категория	Исследуемая группа	Контрольная группа
Равновесие Харди-Вайнберга	LysLys	7,78 (17,68%)	15,02 (33,38%)
	LysAsn	21,44 (48,73%)	21,96 (48,79%)
	AsnAsn	14,78 (33,59%)	8,02 (17,83%)
P-value		0,2712	0,0688
Частота аллелей	Lys	37 (42,05%)	52 (57,78%)
	Asn	51 (57,95%)	38 (42,22%)

Таблица 3. Концентрация ЭТ-1 у носителей различных генотипов Lys198Asn EDN1 rs5370

Table 3. ET-1 concentration in carriers of different genotypes of Lys198Asn EDN1 rs5370

Показатель	Генотип	Эндотелин-1 (пг/мл)		P
		M ± SD	95% ДИ	
Lys198Asn EDN1 rs5370	LysLys	204,77 ± 91,04	162,14 – 247,39	0,000175* P _{AsnAsn – LysAsn} = 0,026000 P _{AsnAsn – LysLys} = 0,001000
	LysAsn	261,02 ± 90,63	234,13 – 290,82	
	AsnAsn	320,93 ± 83,84	277,33 – 355,54	

Примечание: * – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

Note: * - differences in indicators are statistically significant (p < 0.05)

Результаты

При сравнении групп по парному критерию Стьюдента были установлены существенные различия ($p < 0,001$). В основной группе концентрация ЭТ-1 составила $305,86 \pm 90,21$ пг/мл [95%; 276,03 – 329,68], в то время как в контрольной группе данный параметр составил $227,21 \pm 87,85$ пг/мл [95%; 200,81 – 253,51] при референсных значениях (8,5–45,1 пг/мл).

В результате анализа генотипов исследуемых групп на наличие полиморфизма в гене ЭТ-1 (Lys198Asn, rs5370) были выявлены статистически значимые различия между группами ($p=0,041$). Доли генотипов Lys198Asn гена ЭТ-1 (rs5370) представлены в табл. 1.

Не было выявлено отклонений от равновесия Харди-Вайнберга в распреждении частот аллелей и генотипов в исследуемых группах. Результаты представлены в табл. 2.

При анализе зависимости концентрации ЭТ-1 в сыворотке от варианта гена *EDN1* (rs5370) были выявлены статистически значимые различия (χ^2 Пирсона, $p=0,000175$). У гомозигот по варианту дикого типа концентрация ЭТ-1 составляла $204,77 \pm 91,04$ пг/мл [95%; 162,14 – 247,39], у гомозигот по минорному варианту – $320,93 \pm 83,84$ пг/мл [95%; 277,33 – 355,54] и у гетерозигот – $261,02 \pm 90,63$ [95%; 234,13 – 290,82]. Результаты оценки концентрации ЭТ-1 в сыворотке в зависимости от варианта Lys198Asn *EDN1* rs5370 представлены в табл. 3.

Обсуждение

В ранее опубликованных работах установлена ассоциация генотипа AsnAsn rs5370 с ССЗ и осложнениями [15, 16]. Как следует из табл. 1 в исследуемой группе наблюдалась большая частота генотипа LysAsn, который также ассоциирован с повышенной концентрацией плазменного ЭТ-1 по сравнению с контрольной группой.

По данным Varbeau и коллег, этот полиморфизм может чаще встречаться у больных с артериальной гипертензией (АГ) по сравнению с пациентами без неё [17]. Данный факт подтверждён исследованием Smiianova с соавт., в результате которого была выявлена ассоциация полиморфизма Lys198Asn гена эндотелина-1 с развитием артериальной гипертензии в украинской популяции. У носителей минорного аллеля (Lys/Asn+Asn/Asn) риск артериальной гипертензии в 1,7, а у гомозигот по Asn/Asn был в 3,9 раза вы-

ше, чем у лиц с генотипом Lys/Lys [18]. В российской популяции исследований сравнительной частоты аллелей полиморфизма rs5370 гена *EDN1* лиц с ММ в сочетании с артериальной гипертензией и у лиц с артериальной гипертензией не имеется.

Полученные результаты позволяют говорить о возможном влиянии генетического полиморфизма на формирование и/или прогрессирование сердечно-сосудистых осложнений у больных ММ. Исследованный SNP-маркер (rs5370) может использоваться для оценки предрасположенности к развитию сердечно-сосудистых осложнений у пациентов с ММ при формировании групп риска манифестации и/или прогрессирования сердечно-сосудистой патологии. Размер выборки и отсутствие данных об SNP других участников эндотелиновой системы, которые могли бы дополнить имеющуюся картину участия генетических факторов в ее работе, не позволяют на данном этапе сделать однозначные выводы об ассоциации с предрасположенностью к развитию сердечно-сосудистых осложнений, обусловленных ММ. Однако наличие достоверных различий даже на уровне одного участника эндотелиновой системы (ЭТ-1) демонстрирует целесообразность дальнейших исследований не только в области геномики, но и в рамках транскриптомики (исследовать экспрессию генов, метилирование, альтернативный сплайсинг), протеомики (изучение трансляции мРНК в белок) и метаболомики.

Заключение

У больных ММ наблюдается более высокая концентрация ЭТ-1 в сыворотке по сравнению с пациентами без ММ и более высокая доля гетерозигот и гомозигот по минорному аллелю Lys198Asn *EDN1* rs5370. У гетерозигот LysAsn концентрация ЭТ-1 в сыворотке увеличивается в среднем на 27,5%, а у гомозигот AsnAsn – в среднем на 56,7% относительно гомозигот LysLys.

Литература/References

1. Cowan A.J., Allen C., Barac A., et al. Global burden of multiple myeloma: a systematic analysis for the global burden of disease study 2016. *JAMA Oncology* 2018; 4 (9): 1221-7. DOI: 10.1001/jamaoncol.2018.2128
2. Offidani M., Corvatta L., Morè S., Olivieri A. Novel Experimental Drugs for Treatment of Multiple Myeloma. *J Exp Pharmacol*. 2021; 13: 245-264. DOI: org/10.2147/JEP.S265288
3. Ewer M.S., Ewer S.M. Cardiotoxicity of anticancer treatments. *Nat Rev Cardiol*. 2015;12 (9): 547-58. DOI: 10.1038/nrcardio.2015.65

4. Siegel R., DeSantis C., Virgo K., et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2012. *CA Cancer J Clin.* 2012; 62 (4): 220-41. DOI: 10.3322/caac.21149
5. Briasoulis A., Chasouraki A., Sianis A., et al. Cardiotoxicity of Non-Anthracycline Cancer Chemotherapy Agents. *J Cardiovasc Dev Dis.* 2022; 9 (3): 66. DOI: 10.3390/jcdd9030066
6. Strongman H., Gadd S., Matthews A., et al. Medium and long-term risks of specific cardiovascular diseases in survivors of 20 adult cancers: a population-based cohort study using multiple linked UK electronic health records databases. *Lancet.* 2019; 394 (10203): 1041-1054. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)31674-5
7. Leerink J.M., de Baat E.C., Feijen E.A.M., et al. Cardiac Disease in Childhood Cancer Survivors: Risk Prediction, Prevention, and Surveillance: JACC CardioOncology State-of-the-Art Review. *JACC CardioOncol.* 2020; 2 (3): 363-378. DOI: 10.1016/j.jacc-cao.2020.08.006
8. Waxman A.J., Clasen S., Hwang W.T, et al. Carfilzomib-Associated Cardiovascular Adverse Events: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Oncol.* 2018; 4 (3): e174519. DOI: 10.1001/jamaoncol.2017.4519
9. Matsuzawa Y., Kwon T.G., Lennon R.J., et al. Prognostic Value of Flow-Mediated Vasodilation in Brachial Artery and Fingertip Artery for Cardiovascular Events: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Am Heart Assoc.* 2015; 4 (11): e002270. DOI: 10.1161/JAHA.115.002270
10. Deanfield J.E., Halcox J.P., Rabelink T.J. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation.* 2007; 115(10): 1285-95. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.652859
11. Böhm F., Pernow J. The importance of endothelin-1 for vascular dysfunction in cardiovascular disease. *Cardiovasc Res.* 2007; 76 (1): 8-18. DOI: 10.1016/j.cardiores.2007.06.004
12. Hsieh H.J., Liu C.A., Huang B., et al. Shear-induced endothelial mechanotransduction: the interplay between reactive oxygen species (ROS) and nitric oxide (NO) and the pathophysiological implications. *J Biomed Sci.* 2014; 21 (1): 3. DOI: 10.1186/1423-0127-21-3.
13. Brown G.R., Hem V., Katz K.S., et al. Gene: a gene-centered information resource at NCBI. *Nucleic Acids Res.* 2015; 43(Database issue): D36-42. DOI: 10.1093/nar/gku1055
14. Jin J.J., Nakura J., Wu Z., et al. Association of endothelin-1 gene variant with hypertension. *Hypertension.* 2003; 41 (1): 163-7. DOI: 10.1161/01.hyp.0000043680.75107
15. Nepal G., Ojha R., Dulal H.P., Yadav B.K. Association between Lys198Asn polymorphism of endothelin-1 gene and ischemic stroke: A meta-analysis. *Brain Behav.* 2019; 9 (10): e01424. DOI: 10.1002/brb3.1424
16. Dubovyk Y.I., Oleshko T.B., Harbuzova V.Y., Ataman A.V. Positive Association between EDN1 rs5370 (Lys198Asn) Polymorphism and Large Artery Stroke in a Ukrainian Population. *Dis Markers.* 2018; 1695782. DOI:10.1155/2018/1695782
17. Treiber F.A., Barbeau P., Harshfield G., et al. Endothelin-1 gene Lys198Asn polymorphism and blood pressure reactivity. *Hypertension.* 2003; 42 (4): 494-9. DOI: 10.1161/01.HYP.0000091266.41333.15
18. Smiianova Y.O., Pristupa L.N., Harbuzova V.Y., Harbuzova Y.A. The association of LYS198ASN -polymorphism of endothelin-1 gene (EDN1) with development of arterial hypertension in ukrainian population. *Wiad Lek.* 2019; 72 (4): 568-574.