

Оригинальные работы

ВКЛАД РАСПРОСТРАНЕННЫХ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА $\beta 1$ -АДРЕНОРЕЦЕПТОРА В ИЗМЕНЕНИЯ, ПРОИСХОДЯЩИЕ В СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЕ ПРИ ТИРЕОТОКСИКОЗЕ

**Бабенко А.Ю., Костарева А.А., Гринева Е.Н.,
Савицкая Д.А., Солнцев В.Н.**

ФГБУ “Федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова”, Санкт-Петербург, Россия

Бабенко Алина Юрьевна — доктор мед. наук, заведующая НИЛ диабетологии института эндокринологии ФМИЦ им. В.А. Алмазова; Костарева Анна Александровна — канд. мед. наук, директор института молекулярной биологии и генетики ФМИЦ им. В.А. Алмазова; Гринева Елена Николаевна — доктор мед. наук, профессор, директор института эндокринологии ФМИЦ им. В.А. Алмазова; Савицкая Дарья Александровна — клинический ординатор, институт эндокринологии ФМИЦ им. В.А. Алмазова; Солнцев Владислав Николаевич — доктор мед. наук, группа статистики ФМИЦ им. В.А. Алмазова.

Выявление структуры генетической компоненты распространенных болезней является одним из ключевых направлений в современной медицине. При тиреотоксикозе (ТТ) наиболее актуальны предикторы, определяющие вероятность развития ремиссии заболевания и риск сердечно-сосудистых осложнений. Мы сосредоточились именно на втором из обозначенных аспектов. Кандидатами для изучения являются прежде всего те гены, экспрессия которых, с одной стороны, регулируется трийодтиронином и которые, с другой стороны, играют ключевую роль в изменении сократимости миокарда и аритмогенезе. Сюда относятся, в частности, полиморфизмы гена $\beta 1$ -адренорецептора ($\beta 1$ -АР): полиморфизм в кодоне 389 (Gly389Arg) и полиморфизм в кодоне 49 (Ser49Gly). Целью настоящей работы явилось изучение влияния полиморфизмов гена $\beta 1$ -АР на клинические и эхокардиографические показатели при тиреотоксикозе и их динамику в процессе лечения. Было обследовано 165 пациентов с болезнью Грейвса и явным ТТ без сопутствующей патологии сердца.

Анализ полученных данных показал, что полиморфизмы гена $\beta 1$ -АР оказывают умеренное влияние на характер ремоделирования левого желудочка, определяя в некоторой степени риск гипертрофии левого желудочка и ее характер (эксцентрическая, концентрическая), а также риск развития предсердных нарушений ритма. Обнаружена тенденция к наименьшему риску развития сердечно-сосудистых осложнений ТТ у носителей комбинации генотипа GG по полиморфизму Ser49Gly и генотипа CC по полиморфизму Gly389Arg. Однако статистически достоверных эффектов данных полиморфизмов выявлено не было.

Ключевые слова: полиморфизм $\beta 1$ -адренорецептора Gly389Arg, полиморфизм $\beta 1$ -адренорецептора Ser49Gly, тиреотоксикоз, эхокардиография, гипертрофия левого желудочка, фибрилляция предсердий.

The Contribution of the Common Single-nucleotide Polymorphisms of $\beta 1$ -Adrenoreceptor Gene to Cardiovascular Alteration in Patients with Thyrotoxicosis

**Babenko A.Y., Kostareva A.A., Grineva E.N.,
Savitskaja D.A., Solncev V.N.**

Almazov Federal Medical Research Centre, Institute of Endocrinology, Saint-Petersburg, Russia

The detection of a genetic organization of common diseases is one of the first key direction in modern medicine. In thyrotoxicosis, identification of genetic predictors, defining remission and the risk of cardiovascular complications is of a great importance. We gave attention to the second of above mentioned aspects. Candidates for genetic prediction are the genes regulated by triiodothyronine and playing a key role in changing of the myocardial contractility and arrhythmogenesis. There are SNPs of the $\beta 1$ -adrenergic receptor (ADRB1) gene among them: polymorphism in the 389 codon (Gly389Arg) and polymorphism in codon 49 (Ser49Gly). The investigation goal was to determine whether the deleterious effects on cardiovascular system of the thyroid hormones excess in people with thyrotoxicosis were modified by polymorphic variants of ADRB1 gene. So we investigated the possible link of these two SNPs with clinicopathologic findings, echocardiographic parameters and the changes during therapy in 165 patients with a thyrotoxicosis caused by Graves' disease without any nonthyrotoxic cardiovascular disorders. The data analysis demonstrates that both Gly389Arg and Ser49Gly polymorphisms have very moderate influence on the risk of atrial arrhyth-

mias, left ventricular hypertrophy and its type (concentric or eccentric). Genotype Gly389Gly (Gly389Arg polymorphism) or genotype Gly49Gly (Ser49Gly polymorphism) carriers have tendency to the lowest risk of cardiovascular complications during thyrotoxicosis, but no statistically significant effects were revealed.

Key words: *Gly389Arg polymorphism of β 1-adrenoreceptor, Ser49Gly polymorphism of β 1-adrenoreceptor, thyrotoxicosis, Echo-CG, left ventricular hypertrophy, atrial fibrillation.*

Введение

Генетическая вариабельность составляет основу фенотипической изменчивости человека и имеет огромное значение для объяснения различий в подверженности мультифакториальным заболеваниям. Выявление генетических предикторов, определяющих особенности течения и прогноз распространенных болезней, является одним из ключевых направлений в современной медицине. При тиреотоксикозе (ТТ) болезни Грейвса (БГ) наиболее актуальны предикторы, определяющие вероятность развития ремиссии заболевания и риск сердечно-сосудистых осложнений. В настоящей работе рассмотрен второй из вышеуказанных аспектов.

Несмотря на возможность успешного лечения ТТ в наши дни, влияние избытка тиреоидных гормонов на сердечно-сосудистую систему остается важнейшей проблемой, так как, во-первых, чаще всего пациенты обращаются за медицинской помощью через несколько недель или месяцев после появления симптомов ТТ. Во-вторых, далеко не всегда удается быстро достичь эутиреоза. И в-третьих, нередко ТТ характеризуется рецидивирующим течением, что, даже если периоды ТТ непродолжительны, оказывает ощутимое влияние на сердечно-сосудистую систему. На настоящий момент отсутствуют шкалы расчета риска развития тяжелой тиреотоксической кардиомиопатии. Поэтому эта тема остается актуальной, требующей дальнейших исследований, выявления предикторов сердечно-сосудистого риска при ТТ, в том числе и генетических.

Кандидатами для изучения являются прежде всего те гены, экспрессия которых, с одной стороны, регулируется трийодтиронином и которые, с другой стороны, оказывают влияние на сократимость миокарда и аритмогенез. В определенной степени сюда относятся полиморфизмы гена дейодиназы 2 типа, оказывающие существенное влияние на выраженность клинических проявлений, в том числе со стороны сердца, что было продемонстрировано в наших более ранних работах [1, 2].

Также сюда относятся однонуклеотидные полиморфизмы гена β 1-адренорецептора (β 1-АР): полиморфизм в кодоне 389 (Gly389Arg) и в кодоне 49 (Ser49Gly). Интерес к изучению именно этих полиморфизмов у больных с ТТ вызван тем фактом, что

при развитии ТТ в 3–5 раз увеличивается плотность β 1-АР в миокарде. Это происходит за счет изменения экспрессии гена β 1-АР [6, 7], которая регулируется трийодтиронином. Данный факт может оказать существенное влияние, усилив возможные эффекты на сердечно-сосудистую систему. Еще одной причиной, привлечшей 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.

Первый из изученных нами полиморфизмов β 1-адренорецептора характеризуется заменой глицина на аргинин в 389-м положении (Gly389Arg). Частота аллеля Gly в европейской популяции составляет 0,23 [21]. У носителей “дикого” генотипа по этому полиморфизму в три раза выше активность аденилатциклазы (как базальной, так и стимулированной норадреналином) и выше чувствительность β 1-адренорецептора к стимуляции, что было показано в ряде экспериментальных работ [8, 9]. Соответственно можно было ожидать, что носители генотипа Arg389Arg (CC) будут иметь более низкий риск сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), чем люди с “диким” генотипом (GG). Между тем оценка его влияния на течение различных ССЗ (ишемической болезни сердца, гипертонической болезни) дала гораздо более скромные результаты. Достоверно были подтверждены лишь различия в ЧСС и уровне диастолического АД у носителей различных генотипов [10, 11], в других же исследованиях было показано, что люди с генотипом Arg389Arg имели лишь незначительное увеличение риска развития гипертрофии левого желудочка (ГЛЖ) [12].

Вторым вероятным кандидатом является полиморфизм, характеризующийся заменой серина (аллель А) на глицин (аллель G) в 49-м положении (Ser49Gly). Частота аллеля Gly составляет 0,14 в европейской популяции [21]. Исследования *in vitro* показали, что гомозиготы по Ser (генотип AA) имеют более низкую функциональную активность аденилатциклазы по сравнению с носителями аллеля G, но более чувствительны к стимуляции адреналином

[13]. В другом исследовании не было выявлено различий по базальной активности аденилатциклазы, но была подтверждена высокая чувствительность к длительному воздействию агонистов [14]. Высокая чувствительность к длительной стимуляции катехоламинами проявляется в уменьшении количества рецепторов и ослаблении их реакции. Поэтому вариант гена $\beta 1$ -AP GG был назван в этих работах “кардиопротективным”. В клинических исследованиях гомозиготы по Gly имеют более низкую ЧСС в покое в различных популяциях [23, 24]. В двух исследованиях пациентов с дилатационной кардиомиопатией и сердечной недостаточностью было показано, что носители аллеля Gly имели также более низкий риск смерти [15, 16]. Авторы связывали этот факт с влиянием на аритмогенез (снижение частоты желудочковой тахикардии).

Известно, что самым частым и одним из самых тяжелых сердечно-сосудистых осложнений ТТ является развитие фибрилляции предсердий (ФП). В доступной литературе имеются противоречивые данные и о влиянии изучаемых нами полиморфизмов на частоту развития ФП при различных заболеваниях, а данных об их эффектах на тиреотоксическую ФП нет. В одном из исследований, проводившихся в России, гетерозиготный вариант гена $\beta 1$ -AP по полиморфизму Ser49Gly оказался одним из генетических предикторов возникновения как первичной, так и вторичной ФП [17]. По результатам другой работы, генотипы Ser49Ser и Arg389Arg достоверно были ассоциированы с ФП [18]. При обследовании американскими учеными более 500 человек с ФП не было обнаружено связи между полиморфизмом $\beta 1$ -адренорецептора Ser49Gly и развитием ФП [19].

Данных по изучению влияния этих полиморфизмов на клиническое течение (ЧСС, АД), характеристики ЭхоКГ и риск развития и тяжесть нарушений ритма у больных с ТТ БГ в доступной литературе не представлено.

Целью данного исследования явилось изучение влияния однонуклеотидных полиморфизмов гена $\beta 1$ -AP Ser49Gly и Gly389Arg и их ассоциации на клинические и эхокардиографические показатели при ТТ БГ и их динамику в процессе лечения (через год).

Материал и методы

Пациенты

Исследование проводилось в соответствии с нормативами Хельсинкской декларации, протокол исследования был одобрен этическим комитетом Федерального медицинского исследовательского центра им. В.А. Алмазова, у всех исследуемых лиц были получены подписи информированного добро-

вольного согласия на участие в исследовании. В исследование было включено 165 пациентов с болезнью Грейвса, соответствующих следующим критериям:

1. Наличие манифестного тиреотоксикоза на момент первого обследования (подтвержденного лабораторно).

2. Возраст от 18 до 55 лет.

Критерии исключения:

1. Отсутствие сопутствующих заболеваний сердечно-сосудистой системы, способных вызвать нарушения ритма и стойкие изменения эхокардиографических параметров (ишемическая болезнь сердца, гипертоническая болезнь и вторичные артериальные гипертензии (кроме обусловленной тиреотоксикозом артериальной гипертензии), поражения клапанов сердца, не тиреотоксическая кардиомиопатия, сердечная недостаточность и нарушения ритма (кроме обусловленных тиреотоксической кардиомиопатией)), сахарный диабет, тяжелые заболевания бронхов и легких.

2. Наличие противопоказаний к тиреостатической терапии (повышенные в 5 раз и более уровни печеночных трансаминаз, печеночная или почечная недостаточность, непереносимость тиреоидов).

3. Наличие хронических интоксикаций (алкоголизм, токсикомания).

4. Беременность, планируемая беременность.

5. Терапия амиодароном.

Контрольная группа сопоставима по возрасту и соотношению полов с исследуемой группой и представлена 101 здоровым донором крови, у которых был подтвержден эутиреоз.

Дизайн исследования

Диагноз болезни Грейвса был подтвержден наличием манифестного тиреотоксикоза, диффузным зобом по данным ультразвукового исследования щитовидной железы, наличием высокого титра стимулирующих антител к рецептору тиреотропного гормона (ТТГ) и/или повышенным захватом йода на момент первого обследования или в анамнезе. На момент первого обследования пациенты не получали никакой терапии. Обследование включало оценку клинических параметров (ЧСС, АД), уровня тиреоидных гормонов и ТТГ, проведение эхокардиографии, ЭКГ и генотипирования. Затем всем больным назначалась терапия препаратами из группы тиреоидов: мерказолил в стартовой дозе 30 мг/сут с последующим ее уменьшением после достижения эутиреоза (в среднем через 3 нед) до поддерживающей 10 мг/сут. Второе обследование проводилось через год от начала лечения на фоне стойкого эутиреоза и включало оценку клинических параметров (ЧСС, АД), уровня тиреоидных гормонов и ТТГ,

Таблица 1. Сравнительная характеристика обследованных лиц с тиреотоксикозом, обусловленным болезнью Грейвса, и здоровых людей контрольной группы

Параметры	Пациенты с болезнью Грейвса (<i>n</i> = 165)	Контрольная группа (<i>n</i> = 101)
Возраст, лет	41,9 ± 0,75	43,4 ± 4,3
Пол, Ж/М	142/23	81/20
ЧСС, уд/мин	95,9 ± 19,1*	72,6 ± 8,7
АД сист., мм рт. ст.	129,4 ± 15,9	127,3 ± 9,7
АД диаст., мм рт. ст.	75,8 ± 9,4	72,4 ± 7,1
св. Т ₃ , пмоль/л	15,0 ± 9,1*	1,8 ± 1,2
св. Т ₄ , пмоль/л	45,4 ± 23,0*	14,2 ± 4,6
ТТГ, мМЕ/л	0,014 (0,010; 0,058)*	1,2 (0,6; 3,1)

Примечание. ЧСС – частота сердечных сокращений, АД – артериальное давление, св. Т₃ – свободный трийодтиронин, св. Т₄ – свободный тетраидтиронин, ТТГ – тиреотропный гормон. * $p < 0,0001$ при сравнении с контрольной группой.

выполнение эхокардиографии. Характеристика пациентов представлена в табл. 1.

Методы обследования

Гормональные исследования. Уровень свободных тиреоидных гормонов и антител в сыворотке крови определялся иммуноферментным методом с помощью анализатора ACCESS2 (Beckman Coulter, США) и иммунохимических анализаторов (UNICEL DXI 800 ACCESS, Beckman Coulter): св. Т₃ (норма 4,0–8,0 пмоль/л), св. Т₄ (норма 10–25 пмоль/л), ТТГ (норма 0,25–3,5 мМЕ/л).

Эхокардиографическое исследование. ЭхоКГ выполнялась на аппарате Sonoline GGOS (Siemens) и включала измерение следующих параметров: диаметра левого предсердия, индекса массы миокарда левого желудочка (ИММЛЖ), толщины межжелудочковой перегородки и задней стенки левого желудочка, конечного диастолического давления в левом желудочке, относительной толщины стенок и времени изоволюмического расслабления. Масса миокарда левого желудочка рассчитывалась по формуле, рекомендованной ASE-2005 (Lang R.M. et al., 2005). Для описания геометрии левого желудочка использовалась классификация G. Ganau (1992): нормальная геометрия, эксцентрическая гипертрофия, концентрическое remodelирование, концентрическая гипертрофия.

Выделение ДНК и генотипирование. 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. Идентификация генотипа проводилась путем полимеразной цепной реакции с детекцией результатов амплификации в режиме реального времени (real time PCR). Прибор для проведения real time PCR – Applied Biosystems 7500 Real Time PCR System.

Статистическая обработка данных. Результаты представлены в виде частот, средних значений ±

среднеквадратичные отклонения (σ) или в виде медиан и перцентилей 25–75 (P25–75). Распределение частот генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди–Вайнберга с помощью критерия χ^2 . Сравнение результатов обследования в исследуемых группах проводили, используя критерий χ^2 , непарный критерий Стьюдента, U-критерий Манна–Уитни, ANOVA, H-критерий Крускала–Уоллиса и точный критерий Фишера. Различия считались достоверными при двустороннем уровне значимости $p < 0,05$. Анализ данных выполнялся с помощью программы Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США).

Результаты и обсуждение

Полиморфизм Gly389Arg

По данным генотипирования, среди пациентов с болезнью Грейвса 5,4% ($n = 9$) имели генотип GG (Gly389Gly), у 57% больных ($n = 94$) был гетерозиготный генотип GC (Gly389Arg) и у 37,6% ($n = 62$) – CC (Arg389Arg). Частота встречаемости аллелей G и C составила 0,34 и 0,66 соответственно. Таким образом, распределение генотипов в группе пациентов с болезнью Грейвса несколько отличалось от их распределения в европейской популяции. По данным литературы, распространенность генотипов гена $\beta 1$ -адренорецептора по полиморфизму Gly389Arg среди здоровых европейцев следующая: GG – 7,9%, GC – 41,5% и CC – 50,6% [26].

В группе контроля распределение генотипов было близким к европейской популяции: GG – 8%, GC – 37% и CC – 55%, частота аллелей составила: аллель G – 0,26, аллель C – 0,74. Встречаемость аллеля G у пациентов с тиреотоксикозом была выше, чем в контрольной группе ($p = 0,01$) (табл. 2).

Также было установлено, что распределение генотипов в группе больных не соответствовало равновесию Харди–Вайнберга. Частота гомозигот была

Таблица 2. Распределение генотипов и частота аллелей гена $\beta 1$ -адренорецептора (полиморфный локус Gly389Arg) в группе пациентов с болезнью Грейвса и тиреотоксикозом и в группе здоровых людей (контроль)

Генотип	Численность пациентов, чел.	Доля, %	Частота аллелей
Пациенты с болезнью Грейвса, $n = 165$			
Группа 1 – GG (Gly389Gly)	9	5,4	C – 0,66
Группа 2 – GC (Gly389Arg)	94	57	G – 0,34*
Группа 3 – CC (Arg389Arg)	62	37,6	
Контрольная группа (здоровые люди), $n = 101$			
CC (Gly389Gly)	8	8	C – 0,74
CG (Gly389/Arg)	37	37	
GG (Arg 389/Arg)	56	55	G – 0,26

* $p = 0,01$ между распространенностью аллелей в группе пациентов с болезнью Грейвса и у здоровых людей.

Таблица 3. Клинико-лабораторные параметры пациентов с различным генотипом гена $\beta 1$ -адренорецептора (Gly389Arg) при первом обследовании (тиреотоксикоз (ТТ))

Параметры	CC ($n = 62$)	GC ($n = 94$)	GG ($n = 9$)
Пол, Ж/М	Ж: 56 (39,4%) М: 6 (26%)	Ж: 78 (55%) М: 16 (69,6%)	Ж: 8 (5,6%) М: 1 (4,4%)
Возраст, лет	$43,3 \pm 9,5$	$42,1 \pm 8,9$	$40,5 \pm 9,8$
Длительность ТТ, мес	10 (6; 24)	10 (7; 20)	7 (5,5; 10)
ЧСС, уд/мин	92 ± 12	99 ± 23	90 ± 6
АД сист., мм рт. ст.	129 ± 16	129 ± 15	134 ± 20
АД диаст., мм рт. ст.	76 ± 10	76 ± 9	77 ± 12
св. T_3 , пмоль/л	12,7 (7,2; 22,3)	11,5 (9,5; 20,7)	10,4 (9,7; 22,1)
св. T_4 , пмоль/л	37,2 (30,4; 54,5)	46,0 (28,0; 57,8)	31,0 (29,4; 92,4)

ниже равновесной (равновесный уровень для генотипа GG – 12%, для генотипа CC – 44%), а частота гетерозигот соответственно, наоборот, выше равновесной (равновесный уровень 45%).

Между группами пациентов с тиреотоксикозом с различным генотипом был проведен сравнительный анализ клинических и лабораторных параметров. Было выявлено, что при первом обследовании уровень АД и ЧСС достоверно не различались у носителей различных генотипов (табл. 3). Различий по параметрам, способным повлиять на развитие сердечно-сосудистых осложнений (возраст, длительность тиреотоксикоза, уровни гормонов), между группами не было. При проведении мультифакторного анализа, включающего вышеперечисленные параметры в качестве ковариант, также не выявлено достоверных различий.

Одной из задач настоящего исследования было сравнение эхокардиографических параметров у носителей различных генотипов гена $\beta 1$ -адренорецептора. Частота ГЛЖ в группе 1 (GG) составила 11%, в группе 2 (GC) – 26,5%, а в группе 3 (CC) – 22,6%. Однако статистически значимой разницы при изучении параметров эхокардиографии у пациентов с разными генотипами по полиморфизму Gly389Arg выяв-

лено не было. Любопытно отметить, что при проведении анализа встречаемости различных вариантов геометрии левого желудочка среди носителей аллеля G в гомозиготном состоянии не было пациентов с концентрической ГЛЖ. Кроме того, у 107 пациентов с болезнью Грейвса был оценен уровень давления в легочной артерии. Легочная гипертензия выявлена у 60 больных (56%). Частота встречаемости легочной гипертензии и средние значения давления в легочной артерии также достоверно не различались в зависимости от вариантов гена $\beta 1$ -адренорецептора.

Все пациенты с болезнью Грейвса были повторно обследованы через год на фоне эутиреоза и продолжающейся тиреостатической терапии. Достоверных отличий между группами с разными генотипами по уровню АД, ЧСС и уровням тиреоидных гормонов не было (табл. 4). При анализе эхокардиографических показателей через год от начала лечения была отмечена разнонаправленная динамика ИММЛЖ: у пациентов с генотипом GG ИММЛЖ имел тенденцию к снижению в отличие от носителей аллеля C, составляющих группы 2 и 3 (табл. 5).

Также был проведен анализ частоты нарушений ритма, ассоциированных с тиреотоксикозом. При этом было отмечено, что фибрилляции предсердий

Таблица 4. Клинико-лабораторные параметры пациентов с различным генотипом гена $\beta 1$ -адренорецептора (Gly389Arg) при обследовании через год после начала лечения (эутиреоз)

Параметры	CC ($n = 62$)	GC ($n = 94$)	GG ($n = 9$)
ЧСС, уд/мин	75 ± 13	79 ± 12	75 ± 4
АД сист., мм рт. ст.	121 ± 14	118 ± 13	122 ± 14
АД диаст., мм рт. ст.	73 ± 7	70 ± 9	69 ± 10
св. T_3 , пмоль/л	4,1 (2,3; 7,5)	6,2 (5,7; 7,9)	3,7 (2,0; 5,4)
св. T_4 , пмоль/л	14,0 (9,3; 20,1)	14,4 (10,1; 19,6)	19,4 (16,7; 27,1)

Таблица 5. ЭхоКГ-параметры у пациентов с различными генотипами по полиморфизму $\beta 1$ -адренорецептора (Gly389Arg) гена $\beta 1$ -адренорецептора при обследовании через год

Группа	ИММЛЖ, г/м ²		Различия между двумя исследованиями
	до лечения	после лечения	
1-я (GG, $n = 9$)	$96,6 \pm 8,06$	88 ± 6	$-35,5 (-60; -11)$
2-я (GC, $n = 94$)	$99,9 \pm 2,69$	$102,6 \pm 2,49$	$-1 (-11; 10,6)$
3-я (CC, $n = 62$)	$99,4 \pm 2,39$	$102 \pm 4,32$	$0 (-16; 4)$
Р vs носители генотипа GG	0,79	0,76	0,03

Таблица 6. Распределение генотипов и частота аллелей гена $\beta 1$ -адренорецептора (полиморфный локус Ser49Gly) в группе пациентов с болезнью Грейвса и тиреотоксикозом и в группе контроля

Группа		n	%	Частота аллелей
Пациенты с болезнью Грейвса и тиреотоксикозом ($n = 165$)	GG (Gly49Gly)	9	5,5	G – 0,22
	AG (Ser49Gly)	56	33,9	A – 0,78
	AA (Ser49Ser)	1100	60,6	
Здоровые люди ($n = 101$)	GG (Gly49Gly)	2	2	G – 0,17
	AG (Ser49Gly)	31	30,7	A – 0,83
	AA (Ser49Ser)	68	67,3	

не было ни у одного из носителей генотипа GG. У гетерозигот ФП развивалась с частотой 19% (18 пациентов из 94), а у гомозигот CC – 9,7% (у 6 пациентов из 62). При сравнении носителей аллеля С с гомозиготой GG у носителей аллеля С ФП также встречалась существенно чаще. Суправентрикулярная экстрасистолия также реже встречалась у носителей генотипа GG (генотип GG – у 30% пациентов, генотип GC – 57%, генотип CC – 42%).

Таким образом, проведенное сопоставление результатов генотипирования по полиморфизму Gly389Arg с различными показателями, оценивающими функциональные и органические изменения в сердечно-сосудистой системе, не показало никаких явных различий между группами пациентов с разными генотипами. И все же можно отметить, что в группе носителей генотипа GG имеется тенденция к более редкому развитию ГЛЖ и нарушений ритма (ФП и наджелудочковой экстрасистолии).

Полиморфизм Ser49Gly

При анализе распределения генотипов по полиморфизму в кодоне 49 гена $\beta 1$ -адренорецептора

(Ser49Gly) было установлено, что среди обследованных пациентов у 5,5% ($n = 9$) был генотип GG, у 33,9% ($n = 56$) – генотип AG и в 60,6% случаев ($n = 100$) – генотип AA. Распределение генотипов соответствовало равновесию Харди–Вайнберга. Частота встречаемости аллелей составила 0,78 и 0,22 для аллелей А и G соответственно. Достоверных различий в распределении генотипов и частоте аллелей при сравнении с группой контроля выявлено не было (табл. 6).

Характеристика пациентов с тиреотоксикозом в зависимости от генотипа до и после лечения представлена в табл. 7 и 8. Как по результатам первого обследования, так и через год достоверных отличий между группами с разными генотипами по уровню АД, ЧСС и уровням тиреоидных гормонов не было.

При сравнении данных эхокардиографии была отмечена связь генотипа GG с более высоким ИММЛЖ как при сопоставлении всех трех вариантов гена ($p = 0,06$), так и при сравнении пациентов с генотипом GG со всеми носителями аллеля А ($p = 0,02$) (табл. 9). Кроме того, в этой же группе (больных с аллелем G в гомозиготном состоянии)

Таблица 7. Клинико-лабораторные параметры пациентов с различным генотипом гена $\beta 1$ -адренорецептора (Ser49Gly) при первом обследовании (тиреотоксикоз (ТТ))

Параметры	AA (<i>n</i> = 100)	AG (<i>n</i> = 56)	GG (<i>n</i> = 9)
Пол, Ж/М	Ж: 88 (62%) М: 12 (52,2%)	Ж: 46 (32,4%) М: 10 (43,5%)	Ж: 8 (5,6%) М: 1 (4,3%)
Возраст, лет	42,1 ± 8,7	42,6 ± 10,3	45,7 ± 5,0
Длительность ТТ, мес	10 (6; 20)	12 (6; 20)	10 (8; 24)
ЧСС, уд/мин	95 ± 20	97 ± 17	92 ± 12
АД сист., мм рт. ст.	129 ± 16	130 ± 15	130 ± 20
АД диаст., мм рт. ст.	75 ± 9	77 ± 10	75 ± 9
св. Т ₃ , пмоль/л	11,1 (9,0; 22,1)	12,7 (9,7; 21,6)	10,0 (9,0; 29,5)
св. Т ₄ , пмоль/л	46,0 (30,5; 61,0)	36,6 (26,0; 54,4)	42,0 (23,8; 50,3)

Таблица 8. Клинико-лабораторные параметры пациентов с различным генотипом гена $\beta 1$ -адренорецептора (Ser49Gly) при обследовании через год после начала лечения (эутиреоз)

Параметры	AA (<i>n</i> = 100)	AG (<i>n</i> = 56)	GG (<i>n</i> = 9)
ЧСС, уд/мин	78 ± 14	77 ± 8	72 ± 12
АД сист., мм рт. ст.	119 ± 14	120 ± 13	117 ± 16
АД диаст., мм рт. ст.	70 ± 8	71 ± 8	73 ± 10
св. Т ₃ , пмоль/л	6,0 (3,4; 7,9)	5,4 (3,7; 7,7)	2,3 (2,0; 2,6)
св. Т ₄ , пмоль/л	15,0 (9,7; 25,0)	11,4 (9,2; 17,0)	19,4 (19,0; 19,4)

Таблица 9. ЭхоКГ-показатели в группе пациентов с болезнью Грейвса с различными генотипами по полиморфизму Ser49Gly гена $\beta 1$ -адренорецептора

Показатели	AA (<i>n</i> = 100)	AG (<i>n</i> = 56)	GG (<i>n</i> = 9)	AA + AG
ИМЛЖ, г/м ²	100,2 ± 22,1	97,0 ± 26,8	118,9 ± 44,9*	99,1 ± 23,8**
Частота легочной гипертензии, %	56,7	55,9	75,0***	

Примечание:

* $p = 0,06$ между носителями генотипа GG и носителями генотипов AA и AG (GG vs AG и GG vs AA).

** $p = 0,02$ между носителями аллеля G в гомозиготном состоянии и носителями аллеля A (GG vs AG + AA).

*** $p > 0,05$: GG vs AG и GG vs AA.

частота ГЛЖ была значительно выше, чем у пациентов с генотипами AG и AA: GG – 55,6%, AG – 26%, AA – 15,5%. Таким образом, выявлена ассоциация аллеля A с более низкой частотой развития ГЛЖ, хотя статистически она представляет собой лишь тенденцию ($p = 0,09$). Значимых различий между группами по частоте встречаемости концентрического или эксцентрического варианта ГЛЖ не было. Оценив уровень давления в легочной артерии у больных с разными генотипами по полиморфизму Ser49Gly, мы выяснили, что статистически достоверных различий в частоте и тяжести легочной гипертензии нет.

При анализе эхокардиографических показателей через год от начала лечения тенденция к более высоким значениям ИМЛЖ у носителей генотипа GG по сравнению с носителями аллеля A не сохранилась.

При оценке частоты встречаемости предсердных нарушений ритма (предсердная экстрасистолия и ФП) у носителей различных генотипов по поли-

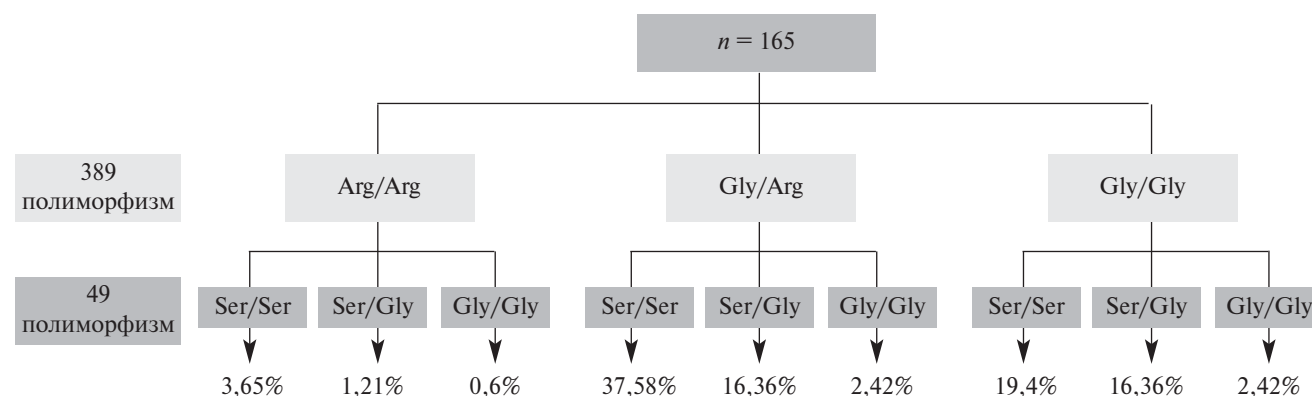
морфизму Ser49Gly достоверных различий ($p = 0,06$, ANOVA) обнаружено не было.

Гаплотипы (комбинации генотипов по полиморфизмам Gly389Arg и Ser49Gly)

Поскольку эффекты отдельных полиморфизмов могут быть связаны не с самим изучаемым маркером, а со сцепленным с ним функционально значимым вариантом [26], анализ ассоциаций на уровне гаплотипов может оказаться более мощным и информативным средством. Учитывая обнаруженные тенденции к наличию взаимосвязи полиморфизмов $\beta 1$ -АР с ремоделированием левого желудочка, а также с предсердными нарушениями ритма, представляло интерес изучение взаимодействия этих полиморфизмов при влиянии на вышеуказанные параметры. Было установлено, что хотя статистически достоверных ассоциаций каких-либо гаплотипов с ГЛЖ, ФП, ЧСС или АД нет, однако обнаружена тенденция к наименьшему риску развития ФП у но-

Таблица 10. Частота встречаемости фибрилляции предсердий при различных комбинациях генотипов по изученным полиморфизмам гена $\beta 1$ -адренорецептора

Сочетания генотипов Ser49Gly / Gly389Arg	Нет фибрилляции предсердий	Есть фибрилляция предсердий	Всего
AG/CC	57; 75,7%	18; 24,3%	75
GG/CC	36; 97,3%	1; 2,7%	37
AG/CG	27; 90,0%	3; 10,0%	30
GG/CG	18; 78,3%	5; 21,7%	23
Всего	137; 83,5%	27; 16,5%	165



Частота встречаемости различных гаплотипов по полиморфизмам Gly389Arg и Ser49Gly.

сителей комбинации генотипа GG по полиморфизму Ser49Gly и генотипа CC по полиморфизму Gly389Arg (табл. 10). Вероятность развития ФП у носителей этой комбинации генотипов была ниже 3%. Частота встречаемости гаплотипов в исследованной популяции пациентов с ТТ показана на рисунке.

Обсуждение

Суммируя результаты настоящего исследования, можно заключить, что полиморфизмы $\beta 1$ -адренорецептора Gly389Arg и Ser49Gly в изученной выборке оказывали очень небольшое влияние на характер и тяжесть поражения сердечно-сосудистой системы у пациентов с болезнью Грейвса и тиреотоксикозом. Полученные в настоящей работе данные показывают, что ЧСС и уровень АД достоверно не различаются в зависимости от генотипа больного по полиморфизму в локусах 389 и 49 $\beta 1$ -АР. Эти результаты согласуются со многими проведенными исследованиями. В двух работах, анализировавших изменение ЧСС во время стресс-ЭхоКГ, и в одной работе, где изучалось влияние вариантов гена $\beta 1$ -адренорецептора на ЧСС у пациентов с артериальной гипертензией, также не было выявлено связи ЧСС с генотипами $\beta 1$ -АР [20–22]. Однако в литературе имеются и другие данные. В 2002 г. были опубликованы результаты работы, в которой проводилось обследование более 1000 человек с артериальной гипертензией

и было выявлено, что полиморфизм Ser49Gly оказывает значительное влияние на ЧСС в покое: у гомозиготных по аллелю Ser пациентов средний уровень ЧСС оказался самым высоким, гетерозиготный генотип обуславливал промежуточные цифры ЧСС, а гетерозиготные по аллелю Gly пациенты имели наиболее низкую ЧСС [23]. Кроме того, в 2006 г. финские ученые, обследовав более 800 человек с ишемической болезнью сердца, обнаружили, что ЧСС в покое значительно выше у пациентов с генотипом Ser49Ser [24].

Оценивая данные ЭхоКГ, мы выявили тенденцию (не достигшую статистически достоверных уровней) к более низкой частоте ГЛЖ у пациентов с генотипом GG по полиморфизму Gly389Arg и с генотипом AA по полиморфизму Ser49Gly. Ассоциация аллеля С (полиморфизм Gly389Arg) с ГЛЖ подтверждается данными литературы [12], тогда как работ, результаты которых демонстрировали бы влияние полиморфизма Ser49Gly на риск развития ГЛЖ, нет.

Кроме того, мы провели анализ влияния изучаемых полиморфизмов на риск развития предсердных нарушений ритма при ТТ. Достоверной ассоциации полиморфизмов ни с ФП, ни с наджелудочковой экстрасистолей выявлено не было. В литературе же имеются очень противоречивые данные о том, при каком варианте гена $\beta 1$ -адренорецептора чаще встречается ФП. В одном из исследований, изучав-

шем клинико-генетические особенности ФП, у больных как с первичной, так и со вторичной ФП достоверно преобладал гетерозиготный генотип гена $\beta 1$ -адренорецептора по полиморфизму Ser49Gly, поэтому данная мутация в 49-м кодоне $\beta 1$ -адренорецептора рассматривается авторами как один из генетических предикторов возникновения ФП [17]. Мы отметили аналогичную тенденцию для гетерозигот по полиморфизму $\beta 1$ -адренорецептора (Gly389Arg). В другом исследовании при изучении группы больных с ФП и сердечной недостаточностью была выявлена достоверная связь генотипов Ser49Ser и Arg389Arg с ФП [18].

Что касается изучения ассоциации полиморфизмов в 49-м и 389-м кодонах $\beta 1$ -АР, то в нашем исследовании не было выявлено достоверной связи гаплотипов с какими-либо изучаемыми параметрами ЭхоКГ или клиническими показателями работы сердечно-сосудистой системы, хотя риск ФП у носителей комбинации генотипов GG по полиморфизму Ser49Gly и CC по полиморфизму Gly389Arg был очень низким. В литературе имеются некоторые данные о связи гаплотипов этих полиморфизмов и ЧСС, а точнее, с влиянием на успешность контроля уровня ЧСС при ФП: пациенты с гаплотипом Arg389Arg-Ser49Ser требовали наиболее высоких доз бета-блокаторов для достижения целевой ЧСС [19]. Можно полагать, что имеющиеся противоречия связаны с этническими и этиологическими различиями в обследованных разными исследователями группах.

Выводы

Ограничением данного исследования является небольшой объем выборки. Существует вероятность, что при накоплении большего объема данных выраженность различий станет более значимой, что позволит рекомендовать включение генотипирования на изученные полиморфизмы в обследование больных с ТТ для повышения точности прогноза и выбора правильной тактики ведения пациентов. Выявление предикторов сердечно-сосудистого риска при ТТ, в том числе и генетических, остается актуальной темой, требующей дальнейших исследований.

Список литературы

1. Grineva EN, Babenko AY, Kostareva AA et al. Type 2 deiodinase Thr92Ala polymorphism impact on clinical course and myocardial remodeling in patients with Graves' disease. *Cell Cycle*. 2009;8(16):2565-2569.
2. Babenko AY, Popkova DA, Freylihman OA et al. Thr92Ala polymorphism of human type 2 deiodinase gene (hD2) affects the development of Graves' disease, treatment efficiency, and rate of remission. *Clinical and Developmental Immunology*. 2012. ID 340542.
3. Strader CD, Fong TM, Tota MR et al. Structure and function of G protein-coupled receptors. *Ann Rev Biochem*. 1994;63(1):101-132.
4. Brodde OE, Bruck H, Leineweber K et al. Presence, distribution and physiological function of adrenergic and muscarinic receptor subtypes in the human heart. *Basic Res Cardiol*. 2001;96:528-538.
5. Yatani A, Brown AM. Rapid beta-adrenergic modulation of cardiac calcium channel currents by a fast G protein pathway. *Science*. 1989;245:71-74.
6. Williams LT, Lefkowitz RJ. Thyroid hormone regulation of β -adrenergic receptor number. *J Biol Chemistry*. 1977;252(8):2787-2789.
7. Bahouth SW. Thyroid hormones transcriptionally regulate the $\beta 1$ -adrenergic receptor gene in cultured ventricular myocytes. *J Biol Chemistry*. 1991;266:15863-15869.
8. Mason DA, Moore JD, Green SA et al. A gain-of-function polymorphism in a G-protein coupling domain of the human $\beta 1$ -adrenergic receptor. *J Biol Chemistry*. 1999;274:12670-12674.
9. Magbool A, Hall AS, Ball SG et al. Common polymorphisms of $\beta 1$ -adrenoreceptor: identification and rapid screening assay. *Lancet*. 1999;353:897.
10. Jones A, Montgomery H. The Gly389Arg beta-1 adrenoreceptor polymorphism and cardiovascular disease: time for a rethink in the funding of genetic studies? *Eur Heart J*. 2002;23:1071-1074.
11. Iwai C, Akita H, Shiga N et al. Suppressive effect of the Gly389 allele of the $\beta 1$ -adrenergic receptor gene on the occurrence of ventricular tachycardia in dilated cardiomyopathy. *Circulation J*. 2002;66(8):723-728.
12. Fu C, Wang H, Wang S et al. Association of beta(1)-adrenergic receptor gene polymorphisms with left ventricular hypertrophy in human essential hypertension. *Clin Biochemistry*. 2008;41(10):773-778.
13. Levin M, Marullo S, Muntaner O et al. The myocardium-protective Gly-49 variant of the beta1-adrenergic receptor exhibits of constitutive activity and increased desensitization and down-regulation. *J Biol Chemistry*. 2002;277:30429-30435.
14. Rathz DA, Brown KM, Kramer LA et al. Amino acid 49 polymorphisms of the human beta1-adrenergic receptor affect agonist-promoted trafficking. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2002;39:155-160.
15. Borjesson M, Magnusson Y, Hjalmarson A et al. A novel polymorphism in the gene coding for the $\beta 1$ -adrenergic receptor associated with survival in patients with heart failure. *Eur Heart J*. 2000;21:1853-1858.
16. Wagoner LE, Craft LL, Zengel P et al. Polymorphisms of the $\beta 1$ -adrenergic receptor predict exercise capacity in heart failure. *Am Heart J*. 2002;144(5):840-846.
17. Niculina SY, Shulman VA, Kuznecova OO et al. Clinico-genetic features atrial fibrillation. *Racional Pharmacotherapy in Cardiology*. 2008;2:13-18.
18. Nascimento BC, Pereira SB, Ribeiro GS et al. Beta1-adrenergic receptor polymorphisms associated with atrial fibrillation in systolic heart failure. *Arq Bras Cardiol*. 2012;98(5):384-389.
19. Parvez B, Chopra N, Rowan S et al. A common $\beta 1$ -adrenergic receptor polymorphism predicts favorable response to rate-control therapy in atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol*. 2012;59(1).
20. Banas A, Plonska E, Kurzawski M et al. Effect of ADRB1 1165C>G and 145A>G polymorphisms on hemodynamic response during

- dobutamine stress echocardiography. *Eur J Clin Pharmacol*. 2011;67:477-482.
21. Aquilante CL, Yarandi NH, Cavallari LH et al. β -Adrenergic receptor gene polymorphisms and hemodynamic response to dobutamine during dobutamine stress echocardiography. *The Pharmacogenomics Journal*. 2008;8:408-415.
 22. Peng Y, Xue H, Luo L et al. Polymorphisms of the β_1 -adrenergic receptor gene are associated with essential hypertension in Chinese. *Clin Chem Lab Med*. 2009;47(10):1227-1231.
 23. Ranade K, Jorgenson E, Sheu W et al. A Polymorphism in the β_1 adrenergic receptor is associated with resting heart rate. *Am J Hum Genet*. 2002;70:935-942.
 24. Nieminen T et al. Effects of polymorphisms in β_1 -adrenoceptor and α -subunit of G protein on heart rate and blood pressure during exercise test. The Finnish Cardiovascular Study. *Journal of Applied Physiology*. 2006;100(2):507-511.
 25. Bengtsson K, Melander O, Orho-Melander M et al. Polymorphism in the β_1 -adrenergic receptor gene and hypertension. *Circulation*. 2001;104(2):187-190.
 26. Altshuler D, Daly MJ, Lander ES. Genetic mapping in human disease. *Science*. 2008;322(5903):881-888.

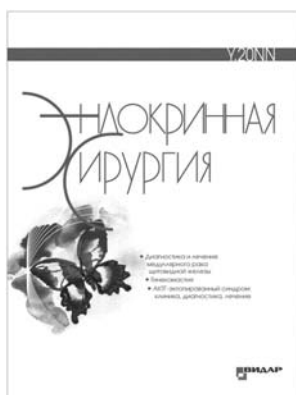
Подписка



на научно-практический журнал “КЛИНИЧЕСКАЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТИРЕОИДОЛОГИЯ”

на 2015 год Выходит 4 раза в год

Подписные индексы и стоимость подписки в каталоге Роспечати на полгода (два номера) – 240 рублей (индекс 80261).



на научно-практический журнал “ЭНДОКРИННАЯ ХИРУРГИЯ”

на 2015 год
Выходит 4 раза в год

Подписные индексы и стоимость подписки в каталоге Роспечати на полгода (два номера) – 240 рублей (индекс 83601).

Кроме того, подписку на год, на любое полугодие или на 1 мес можно оформить непосредственно в Издательском доме Видар-М, а также на нашем сайте (<http://www.vidar.ru>).

**Контакты
по вопросам подписки
и приобретения**

Тел./факс: (495) 589-86-60, 768-04-34, 912-76-70; e-mail: info@vidar.ru <http://www.vidar.ru>
Почтовый адрес: 109028 Москва, а/я 16, Издательский дом Видар-М.
Для посетителей: Москва, ул. Станиславского, д.25
Часы работы: с 10 до 18, кроме выходных и праздничных дней.