

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РФ  
ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР  
ИМ. В.А.АЛМАЗОВА» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РФ

**ОТЧЕТ О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ  
О ВЫПОЛНЕНИИ ГОСУДАРСТВЕННОГО ЗАДАНИЯ Федерального государ-  
ственного бюджетного учреждения «Федеральный Медицинский Исследова-  
тельский Центр имени В.А. Алмазова» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕ-  
НИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ за 2014 г.**

**утвержденного 24.12.2011 г**

**раздел 1 «Фундаментальные научные исследования» по теме 12:  
“Молекулярно-генетические факторы и новые маркеры риска фибрилляции  
предсердий при патологии щитовидной железы”  
(промежуточный)**

Руководитель темы

Директор института эндокринологии, проф.

Гринева Е.Н.

Санкт-Петербург, 2014

**СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ**

Директор Института Эндо-  
киннологии, д.м.н, профес-

Гринева Е.Н.

соп.

Директор Института молекулярной генетики, к.м.н.

Зав. НИЛ «Диабетологии»,  
д.м.н.

Институт эндокринологии,  
к/о

Институт молекулярной биологии и генетики, ст.н.с.

Костарева А.А.

Бабенко А.Ю.

Савицкая Д.А.

Фрейлихман О.А.

**Цель** – изучить влияние полиморфизмов гена  $\beta 1$ -AP в кодонах 389 (Gly389Arg) и 49 (Ser49Gly) на клинические и эхокардиографические показатели при тиреотоксикозе и их динамику в процессе лечения.

## **Задачи**

1. Оценить связь развития фибрилляции предсердий при тиреотоксикозе с генотипом гена бета1-адренорецептора по полиморфизму Arg389Gly.
2. Оценить связь развития фибрилляции предсердий при тиреотоксикозе с генотипом гена бета1-адренорецептора по полиморфизму Ser49Gly
3. Оценить влияние генотипа по полиморфизму гена бета1-адренорецептора Arg389Gly на клинические параметры и морфо-функциональное состояние миокарда у больных тиреотоксикозом
4. Оценить влияние генотипа по полиморфизму гена бета1-адренорецептора Ser49Gly на клинические параметры и морфо-функциональное состояние миокарда у больных тиреотоксикозом
5. Оценить влияние генотипа по полиморфизму гена бета1-адренорецептора Arg389Gly на динамику клинических и эхокардиографических показателей в процессе лечения у больных тиреотоксикозом
6. Оценить влияние генотипа по полиморфизму гена бета1-адренорецептора Ser49Gly на динамику клинических и эхокардиографических показателей в процессе лечения у больных тиреотоксикозом

## **Методы исследования**

### **Материалы исследования: пациенты с тиреотоксикозом различного генеза, длительности, выраженности**

В исследование включались пациенты с тиреотоксикозом, соответствовавшие критериям включения.

Критериями включения в исследование были:

- 1) наличие явного тиреотоксикоза (Т3св и/или Т4св выше нормы, ТТГ ниже 0,1 мМЕ/л);
- 2) мужчины и женщины в возрасте 18-55 лет;
- 3) информированное согласие больного на участие в данном исследовании;
- 4) удовлетворительное качество изображения при ЭхоКГ исследовании.

Критерии невключения в исследование:

- 1) сопутствующие заболевания, которые могли бы оказывать влияние на структурно-функциональное состояние сердца (ишемическая болезнь сердца, гипертоническая болезнь, клапанные поражения, кардиомиопатии нетиреотоксического генеза, сахарный диабет, обструктивные заболевания легких, сердечная недостаточность и гемодинамически значимые нарушения ритма нетиреотоксического генеза);
- 2) состояния, являющиеся противопоказанием для длительной тиреостатической терапии: патология печени (повышение трансамина более чем в 5 раз выше верхней границы нормы, печеночная недостаточность), хроническая почечная недостаточность, данные о непереносимости тиреостатиков в анамнезе;
- 3) интоксикации (алкоголизм, токсикомания);
- 4) Терапия амиодароном.

Была сформирована контрольная группа, сопоставимая по возрасту и соотношению полов с исследуемой группой, которая была представлена 101 здоровыми донорами крови, у которых был подтвержден эутиреоз.

Согласно указанным критериям, в исследование было включено 165 пациентов с клиническим тиреотоксикозом болезни Грейвса (табл.1).

Динамическое наблюдение было выполнено у 122 пациентов из группы больных с клиническим тиреотоксикозом. В этой группе обследование выполнялось трехкратно:

- 1-е обследование – до начала тиреостатической терапии (тиреотоксикоз);
- 2-е обследование – через месяц от начала терапии (эутиреоз);
- 3-е обследование – через год от начала терапии, вне зависимости от тиреоидного статуса (годовой контроль).

Таблица 1

Сравнительная характеристика обследованных лиц с тиреотоксикозом, обусловленным болезнью Грейвса (БГ) и здоровых людей контрольной группы.

	Болезнь Грейвса, n=165	Контрольная группа, n=101
Возраст, лет	$41.9 \pm 0.75$	$43.4 \pm 4.3$
Пол, Ж/М	142/23	81/20
ЧСС, уд./мин.	$95.9 \pm 19.1^*$	$72.6 \pm 8.7$
АД сист., мм рт. ст.	$129.4 \pm 15.9$	$127.3 \pm 9.7$
АД диаст., мм рт. ст.	$75.8 \pm 9.4$	$72.4 \pm 7.1$
Св. Т3, пмоль/л	$15.0 \pm 9.1^*$	$1.8 \pm 1.2$
Св. Т4, пмоль/л	$45.4 \pm 23.0^*$	$14.2 \pm 4.6$
ТТГ, мМЕ/л	0.014; (0.010; 0.058)*	1.2; (0.6; 3.1)

ЧСС – частота сердечных сокращений, АД – артериальное давление, св. Т3 – свободный трийодтиронин, св. Т4 – свободный тетрайодтиронин, ТТГ – тиреотропный гормон.

\* $P < 0.0001$  при сравнении с контрольной группой.

### Методы исследования уровня гормонов

Определение уровня тиреоидных гормонов и титра антител к тирео-глобулину в сыворотке крови проводилось радиоизотопным методом с помощью наборов RIA фирмы «Beckman Coulter», США. Определяли общий трийодтиронин (Т3), общий тироксин (Т4), антитела к тиреоглобулину (АтТг) (табл. 3). Уровни свободного трийодтиронина (Т3св), свободного тироксина (Т4св), тиреотропина (ТТГ), антител к тироидной пероксидазе (ат ТПО) и антител к рецептору ТТГ (ат рцТТГ) определяли иммуноферментным методом на автоматическом иммунохимическом анализаторе ACCESS 2 (Beckman Coulter, США) с использованием иммунохимических тест-систем UNICEL DXI 800 ACCESS (Beckman Coulter, США) (табл. 3).

Таблица 3

Нормальные показатели оценки тиреоидного статуса

Показатель	Норма
Общий трийодтиронин	1,2-2,6 нмоль/л
Общий тироксин	60-160 нмоль/л
Свободный трийодтиронин	1,4-6,5 пмоль/л
Свободный тироксин	10-24,5 пмоль/л
Тиреотропный гормон (ТТГ)	0,25-3,5 мМЕ/л
Антитела к тироидной пероксидазе	0-30 МЕ/мл
Антитела к тиреоглобулину	0,6-6,3 МЕ/мл
Антитела к рецептору ТТГ	< 1,0 МЕ/л

### **Инструментальные методы исследования**

Ультразвуковое исследование (УЗИ) щитовидной железы проводилось на аппарате ADR-2002 датчиком высокого разрешения 7,5 МГц. По данным УЗИ оценивался объем щитовидной железы (ОЩЖ).

При необходимости уточнения генеза тиреотоксикоза проводилась оценка поглощения радиоактивного йода ( $I^{123}$ ) щитовидной железой (исключение тиреотоксикоза «утечки») и сцинтиграфия щитовидной железы.

АД определялось ртутным сфигмоманометром с точностью до 2 мм рт. ст. трехкратно с интервалом в 5 минут. Затем вычислялось среднее из двух последних измерений. ЧСС определялась по пульсу за 60 секунд.

ЭКГ выполнялось на аппарате «Bioset-3500» по стандартной методике [Орлов В.Н., 2007].

Эхокардиографическое исследование (ЭхоКГ) проводилась на аппарате Vingmed CFM-800 (GE, США), датчик 3,25 МГц в М-модальном и двухмерном режиме в стандартных эхокардиографических позициях.

### **Методы молекулярно-генетических исследований**

Молекулярно-генетические исследования проводились в Институте молекулярной генетики ФЦ СКиЭ им. В.А. Алмазова, возглавляемой к.м.н. А.А. Костаревой.

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.

ПЦР-продукты визуализировались в ультрафиолетовом (УФ) свете после электрофореза в 6 % полиакриламидном геле и окрашивания бромидом этидия [Maqbool A. et al., 1999].

### **Статистическая обработка результатов исследования**

Статистическая обработка полученных данных производилась на компьютере Intel Pentium 3 с использованием пакета статистических программ Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США).

Результаты представлены в виде частот, средних значений±среднеквадратичные отклонения ( $\sigma$ ) или в виде медиан и перцентелей 25-75 (P25-75). Распределение частот генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга с помощью критерия  $\chi^2$ . Сравнение результатов обследования в исследуемых группах проводили, используя критерий  $\chi^2$ , непарный критерий Стьюдента, U-критерий Манна-Уитни, ANOVA, Н-критерий Крускала-Уоллиса и точный критерий Фишера. Различия считались достоверными при двухстороннем уровне значимости  $P<0.05$ .

### **Результаты и обсуждение**

#### *Полиморфизм Gly389Arg:*

По данным генотипирования среди пациентов с болезнью Грейвса 5,4 % человек ( $n = 9$ ) 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 частота встре-

чаевости генотипов гена  $\beta$ 1-адренорецептора по полиморфизму Gly389Arg среди здоровых европейцев следующая: GG — 7.9 %, GC — 41.5 % и CC — 50.6 % [26].

## 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 G – 0.34*
Группа 2 - GC (Gly389Arg)	94	57	
Группа 3 - CC (Arg389Arg)	62	37.6	
Контрольная группа (здоровые люди), n = 101:			
CC (Gly389Gly)	8	8	C – 0,74 G – 0.26
CG (Gly389/Arg)	37	37	
GG (Arg 389/Arg)	56	55	

\*P=0,01 между частотой встречаемости аллелей в группе пациентов с болезнью Грейвса и у здоровых людей.

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 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 (табл. 3). 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.

### *Таблица 3*

*Клинико-лабораторные параметры пациентов с различным генотипом гена  $\beta_1$ -адренорецептора (Gly389Arg) при первом обследовании (тиреотоксикоз(TT)).*

	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 ± 9.5	42.1 ± 8.9	40.5 ± 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. Т3, пмоль/л	12.7; (7.2; 22.3)	11.5; (9.5; 20.7)	10.4; (9.7; 22.1)
Св. Т4, пмоль/л	37.2; (30.4; 54.5)	46.0; (28.0; 57.8)	31.0; (29.4; 92.4)

Одной из задач настоящего исследования, было сравнение эхокардиографических параметров у носителей различных генотипов гена  $\beta_1$ -адренорецептора. Частота гипертрофии левого желудочка (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, выявлено 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 концен-

трической ГЛЖ. Кроме того, у 107 пациентов с болезнью Грейвса был оценен уровень давления в легочной артерии. Легочная гипертензия выявлена у 60-ти 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.

*Таблица 4*

*Клинико-лабораторные параметры пациентов с различным генотипом гена  $\beta_1$ -адренорецептора (Gly389Arg) при обследовании через год после начала лечения (эутиреоз).*

	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. Т3, пмоль/л	4.1; (2.3; 7.5)	6.2; (5.7; 7.9)	3.7; (2.0; 5.4)
Св. Т4, пмоль/л	14.0; (9.3; 20.1)	14.4; (10.1; 19.6)	19.4; (16.7; 27.1)

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 (таблица 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 С, составляющих группы 2 и 3 (таблица 5).

**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 <sup>2</sup> до лечения	ИММЛЖ, г/м <sup>2</sup> после лечения	Различия меж- ду двумя ис- следованиями
<b>1-я гр. (GG) n = 9</b>	96.6 ± 8.06	88 ± 6	-35.5; (-60; -11)
<b>2-я гр. (GC) n = 94</b>	99.9 ± 2.69	102.6 ± 2,49	-1; (-11; 10.6)
<b>3-я гр. (CC) n = 62</b>	99.4 ± 2.39	102 ± 4.32	0; (-16; 4)
<b>P vs носители генотипа GG</b>	0.79	0.76	0.03

Также был проведен анализ частоты нарушений ритма, ассоциированных с тиреотоксикозом. При этом было отмечено, что фибрилляции предсердий (ФП) 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 всё же, можно отметить, что в группе с носителями 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 аллеля A и G соответственно (таблица 6). Достоверных различий в распределении генотипов и частоте аллелей при сравнении с группой контроля выявлено не было (таблица 6).

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 A – 0.78
	AG (Ser49Gly)	56	33.9	
	AA (Ser49Ser)	1100	60.6	
Здоровые люди, n=101	GG (Gly49Gly)	2	2	G – 0.17 A – 0.83
	AG (Ser49Gly)	31	30.7	
	AA (Ser49Ser)	68	67.3	

Характеристика пациентов с тиреотоксикозом в зависимости от генотипа до и после лечения представлена в таблицах 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.

**Таблица 7**

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

	<b>AA, n=100</b>	<b>AG, n=56</b>	<b>GG, n=9</b>
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. Т3, пмоль/л	11.1; (9.0; 22.1)	12.7; (9.7; 21.6)	10.0; (9.0; 29.5)
Св. Т4, 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).*

	<b>AA, n=100</b>	<b>AG, n=56</b>	<b>GG, n=9</b>
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. Т3, пмоль/л	6.0; (3.4; 7.9)	5.4; (3.7; 7.7)	2.3; (2.0; 2.6)
Св. Т4, пмоль/л	15.0; (9.7; 25.0)	11.4; (9.2; 17.0)	19.4; (19.0; 19.4)

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 A ( $P=0.02$ )

(таблица 9). Кроме того, в этой же группе (больных с аллелем G в гомозиготном состоянии) 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 вариантов ГЛЖ не было. Оценив уровень давления в легочной артерии (ЛА) у больных с разными генотипами по полиморфизму Ser49Gly, мы выяснили, что статистически достоверных различий в частоте и тяжести легочной гипертензии нет.

### **Таблица 9**

**ЭхоКГ показатели в группе пациентов с болезнью Грейвса с различными генотипами по полиморфизму Ser49Gly гена бета1-адренорецептора.**

	<b>AA, n=100</b>	<b>AG, n=56</b>	<b>GG, n=9</b>	<b>AA+AG</b>
ИМЛЖ, г/м <sup>2</sup>	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***	

\* $P=0.06$  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.

При анализе эхокардиографических показателей через год от начала лечения тенденция к более высоким значениям ИММЛЖ 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 полиморфизму 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 носителей комбинации генотипа GG по полиморфизму Ser49Gly и генотипа CC по полиморфизму Gly389Arg (таблица 10). Вероятность развития ФП у носителей этой комбинации генотипов была ниже 3 %. Частота встречаемости гаплотипов в исследованной популяции пациентов с ТТ показана в схеме 1.

### Схема 1

Частота встречаемости различных гаплотипов по полиморфизмам Gly389Arg и Ser49Gly.

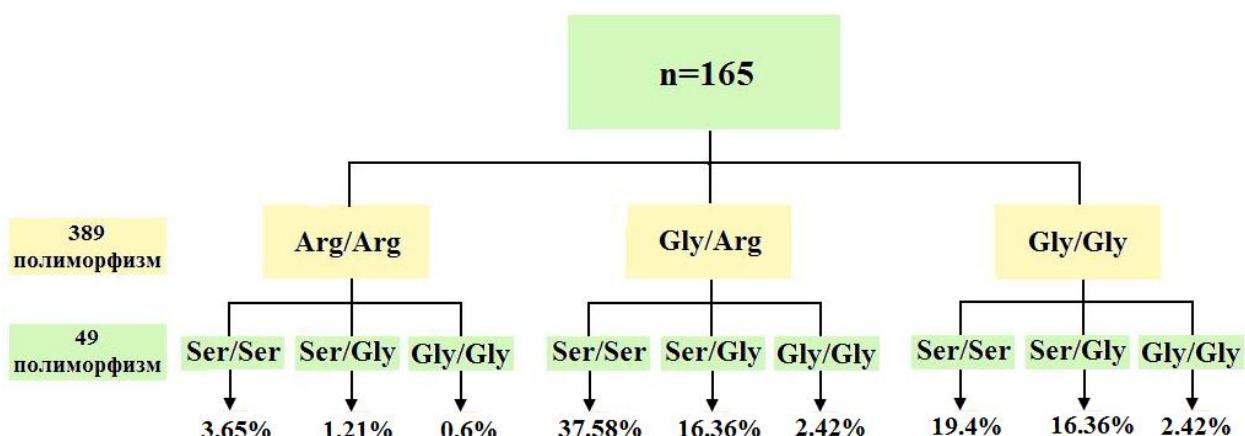


Таблица 10

Частоты 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
<b>GG /CC</b>	<b>36; 97,3%</b>	<b>1; 2,7%</b>	<b>37</b>
AG/CГ	27; 90,0%	3; 10,0%	30
GG/CГ	18; 78,3%	5; 21,7%	23
<b>Всего</b>	<b>137; 83,5%</b>	<b>27; 16,5%</b>	<b>165</b>

*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 с 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 2002г. 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 2006г. 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 экстрасистолией 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, изучавшем 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 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 и 389 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. 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.

### **Публикации:**

Статьи:

- 1) Babenko AY<sup>1</sup>, Grineva EN<sup>1</sup>, Kostareva AA<sup>2</sup>, Savitskaja DA<sup>1</sup>, Kravchuk EN<sup>1</sup>, Solncev VN<sup>3</sup> "Polymorphisms of  $\beta$ 1-Adrenoreceptor Gene and Cardiovascular Complications in Patients with Thyrotoxicosis," BioMed Research International, vol. 2014, Article ID 402897, 7 pages, 2014. doi:10.1155/2014/402897. (**IF=2,86**)
- 2) Бабенко А.Ю., Костарева А.А., Гринева Е.Н., Савицкая Д.А., Солнцев В.Н. Вклад распространенных однонуклеотидных полиморфизмов гена  $\beta$ 1-адренорецептора в изменения, происходящие в сердечно-сосудистой системе при тиреотоксикозе.//Клиническая и экспериментальная эндокринология. – 2014. – Т.10, № 2 – с.22-31

### **Тезисы**

- 1) Babenko AY<sup>1</sup>, Grineva EN<sup>1</sup>, Savitskaja DA<sup>1</sup>, Solncev VN<sup>3</sup> Kostareva AA<sup>2</sup>,  $\beta$ 1-ADRENORECEPTOR GENE POLYMORPHISM GLY389ARG AND CARDIOVASCULAR PARAMETERS IN PATIENTS WITH THYREOTOXICOSIS. – Eur.Thyroid J. 2014. – V.3, Suppl.1. – p.148

### **Доклады (на английском, на международных конференциях):**

- 1) Babenko AY<sup>1</sup>, Grineva EN<sup>1</sup>, Savitskaja DA<sup>1</sup>, Solncev VN<sup>3</sup> Kostareva AA<sup>2</sup>,  $\beta$ 1-ADRENORECEPTOR GENE POLYMORPHISM GLY389ARG AND CARDIOVASCULAR PARAMETERS IN PATIENTS WITH THYREOTOXICOSIS на 38th Annual Meeting of the ETA 9<sup>th</sup> September 2014, Santiago de Compostela, Spain, постерный доклад P136