

Асоціація поліморфізмів генів β -адренорецепції з перебігом серцевої недостатності

Мета роботи — вивчити взаємозв'язок поліморфізмів генів β -адренорецепції з перебігом серцевої недостатності (СН).

Матеріали та методи. У дослідження залучили 285 пацієнтів із СН на тлі післяінфарктного кардіосклерозу. Проводилось генотипування за 4 поліморфізмами (Gly389Arg гена β_1 -адренорецепторів, Ser49Gly гена β_1 -адренорецепторів, Gln27Glu гена β_2 -адренорецепторів та Ser275 гена β_3 -субодиниці G-протеїну) за допомогою полімеразно-ланцюгової реакції. За 2 роки спостереження з 285 хворих на СН 81 (28,4 %) мав повторну госпіталізацію чи амбулаторне внутрішньовенне застосування петлевих діуретиків у зв'язку з декомпенсацією патології. За вказаний період померли 18 хворих (6,3 %). Комбіновану кінцеву точку мали 93 пацієнти (32,6 %). Генетико-епідеміологічний аналіз здійснювався за допомогою програми SNPStats.

Результати та обговорення. Алель А поліморфізму Ser49Gly (с.145А > G) гена β_1 -адренорецепції асоційований зі зниженням ризику комбінованої кінцевої точки у хворих на СН (відношення шансів (ВШ) = 0,52 (0,28–0,96); $p = 0,032$, домінуюча модель та ВШ = 0,51 (0,28–0,92); $p = 0,02$, у лог-адитивній моделі спадковості). Даний алель поліморфізму Ser49Gly (с.145А > G) гена β_1 -АР також асоційований зі зниженням частоти повторної госпіталізації (ВШ = 0,50 (0,26–0,95); $p = 0,028$, домінуюча модель спадковості та ВШ = 0,49 (0,26–0,92); $p = 0,019$, у лог-адитивній моделі). Алель G поліморфізму Gln27Glu (с.79С > G) гена β_2 -АР підвищує ризик комбінованої кінцевої точки у хворих на СН (ВШ = 1,76 (1,04–2,96); $p = 0,032$, домінуюча модель спадковості та ВШ = 1,75 (1,06–2,90); $p = 0,029$, у наддомінантній моделі). Не виявлено достовірного впливу поліморфізму Gly389Arg (с.1165G > C) гена β_1 -АР та поліморфізму Ser275 (с.79С > G) гена GNB β_3 на особливості перебігу СН.

Висновки. Отримані результати дозволяють зробити висновок про те, що особливості перебігу серцевої недостатності можуть мати асоціацію з генетичними відмінностями в шляхах β -адренорецепції.

Ключові слова:

β_1 -адренорецептори, β_2 -адренорецептори, G-протеїн, серцева недостатність, поліморфізм, ген, ризик, перебіг захворювання.

Серцева недостатність (СН) — важлива проблема охорони здоров'я в більшості країн світу [14]. Генетична варіабельність становить основу фенотипової мінливості людини та має величезне значення для розуміння відмінностей у осіб, схильних до мультифакторних захворювань. Виявлення генетичних предикторів, що визначають особливості перебігу та прогноз СН, є одним з ключових напрямів у сучасній медицині [10]. Дослідження поліморфізмів генів системи β -адренорецепції при СН вважається перспективними, оскільки активація симпатoadреналової системи є важливою ланкою патогенезу захворювання.

Мета роботи — вивчити взаємозв'язок поліморфізмів генів β -адренорецепції з перебігом серцевої недостатності.

Матеріали та методи

Усі процедури за участю пацієнтів було проведено відповідно до етичних норм Гельсінської декларації. Із січня 2015 р. до червня 2019 р.



**С.М. Пивовар,
Ю.С. Рудик,
Т.В. Лозик,
В.Ю. Гальчінська,
Т.М. Бондар**

ДУ «Національний інститут терапії імені Л.Т. Малої НАМН України», Харків

КОНТАКТНА ІНФОРМАЦІЯ

Пивовар Сергій Миколайович
к. мед. н., ст. наук. співр.
відділу клінічної фармакології
та фармакогенетики неінфекційних
захворювань

61039, м. Харків, просп. Л. Малої, 2А
E-mail: sn_p@ukr.net

Стаття надійшла до редакції
12 жовтня 2019 р.

Таблиця 1. Характеристика популяції, що вивчалася

Параметр	Контрольна група (n = 55)	Хворі на СН (n = 285)	p
Вік, роки	57,00 [52,00—65,00]	58,00 [54,00—67,00]	0,134
Чоловіки, n (%)	37 (67,3)	200 (70,2)	0,854
Жінки, n (%)	18 (32,7)	85 (29,8)	

ми включили до дослідження хворих та проводили за ними перспективне спостереження (протягом 2 років). Хворі були залучені до дослідження на момент госпіталізації до кардіологічного відділення у зв'язку з декомпенсацією СН.

У дослідження залучили 285 хворих на СН (85 жінок та 200 чоловіків) європеїдної раси. *Критерії залучення:* підписання інформованої згоди, інфаркт міокарда (ІМ) в анамнезі, верифікований діагноз СН — II–IV ФК за NYHA. *Критерії виключення:* не підписання інформованої згоди, гемодинамічно значущі клапанні вади серця, замісна гормональна терапія L-тироксином, тиреосупресивне лікування, клінічний чи субклінічний гіпотиреоз, тиреотоксикоз, запальні захворювання, інші серйозні патології (пухлина, туберкульоз), що могли б ускладнити лікування чи знизити очікувану тривалість життя.

Контрольну групу склали 55 здорових осіб (без наявності ішемічної хвороби серця, СН, тиреоїдної патології), з яких 18 жінок (32,7 %) та 37 — чоловіків (67,3 %). Середній вік склав 57,00 [52,00—65,00] року. Статистичний аналіз не виявив достовірної різниці за розподілом частот статі та віку між контрольною групою та хворими на СН (табл. 1).

Діагностування СН, а також лікування хворих проводили відповідно до рекомендацій Європейського товариства кардіологів [14].

Протягом 2 років спостерігали за хворими, враховували наявність повторної госпіталізації з приводу декомпенсації СН чи внутрішньовенне застосування петлевих діуретиків за призначенням кардіолога. Враховували смертність. За даними показниками визначали комбіновану

кінцеву точку (ККТ), як поєднання смерті та госпіталізації чи внутрішньовенне застосування петлевих діуретиків.

При відборі генних поліморфізмів використовувалися три основних критерії: 1) локалізація в генах системи β -адренорецепції; 2) частота мінорного алеля в європейській популяції $\geq 5\%$ за даними НарМар; 3) мала кількість, відсутність досліджень чи суперечливість даних щодо ролі того чи іншого поліморфізму при перебігу СН. Для відбору поліморфізмів використовувалися бази даних dbSNP, SNPinfo і SNPnexus. Загалом було відібрано 4 поліморфізми в трьох генах. У табл. 2 наведено специфічні праймери для генотипування. Лабораторний персонал не знав, до якої групи належать пацієнти; 10 % всіх зразків ДНК генотипувалися повторно з метою контролю якості.

Кров для молекулярно-генетичних досліджень відбирали у вакуутайнери Vacutest із K3EDTA. ДНК виділяли з цільної крові з використанням набору реактивів «ДНК-сорб-В» («Амплісенс», РФ). Виділену ДНК зберігали до проведення ампліфікації при температурі -20°C не більше 3 міс. Генотипування поліморфних сайтів генів β_1 -адренорецепторів (β_1 -AP) (rs1801253; c.1165G > C; p.Gly389Arg), β_2 -адренорецепторів (β_2 -AP) (rs1042714; c.79C > G; p.Gln27Glu) і гена β_3 -субодиниці G-протеїну (GN β_3) (rs5443; c.825C > T; p.Ser275=) проводили методом полімеразної ланцюгової реакції в режимі реального часу (ПЛР-РЧ) з використанням наборів реактивів виробництва компанії «Синтол» відповідно до інструкції виробника. Для генотипування поліморфізму Ser49Gly гена β_1 -AP (rs1801252; c.145A > G; p.Ser49Gly) використовували TaqMan SNP Genotyping Assay (Assay ID C_8898508_10) і Universal PCR Master Mix (Ref. 4304437) (Thermo Fisher Scientific, США) відповідно до TaqMan® Universal PCR Master Mix USER GUIDE (Applied Biosystems by Life Technologies). Ампліфікацію проводили за допомогою системи детекції продуктів ПЛР-РЧ CFX96 Touch (BioRad). Для алельної дискримінації

Таблиця 2. Характеристика вивчених поліморфізмів

Ген	Поліморфізм	Нуклеотидна заміна	Амінокислотна заміна	5'-3'(F)- та 3'-5'(R)-праймери для полімеразної ланцюгової реакції
β_1 -AP	rs1801253	c.1165G > C	Gly389Arg	F: ccccgactctccgaaggccttccag R: gactgctctgctgcgcgcagggc
β_1 -AP	rs1801252	c.145A > G	p.Ser49Gly	F: ctgctgtgctcctcccgccagcgaa R: gcccgagccgctgtctcagcagtg
β_2 -AP	rs1042714	c.79C > G	p.Gln27Glu	F: tgcgcgcggaccacgacgtcacgcag R: aaaggacgaggtgtgggtgtgtggg
GN β_3	rs5443	c.825C > T	p.Ser275=	F: agagcatcatctgcggcatcacgtc R: gtggccttctccctcagtgccgcc

Таблиця 3. Рівновага Харді—Вайнберга (значення p)

Поліморфізм	Контрольна група (n = 52)	Хворі на СН (n = 285)	Загалом
Gly389Arg гена β_1 -AP	0,55	0,22	0,14
Ser49Gly гена β_1 -AP	0,55	0,44	0,17
Gln27Glu гена β_2 -AP	0,43	0,16	0,091
Ser275 гена GNP β_3	0,65	1	1

Таблиця 4. Характеристика груп хворих на СН (n = 285)

Параметр	Комбінована кінцева точка		p
	Відсутня (n = 192)	Присутня (n = 93)	
Вік, роки	58,00 [54,00 — 67,00]	58,00 [55,00 — 67,00]	0,944
Чоловіки, n (%)	140 (71.8)	60 (64.5)	p = 0,960

використовували програмне забезпечення CFX Manager Software.

Усі вивчені нами поліморфізми були в рівновазі Харді—Вайнберга (табл. 3). Це виключало ймовірність помилки генотипування.

Аналіз нормальності розподілу показників проводили за допомогою критерію Шапіро—Уїлка. Дані наведено як медіану (Me) й інтерквартильний діапазон (розподіл даних відрізнявся від нормального). Кількісні показники порівнювали за допомогою непараметричного критерію Манна—Уїтні та парного Т-тесту (при дослідженні динаміки параметрів). Різницю серед частот ознак у групах оцінювали за критерієм χ^2 Пірсона. Розраховували відношення шансів (ВШ) з 95 % довірчим інтервалом (ДІ). Різницю між значеннями вважали статистично достовірною за рівня критерію значущості $p < 0,05$. Статистичну обробку проводили за допомогою пакетів програм IBM®SPSS® Statistics, 20.0 (free-download full Version). Генетико-епідеміологічний аналіз здійснювали за допомогою онлайн програми SNPStats з поправкою за віком та статтю.

Результати та обговорення

За 2 роки спостереження із 285 хворих на СН 81 (28,4 %) хворий мав повторну госпіталізацію чи амбулаторне внутрішньовенне застосування петлевих діуретиків у зв'язку з декомпенсацією патології. За вказаний період померли 18 хворих (6,3 %). Комбіновану кінцеву точку мали 93 пацієнти (32,6 %).

Під час аналізу асоціації поліморфізмів генів системи β -адренорецепції з ризиком розвитку комбінованої кінцевої точки хворих було розподілено на дві групи: до першої увійшли 192 (67,4 %) пацієнти, які не мали комбінованої кінцевої точки протягом 2 років; до другої — 93 хворих з несприятливим перебігом патології. Групи хворих не відрізнялися між собою за статтю та віком (табл. 4).

Статистичний аналіз продемонстрував, що у групі хворих на СН наявність алеля A (A/G-A/A) поліморфізму Ser49Gly гена β_1 -AP асоційована із зниженням ризику комбінованої кінцевої точки (ВШ = 0,52 (0,28—0,96); $p = 0,032$; домінантна модель спадковості) (табл. 5).

Дані про зниження ризику розвитку комбінованої кінцевої точки у хворих на СН за наявності алеля A поліморфізму Ser49Gly гена β_1 -AP підтверджуються й у лог-адитивній моделі спадковості (ВШ = 0,51 (0,28—0,92); $p = 0,02$).

Подальші розрахунки показали, що алель G (C/G-G/G) поліморфізму Gln27Glu гена β_2 -AP підвищує ризик комбінованої кінцевої точки у хворих на СН протягом 2 років (ВШ = 1,76 (1,04—2,96); $p = 0,032$; домінантна модель спадковості). Дані про підвищення ризику комбінованої кінцевої точки у хворих на СН за наявності алеля G поліморфізму Gln27Glu гена β_2 -AP підтверджуються й у наддомінантній моделі спадковості (ВШ = 1,75 (1,06—2,90); $p = 0,029$).

За іншими поліморфізмами, що вивчалися, статистично значущої різниці не виявлено. Поправка аналізу за віком та статтю не призвела до зміни результатів.

Аналіз також продемонстрував, що для поліморфізму Gln27Glu гена β_2 -AP мало місце відхилення від рівноваги Харді—Вайнберга у групі хворих без комбінованої кінцевої точки ($p = 0,026$) за рахунок нестачі гетерозигот (38,02 % серед хворих без ККТ проти 51,6 % у групі з несприятливим перебігом СН) (табл. 6).

У групі хворих на СН із ККТ та в когорті всіх хворих відхилення рівноваги Харді—Вайнберга не спостерігалось (табл. 6).

Статистичний аналіз не продемонстрував достовірного зв'язку поліморфізмів генів системи β -адренорецепції з дворічною смертністю хворих на СН.

Ми проаналізували асоціації поліморфізмів генів системи β -адренорецепції з ризиком

Таблиця 5. Зв'язок поліморфізмів генів системи β -AP з ризиком комбінованої кінцевої точки протягом 2 років у хворих на СН

Модель спадковості	Генотип	Без ККТ	Із ККТ	ВШ (95 % ДІ)	p	ІКА	PXB
Поліморфізм Gly389Arg гена β ₁ -AP (n = 280)							
Кодомінантна	G/G	105 (55 %)	50 (56,2 %)	1,00	0,14	354,1	0,22
	G/C	66 (34,5 %)	35 (39,3 %)	1,11 (0,65—1,90)			
	C/C	20 (10,5 %)	4 (4,5 %)	1,11 (0,65—1,90)			
Домінантна	G/G	105 (55 %)	50 (56,2 %)	1,00	0,79	355,9	
	G/C-C/C	86 (45 %)	39 (43,8 %)	0,93 (0,56—1,55)			
Рецесивна	G/G-G/C	171 (89,5 %)	85 (95,5 %)	1,00	0,052	352,2	
	C/C	20 (10,5 %)	4 (4,5 %)	0,36 (0,12—1,11)			
Наддомінантна	G/G-C/C	125 (65,5 %)	54 (60,7 %)	1,00	0,43	355,4	
	G/C	66 (34,5 %)	35 (39,3 %)	1,24 (0,73—2,09)			
Лог-адитивна	—	—	—	0,82	(0,55—1,22)	0,31	
Поліморфізм Ser49Gly гена β ₁ -AP (n = 285)							
Кодомінантна	G/G	135 (70,3 %)	76 (81,7 %)	1,00	0,037	361,1	0,44
	A/G	54 (28,1 %)	17 (18,3 %)	0,56 (0,30—1,03)			
	A/A	3 (1,6 %)	0 (0 %)	0,00 (0,00—NA)			
Домінантна	G/G	135 (70,3 %)	76 (81,7 %)	1,00	0,032	361,1	
	A/G-A/A	57 (29,7 %)	17 (18,3 %)	0,52 (0,28—0,96)			
Рецесивна	G/G-A/G	189 (98,4 %)	93 (100 %)	1,00	0,087	362,8	
	A/A	3 (1,6 %)	0 (0 %)	0,00 (0,00—NA)			
Наддомінантна	G/G-A/A	138 (71,9 %)	76 (81,7 %)	1,00	0,067	362,4	
	A/G	54 (28,1 %)	17 (18,3 %)	0,57 (0,31—1,06)			
Лог-адитивна	—	—	—	0,51 (0,28—0,92)	0,02	360,3	
Поліморфізм Gln27Glu гена β ₂ -AP (n = 284)							
Кодомінантна	C/C	88 (46,1 %)	31 (33,3 %)	1,00	0,068	361,5	0,16
	C/G	73 (38,2 %)	48 (51,6 %)	1,91 (1,10-3,33)			
	G/G	30 (15,7 %)	14 (15,1 %)	1,37 (0,64—2,93)			
Домінантна	C/C	88 (46,1 %)	31 (33,3 %)	1,00	0,032	360,4	
	C/G-G/G	103 (53,9 %)	62 (66,7 %)	1,76 (1,04—2,96)			
Рецесивна	C/C-C/G	161 (84,3 %)	79 (85 %)	1,00	0,92	364,9	
	G/G	30 (15,7 %)	14 (15,1 %)	0,97 (0,48—1,93)			
Наддомінантна	C/C-G/G	118 (61,8 %)	45 (48,4 %)	1,00	0,029	360,2	
	C/G	73 (38,2 %)	48 (51,6 %)	1,75 (1,06—2,90)			
Лог-адитивна	—	—	—	1,29	(0,91—1,83)	0,16	
Поліморфізм Ser275 гена GNβ ₃ (n = 284)							
Кодомінантна	C/C	98 (51,3 %)	51 (54,8 %)	1,00	0,27	364,3	1
	C/T	75 (39,3 %)	38 (40,9 %)	0,97 (0,58—1,63)			
	T/T	18 (9,4 %)	4 (4,3 %)	0,42 (0,14—1,32)			
Домінантна	C/C	98 (51,3 %)	51 (54,8 %)	1,00	0,57	364,6	
	C/T-T/T	93 (48,7 %)	42 (45,2 %)	0,87 (0,53—1,43)			
Рецесивна	C/C-C/T	173 (90,6 %)	89 (95,7 %)	1,00	0,11	362,4	
	T/T	18 (9,4 %)	4 (4,3 %)	0,43 (0,14—1,30)			
Наддомінантна	C/C-T/T	116 (60,7 %)	55 (59,1 %)	1,00	0,8	364,9	
	C/T	75 (39,3 %)	38 (40,9 %)	1,07 (0,64—1,78)			
Лог-адитивна	—	—	—	0,80 (0,54—1,19)	0,27	363,7	

Примітка. ІКА — інформаційний критерій Акаїке; PXB — рівновага Харді—Вайнберга.

повторної госпіталізації чи внутрішньовенним застосуванням петлевих діуретиків у зв'язку з декомпенсацією СН. Не виявлено зв'язку поліморфізмів Gly389A гена β_1 -AP та Ser275 гена $\text{GN}\beta_3$ з ризиком повторної госпіталізації.

Разом з тим, встановлено, що носійство А алеля (A/G-A/A) поліморфізму Ser49Gly гена β_1 -AP асоційовано із зниженням частоти повторної госпіталізації (ВШ = 0,50 (0,26—0,95); p = 0,028; домінантна модель спадковості та ВШ = 0,49

Таблиця 6. Точний тест рівноваги Харді—Вайнберга (поліморфізм Gln27Glu гена β_2 -AP)

Група хворих	Алель					p
	N1-1	N1-2	N2-2	N1	N2	
Усі хворі (n = 285)	120	121	44	361	209	0,16
Без ККТ (n = 192)	89	73	30	251	133	0,026
Із ККТ (n = 93)	31	48	14	110	76	0,67

Таблиця 7. Зв'язок поліморфізмів генів системи β_1 -AP з ризиком повторної госпіталізації хворих на СН

Модель спадковості	Генотип	Без повторної госпіталізації	З повторною госпіталізацією	ВШ (95 % ДІ)	p	ІКА	PXB
Поліморфізм Ser49Gly гена β ₁ -AP (n = 285)							
Кодомінантна	G/G	144 (70,6 %)	67 (82,7 %)	1,00	0,042	342,9	0,44
	A/G	57 (27,8 %)	14 (17,3 %)	0,52 (0,27—1,01)			
	A/A	3 (1,5 %)	0	0,00 (0,00—NA)			
Домінантна	G/G	144 (70,6 %)	67 (82,7 %)	1,00	0,028	342,4	
	A/G-A/A	60 (29,4 %)	14 (17,3 %)	0,50 (0,26—0,95)			
Рецесивна	G/G-A/G	201 (98,5 %)	81 (100 %)	1,00	0,13	345,0	
	A/A	3 (1,5 %)	0	0,00 (0,00—NA)			
Наддомінантна	G/G-A/A	147 (72,1 %)	67 (82,7 %)	1,00	0,054	343,6	
	A/G	57 (27,9 %)	14 (17,3 %)	0,54 (0,28—1,03)			
Лог-адитивна	—	—	—	0,49 (0,26—0,92)	0,019	341,8	

Примітка. ІКА — інформаційний критерій Акаїке; PXB — рівновага Харді—Вайнберга.

(0,26—0,92); $p = 0,019$, у лог-адитивній моделі) (табл. 7).

Статистичний аналіз не продемонстрував достовірного ступеня асоціації ризику дворічної смерті хворих на СН з поліморфізмами генів системи β -адренорецепції.

Ген β_1 -AP локалізований у хромосомі 10q24-26. Відомо про два клінічно значущих поліморфізми, пов'язані з одонуклеотидними замінами: в позиції 49 (позаклітинний N-термінальний сайт), асоційований із заміною амінокислоти серину (Ser) на гліцин (Gly) та в позиції 389 (внутрішньоклітинний карбокситермінальний сайт) — із заміною аргініну (Arg) на гліцин. Частота алеля Gly в європейській популяції становить 0,23 [6]. Передбачається, що ці варіанти β_1 -AP відіграють важливу роль у клінічному перебігу СН.

Для вивчення поліморфізму Arg389Gly проводились дослідження культури клітин за допомогою спрямованого мутагенезу. Було встановлено, що в кардіоміоцитах мишей, які мали алель Arg389, порівняно з носіями Gly389Gly, спостерігається значно вищий базальний рівень активності аденілатциклази, яка втричі підвищувалася при стимуляції ізопротеренолом. Алель Arg389 пов'язаний з покращенням рецепторної функції та високою скоротливою здатністю міокарда молодих мишей. Однак у 6-місячних мишей з алелем Arg389 спостерігалось зниження інотропної дії добутаміну, зменшення сигналу β_1 -AP та зниження скоротливої здатності міокар-

да. У мишей — носіїв алеля Arg389 спостерігався фіброз міокарда та патологічна експресія фетальних та гіпертрофічних генів. Гемодинамічний вплив пропранололу був сильніший при генотипі Arg389Arg.

Для вивчення зв'язку поліморфізму β_1 -AP з відновленням скоротливої здатності міокарда в умовах короткотривалої ішемії з наступною реперфузією було проведено дослідження на мишах з людським геном β_1 -AP. Дослідники звернули увагу, що 6-місячні миші з алелем Arg389 у порівнянні з мишами — носіями Gly389Gly мали кращу здатність до відновлення скоротливої функції міокарда, тобто алельний варіант Arg389 забезпечував кардіопротективний ефект після ішемічного та реперфузійного ураження міокарда [3].

В іншому дослідженні, проведеному на ізольованих трабекулах біопатів правих шлуночків хворих на термінальну СН, негативний інотропний ефект буциндололу був зареєстрований тільки у носіїв алеля Arg389, але не Gly389 Gly. Вплив карведілолу на скоротливість трабекул не залежав від генотипу поліморфізму Arg389Gly β_1 -AP.

Існують дані про більшу тривалість перебування в стаціонарі пацієнтів — носіїв алеля Gly389 поліморфізму Arg389Gly, яким було проведено кардіохірургічне втручання. Були очікування, що носії генотипу Arg389Arg (CC) матимуть нижчий ризик серцево-судинних захворювань, ніж люди з «диким» генотипом (GG). Тим часом,

оцінка його впливу на перебіг серцевої патології дала набагато скромніші результати. Достовірними були відмінності лише в ЧСС та рівні діастолічного АТ у носіїв різних генотипів, в інших же дослідженнях було показано, що люди з генотипом Arg389Arg мали лише недостовірне збільшення ризику розвитку гіпертрофії лівого шлуночка (ГЛШ).

Ми не отримали достовірних даних про асоціацію поліморфізму Gly389Arg гена β_1 -АР з перебігом СН.

Іншим частим поліморфізмом гена β_1 -АР є заміна амінокислоти серину (алель А) на гліцин (алель G) в 49-му положенні (Ser49Gly). Частота алеля Gly становить 0,14 в європейській популяції [4]. Дослідження *in vitro* показали, що гомозиготи за Ser (генотип AA) мають нижчу функціональну активність аденілатциклази в порівнянні з носіями алеля G, але більш чутливі до стимуляції адреналіном [7]. В іншому дослідженні не було виявлено відмінностей за базальною активністю аденілатциклази, але підтверджено високу чутливість до тривалого впливу агоністів [16]. Висока чутливість до тривалої стимуляції катехоламінами виявляється у зменшенні кількості рецепторів та ослабленні їх реакції. Тому поліморфізм гена β_1 -АР GG був названий у цих роботах «кардіопротективним». У клінічних дослідженнях гомозиготних хворих за Gly було продемонстровано, що вони мають нижчу ЧСС у спокої [15].

Існують дані, що максимальне споживання кисню (VO_2) знижене у реципієнтів, яким було проведено трансплантацію серця від донора — носія алельного варіанта Gly49 поліморфізму Ser49Gly гена β_1 -АР. На думку авторів, пацієнти, донорами яких були носії такого генотипу поліморфізму Ser49Gly, потребують лікування високими дозами β -адреноблокаторами [11]. В іншому дослідженні проводили пошук асоціацій між генотипами поліморфізмів Arg389Gly і Ser49Gly гена β_1 -АР та виживанням хворих на СН. Було обстежено 375 пацієнтів з дилатаційною кардіоміопатією та 492 практично здорові особи контрольної групи. У хворих, що отримували більш низькі дози атенололу (50 % середньої терапевтичної дози та менше), виживання не було пов'язано з наявністю певних генотипів досліджених поліморфізмів β_1 -АР. У пацієнтів, що приймали високі дози β -адреноблокаторів, рівень 5-річної смертності був нижчим у носіїв алеля Gly49 порівняно із Ser49 ($p = 0,020$) поліморфізму Ser49Gly. Було зроблено висновок, що пацієнти з генотипом Ser49Ser потребують більш високих доз препарату для досягнення терапевтичного ефекту.

У дослідженні пацієнтів з дилатаційною кардіоміопатією було показано, що носії алеля Gly мали нижчий ризик смерті. Автори пов'язували цей факт із впливом на аритмогенез.

Нами було встановлено, що у групі хворих на СН наявність алеля А (A/G-A/A) (амінокислота — Ser) поліморфізму Ser49Gly гена β_1 -АР асоційована із зниженням ризику комбінованої кінцевої точки. Також виявлено, що носійство даного алеля поліморфізму Ser49Gly гена β_1 -АР асоційовано із зниженням частоти повторної госпіталізації.

Ген β_2 -АР локалізується в хромосомі 5q31_32. У той час як β_1 -АР тільки активують G-протеїн (Gs), β_2 -АР також можуть його пригнічувати (Gi), зменшуючи продукцію цАМФ [19]. Значущими мутаціями є Gly16Arg, Gln27Glu, Val34Met і Thr164Ile. Gly16Arg та Gln27Glu перебувають у позаклітинній частині рецептора, в той час як Thr164Ile — на трансмембранному домені, а Val34Met є рідкісною мутацією в першому трансмембранному портьяльному домені. Пропорція малих β_2 -АР поліморфізмів у популяції виглядає наступним чином: Arg16, Glu27, Ile164 — 39 %, 43 % і менше 5 % відповідно, з рідкісною пропорцією Met34 [19]. Для деяких поліморфізмів показана міжгенетична варіабельність у частоті алелів: Gln27Glu у європейців зустрічається з частотою 35 %, афроамериканців — 21 %, китайців — 7 %. Однонуклеотидна заміна цитозину (C) на гуанін (G) у положенні 79 гена β_2 -АР призводить до заміни глютаміну (Gln) на глютамінову кислоту (Glu) в 27-му кодоні (rs1042714). Алель C називають алелем «дикого типу», оскільки він найчастіше зустрічається в популяції, а алель глютамінової кислоти зустрічається в популяції рідше, тому називається «мутантним». Алельні частоти C та G у загальній популяції складають 0,55/0,45 відповідно. Дослідження продемонстрували, що цей поліморфізм тісно пов'язаний із чутливістю даного рецептора до знижувальної регуляції. Роботи *in vitro* показали, що Glu27-алельний варіант має високий ступінь десенсибілізації по відношенню до Arg16 варіанта після введення ізопреналіну. Передбачається, що алель Glu27 має більш високий ступінь стійкості до знижувальної регуляції, ніж дикий, оскільки він викликає зміни в конформації β_2 -АР. За даними літератури, асоціація поліморфізму Gln27Glu β_2 -АР з клінічним перебігом СН досить неоднозначна. У 2002 р. була досліджена толерантність до фізичних навантажень у пацієнтів із компенсованою СН та виявлено, що хворі з Arg16/Glu27 мали більшу витривалість порівняно з групою з Gln16/Gln27 поліморфізмом. Дослідники також звернули

увагу, що зниження толерантності до фізичних вправ завжди передуює декомпенсації СН. Під час вивчення поліморфізму β_2 -АР та β_2 -АР 5' LC Arg19Cys у хворих з ідіопатичною дилатаційною кардіоміопатією в ході аналізу було виявлено, що поліморфізми β_2 -АР Arg16 та Gln27 можуть бути пов'язані з низьким ризиком розвитку СН. Водночас інші вчені в 2004 р. дослідили 256 випадків СН, звертаючи увагу на поліморфізми β_1 -АР Arg389Gly, β_2 -АР Arg16Gly і Gln27Glu, але не знайшли значущої кореляції із СН [6]. У двох дослідженнях вивчався вплив поліморфізмів гена β_2 -АР на ризик розвитку та прогресування СН. В Італійському дослідженні за участю 236 хворих на СН і 230 здорових добровольців не було виявлено асоціацій між поліморфізмами Arg16Gly, Gln27Glu та перебігом СН [6]. Інша група дослідників повідомила про результати рандомізованого дослідження з включенням великої кількості хворих на ішемічну та ідіопатичну кардіоміопатію, де не було виявлено впливу поліморфізму 16 і 27 гена β_2 -АР на ризик розвитку та особливості перебігу СН [8].

Наш аналіз показав, що алель G (C/G-G/G) (Glu-амінокислота) поліморфізму Gln27Glu гена β_2 -АР підвищує ризик комбінованої кінцевої точки у хворих на СН протягом 2 років (ВШ = 1,76 (1,04–2,96); $p = 0,032$; домінантна модель спадковості).

Для поліморфізму Gln27Glu гена β_2 -АР мало місце відхилення від рівноваги Харді–Вайнберга у групі хворих без комбінованої кінцевої точки, ймовірно за рахунок нестачі гетерозигот. Той факт, що всі вивчені нами поліморфізми в контрольній групі та в повній когорті хворих на СН були в рівновазі Харді–Вайнберга, виключає помилку генотипування.

Умовою виконання закону Харді–Вайнберга є випадковість схрещування в популяції, тобто однакова ймовірність схрещування між усіма особинами, що входять до складу популяції [1]. Порушення її у людини можуть бути пов'язані з кровно спорідненими шлюбам. У цьому випадку в популяції підвищується кількість гомозигот. Ще одна причина порушення закону Харді–Вайнберга – так звана асортативність шлюбів, пов'язана з не випадковістю вибору шлюбного партнера. Наприклад, виявлена певна кореляція між подружжям за коефіцієнтом інтелекту. Асортативність може бути позитивною або негативною і відповідно підвищувати мінливість в популяції або знижувати її. Асортативність впливає не на частоти алелів, а на частоти гомо- і гетерозигот. Умовами для виконання закону Харді–Вайнберга також є: відсутність мутацій та міграцій як у популяцію, так і з неї; відсутність природного відбору; попу-

ляція повинна мати досить великі розміри, в іншому випадку навіть при дотриманні інших умов будуть спостерігатися чисто випадкові коливання частот генів (так званий дрейф генів).

На нашу думку, ймовірними причинами відхилення рівноваги Харді–Вайнберга для поліморфізму гена β_2 -АР у групі хворих на СН без KKTGln27Glu є мала її чисельність та велика міграція населення в регіоні [2].

β -АР реалізують стимуляцію катехоламінів на внутрішньоклітинні процеси через цитозольний G-протеїн – гетеротример, що складається з трьох субодиниць: α , β , γ [12]. Активна форма G-протеїну (Gs), зв'язуючись з алостеричним центром аденілатциклази, активує утворення цАМФ. цАМФ слугує регулятором активності багатьох ферментів. G-протеїни експресуються в усіх клітинах людини. Найбільш частий С825Т поліморфізм гена β_3 -субодиниці (GNB3) [18]. Незважаючи на те, що Т-поліморфізм є функціонально неактивним, він призводить до усиченого (альтернативного) сплайсингу екзону 9 (GNB3) і, врешті-решт, до «усиченої» β_3 -субодиниці G-протеїну. Така змінена субодиниця підвищує α -адренергічну активацію та пов'язана з підвищенням активності сигнальних шляхів [18]. Даний поліморфізм первинно впливає на реактивність судин та ріст кардіоміоцитів [18]. Т-алель має значну поширеність серед представників негроїдної раси, порівняно з європейцями [9]. Приблизно 50 % африканців є гомозиготами за GNB3 TT генотипом. Водночас лише 10 % європейців є такими. У генетичному дослідженні «Перебіг СН у афроамериканців» (АНЕFT) гомозиготи за Т-алелем (GNB3 TT) мали найбільш несприятливий перебіг патології в групі плацебо та отримували найбільшу користь від терапії [9]. Є поодинокі та досить суперечливі результати досліджень впливу генотипу GNB3 TT на перебіг СН у європейців. Натомість у дослідженні АНЕFT не отримано даних про вплив генотипу GNB3 TT на ремоделювання міокарда у хворих на СН. На додачу до результатів, отриманих у дослідженні АНЕFT, в іншій роботі продемонстровано, що алель GNB3 T може асоціюватися із збільшенням аритмічних подій у хворих на СН [5]. Мутація гена GNB3 пов'язана із зворотним ремоделюванням після імплантації ресинхронізуючого пристрою у хворих на СН [17].

Нам не вдалося отримати даних щодо зв'язку поліморфізму Ser275 гена GNB3 з перебігом СН.

Висновки

1. Особливості перебігу серцевої недостатності можуть мати асоціацію з генетичними відмінностями в шляхах β -адренорецепції.

2. Алель А поліморфізму Ser49Gly (с.145А > G) гена β_1 -адренорецепції асоційований із зниженням ризику комбінованої кінцевої точки у хворих на серцеву недостатність (ВШ = 0,52 (0,28–0,96); $p = 0,032$; домінантна модель спадковості та ВШ = 0,51 (0,28–0,92); $p = 0,02$, у лог-адитивній моделі).

3. Алель А поліморфізму Ser49Gly (с.145А > G) гена β_1 -АР також асоційований зі зниженням частоти повторної госпіталізації (ВШ = 0,50 [0,26–0,95]; $p = 0,028$; домінантна модель спадковості та ВШ = 0,49 (0,26–0,92); $p = 0,019$, у лог-адитивній моделі).

4. Алель G поліморфізму Gln27Glu (с.79С > G) гена β_2 -АР підвищує ризик комбінованої кінце-

вої точки у хворих на серцеву недостатність (ВШ = 1,76 (1,04–2,96); $p = 0,032$; домінантна модель спадковості та ВШ = 1,75 (1,06–2,90); $p = 0,029$, у наддомінантній моделі).

5. Не виявлено достовірного впливу поліморфізму Gly389Arg (с.1165G > C) гена β_1 -АР та поліморфізму Ser275 (с.79С > G) гена $\text{GN}\beta_3$ на особливості перебігу серцевої недостатності.

Перспективи подальших досліджень. Оскільки дослідження обмежене невеликою кількістю хворих та малим періодом спостереження, це зменшує силу статистичних даних. Результати подальших досліджень, ймовірно, дозволять точніше стратифікувати групи пацієнтів з несприятливим перебігом серцевої недостатності.

Конфлікт інтересів немає. Участь авторів: концепція та дизайн дослідження, збір, інтерпретація даних, написання статті — С.М. Пивовар; проведення лабораторних досліджень, аналіз даних — Т.М. Бондар, Т.В. Лозик; редагування — В.Ю. Гальчінська, Ю.С. Рудик.

Список літератури

1. Георгиевский А.Б. К истории закона Харди—Вейнберга // Историко-биологические исследования.— 2011.— № 3 (1).— С. 63—75.
2. Сьомченко В.В., Рубан А.А. Аналіз внутрішнього та зовнішнього міграційного руху населення України // Економіка і суспільство.— 2018.— № 16.— С. 959—964.
3. Akhter S., D'souza K., Petrashevskaya N. et al. Myocardial beta-1-adrenergic receptor polymorphisms affect functional recovery after ischemic injury // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.— 2006.— Vol. 290.— P. H1427—H1432.
4. Aquilante C.L., Yarandi N.H., Cavallari L.H. et al. β Adrenergic receptor gene polymorphisms and hemodynamic response to dobutamine during dobutamine stress echocardiography // The Pharmacogenomics J.— 2008.— Vol. 8.— P. 408—415. doi: 10.1038/sj.tpj.6500490.
5. Chemello D., Rohde L.E., Santos K.G. et al. Genetic polymorphisms of the adrenergic system and implantable cardioverter-defibrillator therapies in patients with heart failure // Europace.— 2010.— Vol. 12.— P. 686—691. doi: 10.1093/europace/euq040.
6. Covolo L., Gelatti U., Metra M. et al. Role of beta1- and beta2-adrenoceptor polymorphisms in heart failure: a case-control study // Eur. Heart J.— 2004.— Vol. 25.— P. 1534—1541. doi: 10.1016/j.ehj.2004.06.015.
7. Levin M., Marullo S., Muntaner O. et al. The myocardium protective Gly 49 variant of the beta1 adrenergic receptor exhibits constitutive activity and increased desensitization and down regulation // J. Biol. Chemistry.— 2002.— Vol. 277.— P. 30429—30435. doi: 10.1074/jbc.M200681200.
8. Matkovich S.J., van Booven D.J., Hindes A. et al. Cardiac signaling genes exhibit unexpected sequence diversity in sporadic cardiomyopathy, revealing HSPB7 polymorphisms associated with disease // J. Clin. Invest.— 2010.— Vol. 120.— P. 280—289. doi: 10.1172/jci39085.
9. McNamara D.M., Taylor A.L., Tam S.W. et al. G-protein beta-3 subunit genotype predicts enhanced benefit of fixed-dose isosorbide dinitrate and hydralazine: results of A-HeFT // JACC Heart Fail.— 2014.— Vol. 2.— P. 551—557. doi: 10.1016/j.jchf.2014.04.016.
10. Metaxa S., Missouris C., Mavrogianni D. et al. Polymorphism Gln27Glu of β_2 adrenergic receptors in patients with ischaemic cardiomyopathy // Curr. Vasc. Pharmacol.— 2018.— Vol. 16 (6).— P. 618—623. doi: 10.2174/1570161115666170919180959.
11. Metrich M., Mehmeti F., Feliciano H. et al. Adrenergic Receptor Polymorphism and Maximal Exercise Capacity after Orthotopic Heart Transplantation // PLOS One.— 2016.— Vol. 11 (9).— P. e0163475. doi: 10.1371/journal.pone.0163475.
12. Naga Prasad S.V., Nienaber J., Rockman H.A. Beta-adrenergic axis and heart disease // Trends Genet.— 2001.— Vol. 17.— P. 44—49.
13. Panebra A., Wang W.C., Malone M.M. et al. Common ADRB2 haplotypes derived from 26 polymorphic sites direct beta2-adrenergic receptor expression and regulation phenotypes // PLoS One.— 2010.— Vol. 29.— P. e11819. doi: 10.1371/journal.pone.0011819.
14. Ponikowski P., Voors A., Anker D. et al. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2016. The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC // Eur. Heart J.— 2016.— Vol. 8.— P. 123. doi:10.1093/eurheartj/ehw128.
15. Ranade K., Jorgenson E., Sheu W. et al. A polymorphism in the b1 adrenergic receptor is associated with resting heart rate // Am. J. Hum. Genet.— 2002.— Vol. 70.— P. 935—942. doi: 10.1086/339621.
16. Rathz D.A., Brown K.M., Kramer L.A. et al. Amino acid 49 polymorphisms of the human beta1 adrenergic receptor affect agonist promoted traf-ficking // J. Cardiovasc. Pharmacol.— 2002.— Vol. 39.— P. 155—160. doi: 10.1097/00005344-200202000-00001.
17. Schmitz B., De Maria R., Gatsios D. et al. Identification of genetic markers for treatment success in heart failure patients: insight from cardiac resynchronization therapy // Circ. Cardiovasc. Genet.— 2014.— Vol. 7.— P. 760—770. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.113.000384.
18. Sheppard R., Hsieh E., Damp J. et al. Investigators GNB3 C825T Polymorphism and Myocardial Recovery in Peripartum Cardiomyopathy Results of the Multicenter Investigations of Pregnancy-Associated Cardiomyopathy Study // Circ. Heart Fail.— 2016.— Vol. 9.— P. e002683. doi:10.1161/CIRCHEARTFAILURE.115.002683.
19. Xiao R.P. Beta-adrenergic signaling in the heart: dual coupling of the beta2-adrenergic receptor to G(s) and G(i) proteins // Sci. STKE.— 2001.— Vol. 104.— RE15. doi: 10.1126/stke.2001.104.re15.

С.Н. Пивовар, Ю.С. Рудык, Т.В. Лозик, В.Ю. Гальчинская, Т.Н. Бондарь

ГУ «Национальный институт терапии имени Л.Т. Малой НАМН Украины», Харьков

Ассоциация полиморфизмов генов β -адренорецепции с течением сердечной недостаточности

Цель работы — изучить взаимосвязь полиморфизмов генов β -адренорецепции с течением сердечной недостаточности (СН).

Материалы и методы. В исследовании принимали участие 285 больных с СН на фоне постинфарктного кардиосклероза. Проводилось генотипирование по 4 полиморфизмам (Gly389Arg гена β_1 -адренорецепторов, Ser49Gly гена β_1 -адренорецепторов, Gln27Glu гена β_2 -адренорецепторов и Ser275 гена β_3 -субъединицы G-протеина) с помощью полимеразной цепной реакции. За 2 года наблюдения из 285 больных с СН 81 (28,4 %) имел повторную госпитализацию или амбулаторное внутривенное применение петлевых диуретиков в связи с декомпенсацией патологии. За указанный период умерли 18 больных (6,3 %). Комбинированную конечную точку имели 93 пациента (32,6 %). Генетико-эпидемиологический анализ осуществлялся с помощью программы SNPStats.

Результаты и обсуждение. Аллель А полиморфизма Ser49Gly (с.145А > G) гена β_1 -адренорецепции ассоциирована со снижением риска комбинированной конечной точки у больных с СН (отношение шансов (ОШ) = 0,52 (0,28–0,96); $p = 0,032$; доминантная модель и ОШ = 0,51 (0,28–0,92); $p = 0,02$, в лог-аддитивной модели наследственности). Данная аллель полиморфизма Ser49Gly (с.145А > G) гена β_1 -адренорецепторов также ассоциирована со снижением частоты повторной госпитализации (ОШ = 0,50 (0,26–0,95); $p = 0,028$, доминантная модель наследственности и ОШ = 0,49 (0,26–0,92); $p = 0,019$, в лог-аддитивной модели). Аллель G полиморфизма Gln27Glu (с.79С > G) гена β_2 -адренорецепторов повышает риск комбинированной конечной точки у больных с СН (ОШ = 1,76 (1,04–2,96); $p = 0,032$; доминантная модель наследственности и ОШ = 1,75 (1,06–2,90); $p = 0,029$, в сверхдоминантной модели). Не выявлено достоверного влияния полиморфизма Gly389Arg (с.1165G > C) гена β_1 -адренорецепторов и полиморфизма Ser275 (с.79С > G) гена β_3 -субъединицы G-протеина на особенности течения СН.

Выводы. Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что особенности течения сердечной недостаточности могут иметь ассоциации с генетическими различиями в путях β -адренорецепции.

Ключевые слова: β_1 -адренорецепторы, β_2 -адренорецепторы, G-протеин, сердечная недостаточность, полиморфизм, ген, риск, течение заболевания.

S.M. Pyvovar, Yu.S. Rudyk, T.V. Lozyk, V.Yu. Galchinska, T.M. Bondar

GI «L.T. Mala Therapy National Institute of the NAMS of Ukraine», Kharkiv

The association of polymorphisms of β -adrenoreception genes with the course of heart failure

Objective — to study the relationship of β -adrenoreception gene polymorphisms with the course of heart failure.

Materials and methods. The study involved 285 patients with heart failure against the background of postinfarction cardiosclerosis included. The genotyping was performed using 4 polymorphisms (Gly389Arg of the β_1 -adrenoreceptors gene, Ser49Gly of the β_1 -adrenoreceptors gene, Gln27Glu of the β_2 -adrenoreceptors gene and Ser275 of the β_3 -subunit of G-protein gene) using the polymerase chain reaction. Over the two-years follow up period, from 285 patients, 81 (28.4 %) had rehospitalization or outpatient intravenous administration of the loop diuretics due to HF decompensation. During this period, 18 patients died (6.3 %). 93 patients (32.6 %) had a combined endpoint. The genetic and epidemiological analysis was carried out using the SNPStats program.

Results and discussion. The allele A of a Ser49Gly polymorphism (с.145А > G) of a β_1 -adrenoreception gene is associated with a reduced risk of combined endpoint in patients with a heart failure (OR = 0.52 (0.28–0.96), $p = 0.032$, dominant model and OR = 0.51 (0.28–0.92), $p = 0.02$, in the log-additive inheritance model). This allele of a Ser49Gly polymorphism (с.145А > G) of a β_1 -adrenoreceptor gene is also associated with a decrease in the frequency of rehospitalization (OR = 0.50 (0.26–0.95), $p = 0.028$, the dominant model and OR = 0.49 (0.26–0.92), $p = 0.019$, for the log-additive model). The allele G of Gln27Glu polymorphism (с.79С > G) of a β_2 -adrenergic receptor gene increases the risk of a combined endpoint in patients with a heart failure (OR = 1.76 (1.04–2.96), $p = 0.032$, the dominant model of inheritance and OR = 1.75 (1.06–2.90), $p = 0.029$, for an overdominant model). No significant effect of the Gly389Arg polymorphism (с.1165G > C) of the β_1 -adrenergic receptor gene and the Ser275 polymorphism (с.79С > G) of the β_3 -subunit of the G-protein on the course of heart failure was revealed.

Conclusions. The obtained results allow to conclude that peculiarities of the heart failure course may have associations with the genetic differences in the pathways of β -adrenoreception.

Key words: β_1 -adrenergic receptors, β_2 -adrenergic receptors, G-protein, heart failure, polymorphism, gene, risk, course of the disease.