

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА β_1 -АДРЕНОРЕЦЕПТОРА GLU389ARG НА СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТУЮ СИСТЕМУ ПРИ ТИРЕОТОКСИКОЗЕ

А.Ю. Бабенко, Д.А. Попкова, А.В. Костарева

ФГУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова» (директор – доктор мед. наук, профессор, член-корр. РАМН Е.В. Шляхто); НИИ эндокринологии (директор – доктор мед. наук, профессор Е.Н. Гринева), Санкт-Петербург

А.Ю. Бабенко – канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник НИИЭ ФЦ СКиЭ им. В.А. Алмазова; А.В. Костарева – доктор мед. наук, зав. НИЛ молекулярной биологии и генетики ФЦ СКиЭ им. В.А. Алмазова; Д.А. Попкова – аспирант ФЦ СКиЭ им. В.А. Алмазова.

Полиморфизм β_1 -адренорецептора Glu389Arg рассматривается как возможный предиктор сердечно-сосудистого прогноза. Замена глутамина на аргинин в 389-м положении ведет к увеличению активности АМФ и повышению чувствительности β_1 -адренорецептора к стимуляции. При тиреотоксикозе плотность β_1 -адренорецептора в миокарде увеличивается, что делает данную когорту больных весьма показательной при изучении влияния полиморфизмов β_1 -адренорецептора. Целью настоящей работы явилось изучение влияния полиморфизма Glu389Arg на клинические и ЭхоКГ-показатели при тиреотоксикозе и их динамику в процессе лечения. Было обследовано 136 пациентов с болезнью Грейвса. В исследование не включались пациенты, имеющие сопутствующую патологию сердца и люди старше 55 лет. Среди обследованных пациентов у 18 человек был «дикий» тип (глутамин в 389-м положении – G/G – 1-я группа) и у 118 человек был гетерозиготный генотип (A/G – 2-я группа). Пациентов, гомозиготных по аргинину в 389-м положении, в обследованной популяции не было. Были выявлены достоверные различия по ОТС ЛЖ, ИМЛЖ, ВИР, E/A. При этом число больных с ГЛЖ и диастолической дисфункцией (ДД) было значительно больше в 2-й группе (10 и 30% соответственно; $p < 0,001$). Через год на фоне стойкого эутиреоза, помимо описанных различий, были выявлены достоверные различия по рЛА, ДПЛЖ и абсолютной толщине стенок. Таким образом, при тиреотоксикозе данный полиморфизм может играть предикторную роль. Полученные результаты демонстрируют, что «дикий» тип (глицин в 389-м положении гена β_1 -адренорецептора) кардиопротективен и снижает риск развития ГЛЖ и ДД при тиреотоксикозе.

Ключевые слова: полиморфизм β_1 -адренорецептора Glu389Arg, тиреотоксикоз, ЭхоКГ.

Polymorphism Glu389Arg of β_1 -adrenoreceptor gene and cardiovascular complications of hyperthyroidism

Babenko A. Yu., Popkova D. A., Kostareva A. V.

Federal Centre of Heart, Blood and Endocrinology, St.-Petersburg

Gly389Arg polymorphism β_1 -adrenoreceptors can influence the cardio-vascular prognosis. Human heart β_1 -adrenoreceptors perform a crucial role in mediating the cardiostimulant effects of norepinephrine. Understanding the significance of Gly389Arg polymorphism in the human heart is beginning to emerge, but not in adult patients with thyrotoxicosis. We've studied the Gly389Arg polymorphism of β_1 -adrenoreceptors gene in relation to Echo-cardiography parameters in 136 normotensive patients with a thyrotoxicosis without any CVD. Echo-CG was performed according to standard protocol before and during the thyreostatic treatment. The genotype distribution was as following: Gly/Gly – 25% (1 group (1 gr.)), Arg/Gly – 75% (2 group (2 gr.)), Arg/Arg – 0%. There was significant difference between 1 and 2 gr. by relative left ventricle wall thickness, left ventricular mass index, isovolumic relaxation time, E/A ratio. The frequency of diastolic dysfunction (DD) was in gr. 1–10%, in gr. 2–30%, $p < 0.001$. After treatment during a year this damages were saved. These data demonstrate, that Gly/Gly genotype of β_1 -adrenoreceptors gene can have cardioprotective effect leading to less of LV hypertrophy and diastolic dysfunction in patients with thyrotoxicosis.

Key words: Gly389Arg polymorphism β_1 -adrenoreceptors, thyrotoxicosis, Echo-CG.

В последние годы активно изучаются генетические предикторы сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). Одним из таких предикторов явился полиморфизм β_1 -адренорецептора (β_1 -АР) Glu389/Arg. Замена глутамина на аргинин в 389-м положении ведет к увеличению активности АМФ и повышению чувствительности β_1 -АР к стимуляции, что было показано в экспериментальных работах [6]. Соответственно, можно было ожидать, что носители этого полиморфизма будут иметь более высокий риск ССЗ, чем люди с “диким” генотипом Glu389. Между тем при оценке его влияния на течение различных ССР были получены более скромные результаты. Достоверно был подтвержден лишь риск развития артериальной гипертензии (АГ) у носителей этого полиморфизма [2]. В другом исследовании было показано, что люди с гомозиготным вариантом полиморфизма (389Arg) имели недостоверное увеличение риска развития ГЛЖ [7]. В недавнем обзоре был сделан вывод о том, что необходимо дальнейшее изучение роли этого полиморфизма на выборках большего объема, различных популяций и у людей, не получающих гипотензивной терапии [3].

В настоящей работе проведена оценка роли данного полиморфизма в популяции пациентов с тиреотоксикозом, проживающих в Санкт-Петербурге. Интерес к популяции больных тиреотоксикозом вызван тем фактом, что при развитии тиреотоксикоза увеличивается плотность β_1 -АР в миокарде, что продемонстрировано в многочисленных исследованиях [1, 4]. Этот фактор может оказать существенное влияние, усилив возможные эффекты данного полиморфизма на сердечно-сосудистую систему. Также важен тот факт, что на момент первичной оценки пациенты не получали никакой терапии в отличие от ранее опубликованных данных на популяциях пациентов с гипертонической болезнью, ишемической болезнью сердца (ИБС) и сердечной недостаточностью, получавших различные препараты, влияющие на изучаемые параметры. Еще одной причиной, привлекшей наш интерес к изучению генетических полиморфизмов в данной популяции, является выраженная гетерогенность эффектов тиреоидных гормонов на сердечно-сосудистую систему (частоту сердечных сокращений (ЧСС), артериальное давление (АД), изменения эхокардиографических (ЭхоКГ) показателей) у различных пациентов, не всегда коррелирующая с уровнем тиреоидных гормонов.

Целью настоящей работы явилось изучение влияния полиморфизма Glu389/Arg на клинические (ЧСС, АД) и ЭхоКГ-показатели у пациентов с тиреотоксикозом болезни Грейвса (БГ) и их динамику после достижения эутиреоза.

Материал и методы

Исследование было продольное (проспективное) и включало 136 пациентов с клиническим тиреотоксикозом БГ.

Критерии включения в данное исследование:

- 1) отсутствие сопутствующих заболеваний сердечно-сосудистой системы, способных вызвать стойкие изменения ЭхоКГ-параметров;
- 2) возраст моложе 55 лет;
- 3) подписание информированного согласия на участие в данном исследовании;
- 4) клинический тиреотоксикоз БГ на момент первого.

На момент первого обследования пациенты не получали никакой терапии. Обследование включало оценку клинических параметров (ЧСС, АД), уровня тиреоидных гормонов (ТГ) и тиреотропина (ТТГ), ЭхоКГ, генотипирование. Затем всем больным была назначена терапия мерказолилом в стартовой дозе 30 мг/сут с уменьшением после достижения эутиреоза (в среднем через 3 нед после начала лечения) до поддерживающей – 10–15 мг/сут. Первые 3 нед пациенты получали β -блокаторы (метопролол) в средней дозе 100 мг/сут. Второе обследование проводилось через год от начала лечения на фоне стойкого эутиреоза и включало оценку клинических параметров (ЧСС, АД), уровня ТГ и ТТГ, ЭхоКГ.

Среди обследованных пациентов у 18 выявлен “дикий” тип (глутамин в 389-м положении – G/G 1-я группа) и у 118 человек был гетерозиготный генотип (A/G – 2-я группа). Пациентов, гомозиготных по аргинину в 389-м положении, в обследованной популяции не было. Частота встречаемости полиморфизма при БГ не отличалась от таковой в популяции (глицин/аргинин – 0,25/0,75) [4]. Характеристика обследованных больных представлена в табл. 1.

Уровень ТГ и ТТГ в сыворотке крови определили иммуноферментным методом (норма: трийодтиронин свободный (св. Т₃) – 2,23–5,35 пмоль/л, тироксин свободный (св. Т₄) – 9,14–23,81 пмоль/л, ТТГ – 0,47–4,64 мМЕ/л).

ЭхоКГ выполняли на аппарате Sonoline GGOS (Siemens), датчик с частотой 3,15 МГц, сканирование структур сердца проводилось в стандартных эхокардиографических позициях. Толщина стенок и размеры полости левого желудочка (ЛЖ) определялись в парастернальном продольном сечении левого желудочка в М-режиме. Масса миокарда вычислялась по формуле R. Devereux и N. Reichek (1977). Все измерения осуществлялись на протяжении не менее 3 сердечных циклов, а затем усреднялись. В исследование не включались больные, имеющие сегментарные нарушения сократимости. Масса миокарда ЛЖ рассчитывалась по формуле:

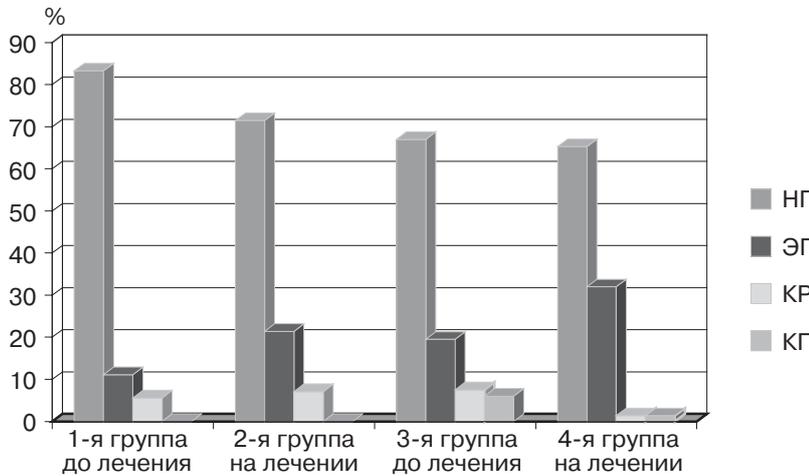


Рис. 1. Частота встречаемости различных типов геометрии ЛЖ в зависимости от генотипа.

$$\text{МЛЖ} = 1,04 \{ (\text{ТМЖП} + \text{ТЗСЛЖ} + \text{КДРЛЖ})^3 - \text{КДРЛЖ}^3 \} - 13,6 \text{ г}$$

где МЛЖ – масса левого желудочка, 1,04 – коэффициент плотности сердечной мышцы, ТМЖП – толщина межжелудочковой перегородки, ТЗСЛЖ – толщина задней стенки ЛЖ, КДРЛЖ – конечный диастолический размер ЛЖ. Индекс массы ЛЖ (ИМЛЖ) рассчитывался как отношение ММЛЖ/ППТ, где ППТ – площадь поверхности тела, определяемая по формуле D. Dubois (1975) (норма ИМЛЖ до 110 г/м² у женщин, 130 г/м² – у мужчин). Относительная толщина стенок (ОТС) ЛЖ определялась по формуле:

$$\text{ОТС} = (\text{ТМЖП} + \text{ТЗСЛЖ}) / \text{КДРЛЖ}$$

За повышение ОТС принимались значения 0,45 и более. Для выделения типов геометрии ЛЖ использовалась классификация G. Ganau (1992), согласно которой выделяют 4 варианта ремоделирования ЛЖ: нормальная геометрия (НГ) – нет гипертрофии ЛЖ (ГЛЖ), ОТС < 0,45; эксцентрическая ГЛЖ (ЭГЛЖ) есть ГЛЖ, ОТС < 0,45, концентрическое ремоделирование (КР) нет ГЛЖ, ОТС ≥ 0,45; концентрическая гипертрофия ЛЖ (КГЛЖ) есть ГЛЖ, ОТС ≥ 0,45.

Кровь для определения генотипа забиралась в пластиковые пробирки, содержащие 0,2 мл 0,5М раствора ЭДТА. Выделение ДНК выполнялось с помощью фенол-хлороформной экстракции по стандартной методике. Амплификация ДНК производилась на термоциклере M.J. Research, 100 Inc., идентификация генотипа D2 – путем рестрикции продуктов ПЦР эндонуклеазой VcgI. После электрофореза в 1,5% агарозном геле полученные фрагменты визуализировались в УФ-свете [4]. Статистическая обработка, корреляционный и многофакторный анализ данных выполнялись на компьютере Toshiba, Portege 7200 с использованием программ Exel 2000, Statistica версия 7.0. Критический уровень значимости в данном исследовании принимался равным 0,05.

Результаты и их обсуждение

Был проведен сравнительный анализ клинических и ЭхоКГ-параметров между группами с различным генотипом. Выявлено, что у пациентов-гомозигот (G/G) уровень и систолического, и диастолического АД был достоверно выше, хотя уровни ТГ, напротив, были выше у гетерозигот (табл. 1). После согласования по уровню гормонов указанные различия сохранялись (табл. 2). Результаты оценки ЭхоКГ-параметров представлены в табл. 3. Как видно из таблицы, у пациентов с генотипом A/G масса миокарда была достоверно больше, а ОТС ЛЖ меньше, чем у гомозигот G/G. Также между этими группами имелись достоверные различия по показателям, отражающим состояние диастолической функции: ВПР (1-я группа – 83,60 ± 4,24 мс; 2-я группа – 93,70 ± 2,04 мс; p < 0,01), E/A (1-я группа – 1,20 ± 0,06, 2-я группа – 1,4 ± 0,05; p < 0,05). При этом число больных с диастолической дисфункцией (ДД) (ВПР > 100 мс, E/A < 1,0) было значительно больше во 2-й группе (10 и 30% соответственно; p < 0,001). Так как между группами имелась достоверная разница по уровню тиреоидных гормонов и АД, что могло явиться причиной выявленных различий, был проведен дополнительный анализ после согласования групп по этим параметрам (табл. 4). Однако и после согласования по указанным параметрам выявленные различия сохранялись (см. табл. 4). В связи с этим в дальнейшем проводился анализ всей группы гетерозигот.

Частота гипертрофии ЛЖ также была более чем в 2 раза выше в группе гетерозигот (11 и 26% соответственно). Был проведен анализ частоты встречаемости различных типов геометрии ЛЖ в зависимости от наличия полиморфизма. Полученные результаты отражены на рис.: НГ ЛЖ значительно чаще сохранялась у пациентов 1-й группы (83,3 и 67% соответственно). ЭГЛЖ также чаще встречалась у гетерозигот: у 11,1% пациентов 1-й группы и у 19,5% 2-й

Таблица 1. Характеристика обследованных больных

Группа	Возраст, лет	Соотношение полов, м/ж (% мужчин)	ЧСС, уд./мин	АД сист., мм рт. ст.	АД диаст., мм рт. ст.	св.Т ₃ , пмоль/л	св.Т ₄ , пмоль/л	ТТГ, мМЕ/л
1-я (G/G), n = 18	45,00±2,21	3/15 (16,6)	94,30±4,91	133,30±1,87	80,3±2,21	10,00±2,39	34,60±5,19	0,05±0,01
2-я (A/G), n = 118	42,60±0,82	17/101 (14,4)	93,20±1,76	129,10±1,71	76,5±0,98	15,40±1,56	46,00±3,77	0,040±0,007
p	нд	нд	нд	0,05	0,05	0,01	0,01	нд

Таблица 2. Характеристика обследованных пациентов после согласования по уровню тиреоидных гормонов

Группа	Возраст, лет	Соотношение полов, м/ж (% мужчин)	ЧСС, уд./мин	АД сист., мм рт. ст.	АД диаст., мм рт. ст.	св.Т ₃ , пмоль/л	св.Т ₄ , пмоль/л	ТТГ, мМЕ/л
1-я (G/G), n = 18	45,00±2,21	3/15 (16,6%)	94,30±4,91	133,30±1,87	80,30 ± 2,21	10,00±2,39	34,60±5,19	0,05±0,01
2-я (A/G), n = 108	42,50±0,88	15/93 (16,2)	93,60±1,89	130,50±1,14	77,20±1,02	11,70±1,02	39,60±3,78	0,040±0,007
p	нд	нд	нд	0,05	0,05	нд	нд	нд

Таблица 3. ЭхоКГ-параметры у обследованных пациентов различным генотипом (G/G или A/G) при первом обследовании (тиреотоксикоз)

Группа	ОТС	ИМЛЖ, г/м ²	ВИР, мс	Е/А
1-я (G/G), n = 18	0,38 ± 0,012	92,20 ± 3,57	83,60 ± 4,24	1,20 ± 0,06
2-я (A/G), n = 118	0,360 ± 0,006	100,80 ± 2,62	93,70 ± 2,04	1,40 ± 0,05
p	0,05	0,01	0,01	0,05

Таблица 4. ЭхоКГ-параметры у пациентов с тиреотоксикозом с различным генотипом (G/G или A/G) после согласования по уровню ТГ

Группа	ОТС	ИМЛЖ, г/м ²	ВИР, мс	Е/А
1-я (G/G), n = 18	0,38 ± 0,012	92,20 ± 3,57	83,60 ± 4,24	1,20 ± 0,06
2-я (A/G), n = 108	0,360 ± 0,007	101,80 ± 2,84	95,00 ± 2,29	1,40 ± 0,05
p	0,05	0,01	0,01	0,05

Таблица 5. Клинико-лабораторные показатели в обследованных группах через год от начала лечения

Группа	ЧСС, уд./мин	АД сист., мм рт. ст.	АД диаст., мм рт. ст.	св.Т ₃ , пмоль/л	св.Т ₄ , пмоль/л	ТТГ, мМЕ/л
1-я (G/G), n = 18	77,80 ± 2,67	127,07 ± 3,26	73,60 ± 2,44	4,90 ± 1,39	18,30 ± 4,16	1,80 ± 0,96
2-я (A/G), n = 110	77,60 ± 1,39	119,30 ± 1,52	71,50 ± 0,99	5,10 ± 0,81	20,80 ± 2,59	1,20 ± 2,29
p	нд	нд	нд	нд	нд	нд

Таблица 6. Динамика ЭхоКГ-параметров на фоне тиреостатической терапии в зависимости от наличия полиморфизма

Группа	ТЗСЛЖ, мм	ТМЖП, см	ОТС	ИМЛЖ, г/м ²	pЛА, ммHg	ДПЛЖ, см	ВИР, мс	Е/А
1-я – до лечения, n = 18	0,890±0,024	0,870±0,025	0,380±0,012	92,20±3,57	34,50±2,82	4,80±0,07	83,60±4,24	1,20±0,06
1-я – на лечении, n = 18	0,97±0,023	0,93±0,029	0,39±0,012	98,5±3,70	36,0±3,67	4,8±0,09	93,3±3,35	1,2 ± 0,11
2-я – до лечения, n = 118	0,88±0,012	0,89±0,015	0,36±0,007	101,8±2,84	32,4±0,82	5,0±0,05	93,7±2,04	1,4 ± 0,05
2-я – на лечении, n = 110	0,88 ± 0,016	0,809±0,018	0,350±0,006	105,40±3,85	31,50±0,79	5,10±0,06	96,0±1,90	1,30 ± 0,05
p ₁₋₂ – до лечения	–	–	0,05	0,01	–	–	0,01	0,05
p ₁₋₂ – на лечении	0,005	0,05	0,005	0,05	0,05	0,01	–	–

группы. Различия в частоте развития КРЛЖ были незначительны – 5,5% в 1-й группе и 7,5% во 2-й. КГЛЖ встречалась только у 6% больных 2-й группы.

Через год, на фоне продолжающейся тиреостатической терапии, пациенты были повторно обследованы (табл. 5). Пациенты, не достигшие эутиреоза, были исключены из анализа. Достоверных различий между группами по уровню ТГ, ЧСС и АД не было (см. табл. 5). При анализе ЭхоКГ-показателей через год от начала лечения было отмечено, что ранее выявленные различия по ОТС, ИММЛЖ и показателям диастолической функции сохраняются. Кроме того, выявлены достоверные различия по абсолютной толщине стенок ЛЖ и уровню давления в легочной артерии (рЛА) (табл. 6). Также отмечены достоверные различия диаметра полости ЛЖ (ДПЛЖ), который не изменился у больных 1-й группы и увеличился у пациентов 2-й группы. Соответственно, изменилось число больных с различными типами геометрии ЛЖ: больных с НГ было меньше в обеих группах, но более значимо в 1-й группе (с 83,3 до 71,5%), чем во 2-й (с 67 до 65%). Число больных с ЭГ, напротив, увеличилось в обеих группах, но в 1-й группе их все равно было достоверно меньше (21,4 и 32% соответственно). Число больных с КР несколько увеличилось в 1-й группе (с 5,6 до 7,1%), а во 2-й – значимо уменьшилось (с 7,50 до 1,35%), как и больных с КГ (с 6,00 до 1,35%). Таким образом, несмотря на сохраняющуюся тенденцию к более выраженным изменениям геометрии сердца у гетерозигот, произошло определенное “выравнивание” соотношения различных типов ремоделирования в двух группах на фоне достигнутого в ходе лечения эутиреоза (см. рис.).

В целом складывается впечатление, что при тиреотоксикозе полиморфизм гена β_1 -АР Glu389/Arg более значимо влияет на ремоделирование миокарда ЛЖ, чем в эутиреоидной популяции.

Выводы

1. Полиморфный вариант (389Arg) характеризуется увеличением частоты развития гипертрофии ЛЖ и диастолической дисфункции при тиреотоксикозе более чем в 2 раза, даже в гетерозиготном варианте.

2. Полиморфный вариант (389Arg) также характеризуется большим риском сохранения и прогрессии таких изменений, как ГЛЖ и ДД, и более высокой вероятностью развития легочной гипертензии в процессе заболевания даже при адекватном лечении тиреотоксикоза.

Список литературы

1. Bahouth S.W. Thyroid hormones transcriptionally regulate the β_1 -adrenergic receptor gene in cultured ventricular myocytes // J. Biol. Chem. 1991. V. 266. P. 15 863–15 869.
2. Bengtsson K., Melander O., Orho-Melander M. et al. Polymorphism in the β_1 -adrenergic receptor gene and hypertension // Circulation. 2001. V. 104. P. 187–190.
3. Jones A., Montgomery H. The Gly389Arg β_1 -adrenoceptor polymorphism and cardiovascular disease: time for a rethink in the funding of genetic studies? // Eur. Heart. J. 2002. V. 23. P. 1071–1074.
4. Magbool A., Hall A.S., Ball S.G., Balmforth A.J. Common polymorphisms of β_1 -adrenoreceptor: identification and rapid screening assay // Lancet. 1999. V. 353. P. 897.
5. Novotny J., Bourova L., Malkova O. et al. G proteins, beta-adrenoreceptors and beta-adrenergic responsiveness in immature and adult rat ventricular myocardium: influence of neonatal hypo- and hyperthyroidism // J. Mol. Cell. Cardiol. 1999. V. 31. P. 761–772.
6. Sandilands A. J., O’Shaughnessy K. M. and Brown M. J. Greater inotropic and cyclic AMP responses evoked by noradrenaline through Arg389 β_1 -adrenoceptors versus Gly389 β_1 -adrenoceptors in isolated human atrial myocardium // Br. J. Pharmacol. 2003. V. 138. P. 386–392.
7. Swan L., Birnie D.H., Padmanabhan S., Inglis G. et al. The genetic determination of left ventricular mass in healthy adults // Eur. Heart J. 2003. V. 24. N6. P. 577–582.