

Streszczenie pracy doktorskiej lek. Anny Furman-Niedziejko pt. „Ocena związku między stężeniem NT-proBNP w surowicy a polimorfizmami genów dla prekursora NT-proBNP i jego receptorów u chorych z przewlekłą niewydolnością serca i obecnym zespołem metabolicznym”

Wprowadzenie

Przewlekła niewydolność serca oraz zespół metaboliczny, będący zbiorem czynników ryzyka sercowo-naczyniowego, stanowią narastający problem zdrowotny w krajach rozwiniętych. Wytyczne ESC z 2016 roku przypisują istotne znaczenie oznaczaniu stężenia peptydów natriuretycznych (BNP lub NT-proBNP) w potwierdzeniu niewydolności serca o nieostrym początku objawów. Badania pokazują, iż otyłość, jedna ze składowych zespołu metabolicznego, może powodować istotne zmniejszenie stężenia peptydów natriuretycznych, co może powodować trudności diagnostyczne u chorych z otyłością. Istotne znaczenie ma tutaj nie tylko ilość tkanki tłuszczowej w organizmie ale także jej rozmieszczenie. Dodatkowo inne elementy zespołu metabolicznego, takie jak cukrzyca czy nadciśnienie tętnicze, również mogą wpływać na stężenie peptydów natriuretycznych. Co więcej stężenie tych biomarkerów może mieć uwarunkowanie genetyczne. Opisywano dotychczas kilka polimorfizmów genów związanych z powstawaniem, metabolizmem oraz działaniem receptorowym peptydów natriuretycznych, które nie tylko mogą wpływać na stężenie tych biomarkerów, ale także wykazują powiązanie z elementami zespołu metabolicznego. Regulacja stężenia peptydów natriuretycznych w surowicy jest wieloczynnikowa. Znaczenie stężenia tych biomarkerów dla potwierdzenia rozpoznania niewydolności serca u pacjentów z zespołem metabolicznym nie zostało w pełni zbadane.

Cel

Głównym celem pracy była ocena wpływu wybranych polimorfizmów genów związanych z powstawaniem, metabolizmem oraz działaniem receptorowym peptydów natriuretycznych na stężenie NT-proBNP u chorych z przewlekłą niewydolnością serca oraz współistniejącym zespołem metabolicznym, z dodatkowym uwzględnieniem parametrów otyłości, składu ciała oraz innych niż otyłość składowych zespołu metabolicznego.

Grupa badana

Do badania włączono 88 pacjentów z rozpoznaną przewlekłą niewydolnością serca, obniżoną frakcją wyrzutową lewej komory LVEF $\leq 45\%$ oraz współistniejącym zespołem metabolicznym, znajdujących się w optymalnym stadium wyrównania układu krążenia oraz stabilnym stanie klinicznym. Na podstawie wskaźnika BMI pacjentów podzielono na dwie

grupy: 55 pacjentów z otyłością definiowana jako BMI ≥ 27 kg/m² (46 M; śr. Wiek 65,3 \pm 10,1 lata) oraz 33 pacjentów bez otyłości czyli BMI < 27 kg/m² (28 M; śr. Wiek 68,2 \pm 11,9 lata).

Metody

U wszystkich chorych z niewydolnością serca oraz zespołem metabolicznym wykonano następujące procedury w momencie włączenia do badania: badanie podmiotowe i przedmiotowe, pomiary antropometryczne, pomiar ciśnienia tętniczego, przezklatkowe badanie echokardiograficzne, analizę składu ciała metodą bioimpedancji, badania laboratoryjne w tym oznaczenie stężenia NT-proBNP oraz identyfikację wybranych polimorfizmów genów: (-381) T/C genu NPPB, (-15129) 3C/4C genu NPR1 oraz (-55) C/A genu NPR3. Pacjentów poddano obserwacji klinicznej trwającej 24 miesiące.

Wyniki

Porównując pacjentów z niewydolnością serca i otyłością oraz bez otyłości stwierdzono, że chorzy otyli charakteryzowali się częstszym współwystępowaniem nadciśnienia tętniczego (96,4 vs 75,8%; p=0,005), oraz cukrzycy typu 2 (58,2 vs 27,3%; p=0,005), przyjmowali większe dawki beta-blokerów (44,2 \pm 28,3% vs 31,8 \pm 24,6% dawki docelowej, p=0,042), oraz częściej stosowali skojarzoną terapię przeciwcukrzycową co najmniej dwoma lekami doustnymi (21,8% vs 6,1%, p=0,044), mieli także większy wskaźnik E/E' (11,32 \pm 5,28 vs 9,93 \pm 5,65; p=0,04) oraz większe wymiary jam serca: wymiar końcowo-rozkurczowy lewej komory (62,7 \pm 7,6 vs 59,1 \pm 7,4 mm; p=0,03), indeks objętości końcowo-rozkurczowej lewej komory (108,6 \pm 31,1 vs 92,9 \pm 28,5 mL/m²; p=0,019), indeks masy lewej komory (67,1 \pm 14,7 vs 56,1 \pm 13,8 g/m^{2.7}; p=0,001) oraz wskaźnik objętości lewego przedsionka (58,6 \pm 18,6 vs 49,8 \pm 19,2 mL/m²; p=0,041).

Grupy pacjentów z niewydolnością serca z otyłością oraz bez otyłości nie różniły się istotnie pod względem stężenia NT-proBNP w surowicy (822,2 \pm 581,2 vs 871,9 \pm 666,1 pg/mL; p=0,724). W całej badanej populacji stwierdzono istotną korelację między stężeniem NT-proBNP a masą ciała ($R_s = -0,302$, p=0,0056). Wzrost masy ciała o 1kg był związany ze zmniejszeniem stężenia NT-proBNP przeciętnie o 14,2 pg/mL. Nie stwierdzono natomiast istotnego związku między stężeniem NT-proBNP a innymi wskaźnikami otyłości, takimi jak obwód talii czy wskaźnik WHR.

Analizując parametry składu ciała wykazano istotny związek między stężeniem NT-proBNP a ilością tkanki beztłuszczowej w tułowiu ($R_s = -0,345$, p=0,001), a związek ten był niezależny od zakłócającego wpływu eGFR oraz LVMI. Wzrost ilości tkanki beztłuszczowej w tułowiu o jeden kilogram związany był ze zmniejszeniem stężenia NT-proBNP przeciętnie

o 27,5 pg/mL. Nie stwierdzono aby stężenie NT-proBNP zależało od innych parametrów składu ciała, w tym ilości tkanki tłuszczowej w organizmie. Przeprowadzając analizę w grupach z otyłością oraz bez otyłości stwierdzono, że tylko w grupie pacjentów otyłych stężenie NT-proBNP niezależnie korelowało z ilością tkanki beztłuszczowej w tułowie ($R_s=-0,51$, $p=0,004$), a wzrost ilości tkanki beztłuszczowej w tułowie o 1kg związany był ze zmniejszeniem stężenia NT-proBNP przeciętnie o 62,7 pg/mL. Nie stwierdzono takiego związku w grupie pacjentów z otyłością, u których stężenie tego biomarkera korelowało ze wskaźnikiem BMI ($R_s=-0,299$, $p=0,029$) oraz masą ciała ($R_s=-0,359$, $p=0,008$).

Badając wpływ cukrzycy na związek między masą ciała a stężeniem NT-proBNP stwierdzono, że tylko u pacjentów bez cukrzycy typu 2 masa ciała istotnie wpływała na stężenie NT-proBNP ($p=0,001$), a wzrost masy ciała o 1 kg związany był ze zmniejszeniem stężenia NT-proBNP przeciętnie o 22,3 ng/mL. W grupie pacjentów z cukrzycą nie stwierdzono zależności między stężeniem NT-proBNP a masą ciała ($p=0,456$). W całej badanej populacji nie stwierdzono aby stężenie NT-proBNP miało związek z występowaniem cukrzycy ($p=0,358$) oraz stanów przedcukrzycowych.

W analizie genetycznej nie stwierdzono istotnych różnic w częstości występowania poszczególnych genotypów badanych polimorfizmów między grupami z otyłością oraz bez otyłości. W całej populacji pacjentów z niewydolnością serca oraz zespołem metabolicznym nie stwierdzono, żeby polimorfizmy genów NPPB ($p=0,143$), NPR1 ($p=0,111$), NPR3 ($p=0,377$) wpływały istotnie na stężenie NT-proBNP. Jednak genotyp (-381) T/C genu NPPB był związany z wyższym stężeniem NT-proBNP w stosunku do genotypu T/T genu NPPB w grupie chorych bez otyłości.

Analizując związek wybranych polimorfizmów genów z poszczególnymi elementami zespołu metabolicznego stwierdzono że genotyp (-15129) 3C/3C genu NPR1 był związany z wyższymi wartościami skurczowego ($p=0,049$) oraz rozkurczowego ($p=0,038$) ciśnienia tętniczego. Stwierdzono zależność między genotypem (-55) A/A genu NPR3 a częstszym występowaniem nieprawidłowej glikemii na czczo ($p=0,00003$) oraz nieprawidłowej tolerancji glukozy ($p=0,046$). Wykazano także istotny związek między polimorfizmem (-15129) 3C/4C genu NPR1 a występowaniem hiperlipidemii mieszanej ($p=0,040$), która była związana z genotypami 4C/3C oraz 3C/3C.

Badając rokowanie w grupach pacjentów z niewydolnością serca oraz zespołem metabolicznym stwierdzono, że w porównaniu do pacjentów bez otyłości w grupie chorych otyłych obserwowano nieznacznie większą częstość rehospitalizacji z przyczyn sercowo-naczyniowych (47,2% vs 37,5%; $p=0,384$), epizodów ostrej niewydolności serca (28,3% vs

12,5%; $p=0,09$) oraz zgonów (13% vs 9,4%, $p=0,616$), przy czym nie wykazano istotności statystycznej dla tych różnic. Nie wykazano także związku badanych polimorfizmów genów z częstością zgonów czy rehospitalizacji. Istotnymi predyktorami ponownej hospitalizacji były: LVEF (OR 0,93; 95%CI 0,87-0,99; $p=0,018$); wskaźnik WHR (OR 777; 95%CI 2,24-269547; $p=0,024$), indeks objętości końcowo-rozkurczowej lewej komory LVEDVI (OR 1,02; 95%CI 1,005-1,04; $p=0,01$), indeks masy lewej komory LVM/H^{2,7} (OR 1,03; 95%CI 1,003-1,07; $p=0,031$) oraz szacowane ciśnienie skurczowe w prawej komorze RVSP (OR 1,04; 95%CI 1,0005-1,09; $p=0,043$). Nie stwierdzono aby stężenie NT-proBNP było istotnym predyktorem wystąpienia zgonu ($p=0,120$) oraz ponownej hospitalizacji ($p=0,278$).

Wnioski

- 1) Polimorfizm (-381) T/C genu NPPB może wykazywać modulujący wpływ na ekspresję genu kodującego prekursor peptydu natriuretycznego typu B, a co za tym idzie na stężenie BNP i NT-proBNP w surowicy. Regulacja stężenia peptydów natriuretycznych jest złożona i u chorych z otyłością inne czynniki mogą odgrywać istotniejszą rolę niż modulacja genetyczna związana polimorfizmem pojedynczego nukleotydu.
- 2) Polimorfizmy (-55) C/A genu NPR3 oraz (-15129) 3C/4C genu NPR1 mogą mieć modulujący wpływ na występowanie czynników ryzyka wchodzących w skład zespołu metabolicznego takich jak stany przedcukrzycowe czy hiperlipidemia mieszana.
- 3) Nie stwierdzono istotnego wpływu polimorfizmów: (-381) T/C genu NPPB, (-15129) 3C/4C genu NPR1 oraz (-55) C/A genu NPR3 na ryzyko wystąpienia zgonu oraz ponownej hospitalizacji, przy czym na ryzyko sercowo-naczyniowe u chorych z niewydolnością serca może wpływać występowanie otyłości, cukrzycy typu 2 i nadciśnienia tętniczego, ale także rozmieszczenie tkanki tłuszczowej w organizmie.
- 4) U pacjentów niewydolnością serca oraz otyłością obniżenie stężenia peptydów natriuretycznych wynikające z aktywności tkanki tłuszczowej może nie być obserwowane, szczególnie jeśli niewydolność serca znajduje się w bardziej zaawansowanym stadium.
- 5) U chorych z niewydolnością serca oraz prawidłową masą ciała istotną rolę w regulacji stężeń peptydów natriuretycznych może odgrywać ilość tkanki beztłuszczowej zlokalizowanej w tułowie oraz substancje hormonalne przez nią produkowane.
- 6) Współwystępowanie cukrzycy u chorych z przewlekłą niewydolnością serca i zespołem metabolicznym wiąże się ze zmniejszeniem hamującego wpływu masy ciała na stężenie NT-proBNP, co wynika z wieloczynnikowej regulacji stężenia peptydów natriuretycznych w surowicy.

Streszczenie w języku angielskim

Introduction

According to the 2016 ESC guidelines natriuretic peptides (NPs) plasma concentration (BNP or NT-proBNP) is recommended as a diagnostic test to establish diagnosis of heart failure. Obesity is associated with significant reduction in NPs levels, what could lead to diagnostic difficulties in patients with obesity. Not only the amount of body fat but also fat distribution play an important role in regulation of NPs concentration. What is more, other components of metabolic syndrome, such as diabetes or hypertension, may also influence NPs levels. Furthermore, concentration of these biomarkers may be regulated by genetic factors. Several single nucleotide polymorphisms (SNPs) have been described to be associated with the secretion, metabolism and receptor activity of NPs. It was also shown that these SNPs are also related to metabolic syndrome components. Regulation of NPs concentration is multivariate. The diagnostic role of NPs level in heart failure in patients with metabolic syndrome has not been fully investigated.

Purpose

The main aim of the study was to investigate the relationship between NT-proBNP concentration and selected SNPs associated with NPs' secretion, metabolism and receptor activity in patients with chronic heart failure and metabolic syndrome. Obesity parameters, body composition and other components of metabolic syndrome were also taken into consideration as possible factors influencing NPs levels.

Study groups

88 consecutive patients with chronic heart failure with reduced left ventricular ejection fraction LVEF $\leq 45\%$ were enrolled into the study. All of included patients were diagnosed with metabolic syndrome and had been stable and euvolemic at the moment of enrolment. Patients were divided into two groups based on the body mass index (BMI): 55 patients in study group with obesity defined as BMI ≥ 27 kg/m² (46 M; mean age 65,3 \pm 10,1 years) and 33 patients in control group with BMI < 27 kg/m² (28 M; mean age 68,2 \pm 11,9 years).

Methods

The following procedures were performed in all included patients at the moment of enrolment: collection of medical history, physical examination, anthropometric measurements, blood pressure measurement, transthoracic echocardiography, bioimpedance body composition analysis, laboratory testing including NT-proBNP plasma concentration and genetic analysis of selected SNPs: (-381) T/C of the NPPB gene, (-15129) 3C/4C of the NPR1 gene and (-55) C/A of the NPR3 gene. Clinical observation of all enrolled patients lasted 24 months.

Results

Comparing patients with heart failure and obesity and without obesity, it was found that obese patients were more frequently diagnosed with hypertension (96,4 vs 75,8%; $p=0,005$) and type 2 diabetes (58,2 vs 27,3%; $p=0,005$). Patients with obesity were receiving higher doses of beta-blockers ($44,2\pm 28,3\%$ vs $31,8\pm 24,6\%$ of the target dose, $p=0,042$), and were more often treated with combined antidiabetic therapy with at least two oral drugs (21,8% vs 6,1%, $p=0,044$). Obese patients had also higher E/E' ratio ($11,32\pm 5,28$ vs $9,93\pm 5,65$; $p=0,04$) and enlarged heart dimensions such as: left ventricular end-diastolic diameter ($62,7\pm 7,6$ vs $59,1\pm 7,4$ mm; $p=0,03$), left ventricular end-diastolic volume index ($108,6\pm 31,1$ vs $92,9\pm 28,5$ mL/m²; $p=0,019$), left ventricular mass index ($67,1\pm 14,7$ vs $56,1\pm 13,8$ g/m^{2.7}; $p=0,001$) and left atrium volume index ($58,6\pm 18,6$ vs $49,8\pm 19,2$ mL/m²; $p=0,041$).

Patients with obesity and without obesity did not differ significantly in respect to NT-proBNP concentration ($822,2\pm 581,2$ vs $871,9\pm 666,1$ pg/mL; $p=0,724$). In the entire study population, there was found a significant correlation between NT-proBNP concentration and body weight ($R_s=-0,302$, $p=0,006$). An increase in body weight by 1 kg was associated with a 14,2 pg/mL decrease in NT-proBNP concentration. No significant relationship was found between NT-proBNP concentration and other obesity indicators, such as waist circumference or waist-hip ratio (WHR).

A significant independent relationship was found between NT-proBNP level and lean body mass ($R_s=-0,345$; $p=0,001$). An increase in the lean body mass by 1 kg was associated with a 27,5 pg/mL decrease in NT-proBNP level. No relation was found between NT-proBNP concentration and other body composition parameters, including body fat mass. Analysis of body composition in study groups showed significant relationship between NT-proBNP level and trunk lean mass only in patients without obesity ($R_s=-0,51$; $p=0,004$). The increase in trunk lean mass by 1 kg was associated with a 62,7 pg/mL decrease in NT-proBNP level.

The influence of type 2 diabetes on the relationship between body weight and NT-proBNP concentration was also investigated. Significant relation was found between body weight and NT-proBNP level only in patients without diabetes ($p=0,001$). The increase in body weight of 1 kg was associated with a 22.3 ng/mL decrease in NT-proBNP level in patient without diabetes. There was no relationship between NT-proBNP concentration and body weight in patients with diabetes ($p=0,456$). In entire study population, NT-proBNP levels were not related to diabetes ($p=0,358$) or pre-diabetes occurrence.

In genetic analysis, no significant differences were found in respect to frequency of selected SNPs genotypes between patients with and without obesity. In the entire study population there was no relationship between SNPs and NT-proBNP levels (NPPB $p=0,143$; NPR1 $p=0,111$; NPR3 $p=0,377$). However genotype (-381)T/C of the NPPB gene was associated with higher NT-proBNP concentration only in patients without obesity.

When analysing the relationship of selected SNPs with metabolic syndrome components in study population, it was found that genotype (-15129) 3C/3C of the NPR1 gene was associated with higher systolic ($p=0,049$) and diastolic ($p=0,038$) blood pressure. Significant relationship was also found between genotype (-55)A/A of the NPR3 gene and occurrence of impaired fasting glucose ($p=0,00003$) and impaired glucose tolerance ($p=0,046$). Furthermore genotypes (-15129) 3C/4C and 3C/3C of the NPR1 gene were associated with incidence of mixed hyperlipidaemia ($p=0,040$).

Investigating the prognosis in patients with heart failure and metabolic syndrome, it was found that obese patients had slightly higher prevalence of cardiovascular rehospitalization (47,2% vs 37,5%; $p=0,384$), acute heart failure (28,3% vs 12,5%; $p=0,09$) and deaths (13% vs 9,4%, $p=0,616$), but these differences were not statistically significant. No relation was found between selected SNPs and prognosis in study population. It was observed that LVEF (OR 0,93; 95%CI 0,87-0,99; $p=0,018$); WHR (OR 777; 95%CI 2,24-269547; $p=0,024$), left ventricular end-diastolic volume index (OR 1,02; 95%CI 1,005-1,04; $p=0,01$), left ventricular mass index (OR 1,03; 95%CI 1,003-1,07; $p=0,031$) and estimated right ventricle systolic pressure (OR 1,04; 95%CI 1,0005-1,09; $p=0,043$) were associated with higher risk of rehospitalization in patients with heart failure and metabolic syndrome.

Conclusions

- 1) Genotype (-381) T/C of the NPPB gene might have a modulating effect on expression of the gene encoding the B-type natriuretic peptide precursor, and hence on the serum BNP and NT-proBNP levels. Regulation of BNP concentration is multivariate and in obese patients other factors may play more important role than genetic modulation associated with SNP.
- 2) Genotypes (-55) C/A of the NPR3 gene and (-15129) 3C/4C of the NPR1 gene might be related to incidence of metabolic syndrome components, such as pre-diabetes or mixed hyperlipidaemia.
- 3) Selected SNPs seem to not be related to higher risk of death and rehospitalization in patients with heart failure and metabolic syndrome. The prognosis in heart failure could be related

to metabolic syndrome components such as obesity, diabetes and hypertension but also to fat mass body distribution.

- 4) In patients with heart failure and obesity, a decrease in NPs concentration related to adipose tissue activity may not be observed, especially if heart failure is more advanced.
- 5) In patients with heart failure and normal body weight, trunk lean mass and its hormonal activity may play an important role in regulating NPs concentration.
- 6) In patients with chronic heart failure and metabolic syndrome with diabetes the inhibition NT-proBNP concentration associated with body weight may be diminished due to multifactorial regulation of serum NPs.