

Поліморфізм C825t (rs5443) гена β_3 -субодиниці G-протеїну та перебіг серцевої недостатності

Мета роботи – визначити поширеність та вплив поліморфізму C825T (RS5443) гена β_3 -субодиниці G-протеїну на перебіг серцевої недостатності (СН).

Матеріали та методи. До дослідження включено 170 хворих з СН. Оцінювали клінічний перебіг захворювання. Параметри внутрішньосерцевої гемодинаміки визначали за допомогою доплерехокардіографії. Молекулярно-генетичне дослідження поліморфізму C825T (rs5443) гена GNB3 (β_3 -субодиниці G-протеїну) проводили в лабораторії біохімічних і імуноферментних методів дослідження з клінічною морфологією (свідоцтво про атестацію № 100-256/2013, чинне до 01.09.2017 р.). Матеріалом для молекулярно-генетичного дослідження були лейкоцити периферичної крові пацієнтів. Виділення геномної ДНК із лейкоцитів крові для молекулярно-генетичних досліджень здійснювали за допомогою комерційного набору «ДНК-сорб-В» («Амплісенс», Росія) у відповідності з інструкцією до набору. Для полімеразної ланцюгової реакції використовували праймерні послідовності.

Результати та обговорення. Із 170 хворих з СН, 80 були гомозиготними носіями дикого алеля C825 (CC). 11 пацієнтів мали два мутовані алелі T825 (TT). 79 хворих з СН є гетерозиготами (C825T) (CT). Носії C-алеля (гомозиготні та гетерозиготні) мали більший вік до розвитку СН ((65,9 ± 10,6) року), порівнюючи з гомозиготними носіями T-алеля (59,3 ± 7,8) року) (p < 0,05). Також носії C-алеля (гомозиготні та гетерозиготні) мали менший рівень моноцитів крові (4,1 ± 1,9), порівнюючи з гомозиготними носіями T-алеля (6,3 ± 4,5) (p < 0,001). Хворі, що є гомозиготними носіями T-алеля (TT), мають найбільшу частоту відхилення від норми креатиніну крові (18,2 %), в той час, як гомозиготні носії C-алеля (CC-генотип) мали відхилення від норми креатиніну крові лише у 13,7 %.

Висновки. Визначено поширеність поліморфічних варіантів C825T (rs5443) гена β_3 -субодиниці G-протеїну серед хворих на СН. 47,1 % хворих є гомозиготними носіями «дикого» алеля C825, 46,5 % пацієнтів – гетерозиготи (C825T), 6,5 % хворих є гомозиготами за «мутованим» алелем (C825T). Носії «мутованого» T-алеля гена β_3 -субодиниці G-протеїну мають молодший вік на момент розвитку СН ((59,3 ± 7,8) року) порівняно з хворими з CC-генотипом ((65,9 ± 10,6) року) та вищий рівень моноцитів крові (6,3 ± 4,5 проти 4,1 ± 1,9 (p < 0,001)). Хворі, що є гомозиготними носіями T-алеля (TT), мають велику частоту відхилення від норми креатиніну крові (18,2 %) на відміну від гомозиготних носіїв C-алеля (13,7 %).

Ключові слова:

серцева недостатність, клінічний перебіг, поліморфізм гена, G-протеїн, β_3 -субодиниця.

Поширеність серцево-судинної патології зростає в усьому світі, зокрема й в Україні [3].

Загальним результатом захворювань серця є серцева недостатність (СН). Ця патологія є актуальною медико-соціальною проблемою в нашій країні [2, 3]. За даними національних реєстрів та епідеміологічних досліджень, показник поширеності СН серед дорослого населення коливається від 1,5 до 5,5 % та зростає пропорційно до віку [4]. Про серйозність прогнозу клінічно маніфестованої СН свідчить і те, що приблизно половина пацієнтів помирають протягом 4 років, а серед хворих з тяжкою СН однорічна смертність сягає 50 % [4]. Прогнозування несприятливого перебігу СН становить цінність з багатьох причин. Одна



**С.М. Пивовар¹,
Ю.С. Рудик¹,
А.С. Попович¹,
О.В. Висоцька²,
Г.М. Страшненко²**

- ¹ ДУ «Національний Інститут терапії імені Л.Т. Малої НАМН України», Харків
- ² Харківський національний університет радіоелектроніки

КОНТАКТНА ІНФОРМАЦІЯ

Пивовар Сергій Миколайович
к. мед. н., ст. наук. співр.
відділу клінічної фармакології
та фармакотерапії

61039, м. Харків, просп. Постишева, 2а
Тел. (057) 370-90-90
E-mail: sn_p@ukr.net

Стаття надійшла до редакції
26 січня 2016 р.

з них — відбір хворих, які потребують більш інтенсивного спостереження та лікування. Щоб стратифікація за групами ризику була клінічно значущою, вона має враховувати внесок різних чинників прогресування хвороби одночасно.

Перебіг СН є досить варіабельним у різних хворих. В одних декомпенсація відбувається надзвичайно швидко, інші при аналогічно низькій фракції викиду (ФВ) лівого шлуночка (ЛШ) зберігають високу толерантність до фізичного навантаження, рідко потребують госпіталізації та живуть десятиліттями після перенесеного інфаркту міокарда (ІМ). Застосування іАПФ у хворих із СН дозволяють домогтися зниження ризику смерті в середньому лише на 23 %. Подібні результати отримано й при застосуванні β -адреноблокаторів (β -АБ) при СН [1]. Одним з пояснень даного феномену може бути висока індивідуальна варіабельність відповіді на застосування даних класів препаратів, що великою мірою зумовлюється генетичними чинниками [6].

Переважання певних захворювань та індивідуальний їх прояв у кожної людини визначається поліморфізмом одного нуклеотиду (ПОН). ПОН — це поодинокі зміни нуклеотиду в структурі ДНК, що відмінні від «загальної» частоти та виникають більш ніж у 1 % популяції. ПОН можуть виникати всередині генів та в ділянках гена, що не списуються. Різниця в складі білка, що утворюється внаслідок несинонімічних ПОН, може впливати на функції організму. Вони несуть ризик захворювань або впливають на дію лікарських препаратів. Протягом двох останніх десятиліть дослідники знайшли велику кількість ПОН та гаплотипів у геномі людини, включаючи й ті, що впливають на сімейство генів β -адренорецепторів (β -АР) [20].

β -АР — парні трансмембранні протеїни, що складаються із семи спіралей, розташовані на клітинах усього організму, включаючи кардіоміоцити та гладенькі міоцити судин. Існує три підкласи АР (β_1 , β_2 , β_3). β_1 - та β_2 -АР впливають на фізіологію серцево-судинної системи. На ці рецептори здійснюють гемодинамічний вплив катехоламінові нейротрансмітери та гормони, в тому числі трийодтиронін, тим самим змінюючи ЧСС, скоротливість серця та тонус судин. Хоча β_3 -АР знайдені в серці, їх роль не зрозуміла. Дані рецептори наявні в жировій та сполучній тканинах, підшлунковій залозі.

β -АР реалізують стимуляцію катехоламінів на внутріклітинні процеси через цитозольний G-протеїн. Це гетеротример, що складається з трьох субодиниць: α , β та γ . G-білки експресуються в усіх клітинах людини. Найбільш частий поліморфізм С825Т пов'язаний з підвищенням

активності сигнальних шляхів трийодтироніну та нейротрансмітерів. У серцево-судинній системі поліморфізм первинно впливає на реактивність судин та клітинний ріст кардіоміоцитів.

Мета роботи — визначити поширеність та вплив поліморфізму С825Т (rs5443) гена β_3 -субодиниці G-протеїну на перебіг СН. Робота виконана в рамках НДР відділу клінічної фармакології та фармакотерапії «Визначити особливості застосування β -адреноблокаторів в лікуванні хворих із серцевою недостатністю в поєднанні з цукровим діабетом на основі вивчення їх фармакогенетичного профілю та маркерів фіброзу міокарда».

Матеріали та методи

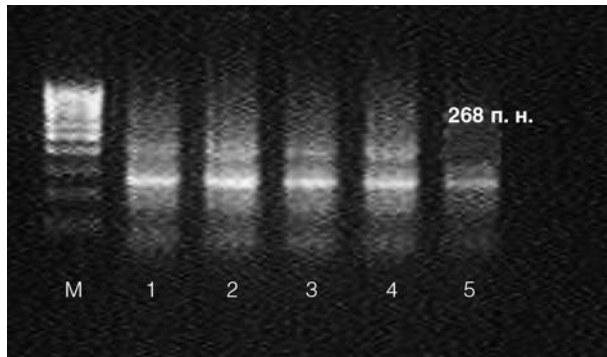
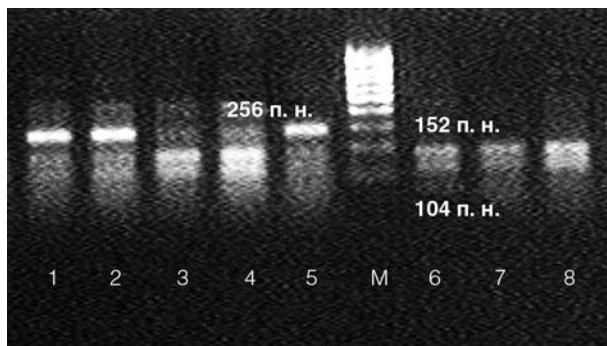
До дослідження включено 170 хворих із СН (100 жінок та 70 чоловіків, середній вік — $(63,16 \pm 1,2)$ року. Діагноз СН встановлювали відповідно до рекомендацій Європейського товариства кардіологів (2012) та Українського товариства кардіологів (2013).

Допплерехокардіографія. Дослідження проводили за допомогою ультразвукової діагностичної системи VIVID-3 (зав. № 6009). Реєстрація зображення здійснювалася в М- та В-режимах із швидкістю 50 см/с та в імпульсно-хвильовому доплеррежимі зі швидкістю 100 см/с із синхронним записом ЕКГ. Обов'язковими умовами проведення дослідження були: синусовий ритм, відсутність мітрального стенозу, вираженої мітральної та аортальної регургітації, ЧСС не вище 1,6 за 1 с. З метою виключення впливу ЧСС на часові параметри проводили їхню корекцію співвідношенням до кореня квадратного з RR [7].

Молекулярно-генетичне дослідження поліморфізму С825Т (rs5443) гена GNB3 (β_3 -субодиниці G-протеїну) проводили в лабораторії біохімічних та імуноферментних методів дослідження з клінічною морфологією (свідоцтво про атестацію № 100-256/2013, чинне до 01.09.2017 р.). Матеріалом для молекулярно-генетичного дослідження були лейкоцити периферичної крові пацієнтів. Периферичну кров отримували шляхом забору крові з кубітальної вени натщесерце в об'ємі 4 мл у вакуумну пробірку з КЗ ЕДТА (8,4 мг КЗ ЕДТА). Виділення геномної ДНК із лейкоцитів крові для молекулярно-генетичних досліджень здійснювали за допомогою комерційного набору «ДНК-сорб-В» («Амплісенс», Росія) згідно з інструкцією до набору. Виділені зразки до проведення ампліфікації зберігали при температурі -20 °С. Визначення алелей поліморфної ділянки С825Т (rs5443) гена GNB3 проводили методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з подальшим аналізом поліморфізму довжин рестрикційних фрагментів (ПЛР—ПДФ) [5].

Таблиця 1. Температурні режими ампліфікації для С825Т (rs5443) гена GNB3

№ циклу	Температура	Час	Кількість циклів
1	95 °С	5 хв	1
2	94 °С	1 хв	35
	60 °С	45 с	
	72 °С	1 хв	
3	72 °С	5 хв	1

**Рис. 1.** Електрофореграма продуктів ампліфікації при аналізі поліморфізму С825Т гена GNB3
М — маркер ДНК (100 п. н.); 1—5 — амплікони.**Рис. 2.** Електрофореграма продуктів рестрикції при аналізі поліморфізму С825Т гена GNB3
М — маркер ДНК (100 п. н.); 1, 2, 5 — СТ-генотип; 3, 4, 6, 7, 8 — СС-генотип.**Таблиця 2.** Поліморфізм С825Т (rs5443) гена β_3 -субодиниці G-протеїну у хворих із СН (n = 170)

Поліморфізм С825Т (rs5443)		
С825	С825Т	Т825Т (ТТ)
80 (47,1 %)	79 (46,5 %)	11 (6,5 %)

Ампліфікацію виділеної ДНК проводили в автоматичному режимі на термоциклері ТП4-ПЦР-01 — «Терцик» з використанням комерційного набору реактивів GenePak PCR Core (лабораторія «ІзоГен», Росія) та специфічних праймерів (Thermo Scientific, Литва). До готової суміші для ПЛР GenePak PCR Core вносили 50 нг геномної ДНК та по 20 пмоль кожного з пари специфічних праймерів (загальний об'єм суміші складав

20 мкл). Для ПЛР використовували праймерні послідовності, які зазначені в роботі [16]:

- прямий — 5'-TGACCCACTTGCCACCCCGTGC-3';
- зворотний — 5'-GCAGCAGCCAGGGCTGGC-3'.

Для ампліфікації фрагмента довжиною 268 п.н. були встановлені наступні температурні умови (табл. 1).

Для рестрикційного аналізу (ПДРФ) при дослідженні поліморфного варіанта С825Т гена GNB3 використовували 10 од. активності/пробу рестриктази VseDI (Thermo Scientific, Литва). Гідроліз ампліфікатів відповідною рестриктазою тривав впродовж 4 год при температурі 55 °С [17].

Детекцію продуктів ампліфікації (рис. 1) та рестрикції (рис. 2) проводили шляхом електрофорезу в 2,5 % агарозному гелі (Helikon, Росія), виготовленому на 1xTAE (50 мМ трис-ацетат та 2 мМ ЕДТА, рН 8,0) та забарвленому етидіумом бромідом у концентрації 0,5 мкг/мл (BioChemica, Німеччина). Електрофорез тривав 1 год при напруженості електричного поля 5 В/см гелю.

Візуалізацію фрагментів ДНК здійснювали за допомогою: ультрафіолетового випромінювача (ЕСХ-15.М, Франція) з довжиною хвилі 312 нм, відеосистеми GEL IMAGER 2 (НПФ «Біоклон», Росія) та програмного забезпечення GEL EXPLORER. Як маркер молекулярної маси ДНК використовували Set of 100 bp DNA Ladder with stain (SibEnzyme, Росія).

Генотипи ідентифікували за довжиною фрагментів (п. н.), отриманих у результаті рестрикції: СС-генотип (152 п. н. + 104 п. н. + 12 п. н.), СТ-генотип (256 п. н. + 152 п. н. + 104 п. н. + 12 п. н.), ТТ-генотип (256 п. н. + 12 п. н.). Слід зазначити, що для фрагмента довжиною 12 п. н. характерна слабка інтенсивність світіння, тому він майже не візуалізується.

Для статистичного аналізу отриманих результатів використовували статистичний пакет SPSS 19 для Windows.

Результати та обговорення

Серед 170 хворих із СН 80 були гомозиготними носіями дикого алеля С825 (СС). 11 пацієнтів мали два мутовані алеля Т825Т (ТТ). 79 хворих із СН були гетерозиготами (С825Т) (СТ) (табл. 2.).

Статистичний аналіз за критерієм однорідності дисперсій продемонстрував, що групи не є однорідними (табл. 3).

Когорти були неоднорідними за статтю, наявністю фібриляції передсердь, рівнем моноцитів у крові, сироватковою концентрацією креатиніну (див. табл. 3).

Подальший дисперсійний аналіз (табл. 4) продемонстрував, що групи відрізняються за віком та рівнем моноцитів у периферичній крові.

Таблиця 3. Критерій однорідності дисперсій

Показник	Статистика Лівія	Ступінь свободи 1	Ступінь свободи 2	p
Вік, роки	1,477	2	166	0,231
Стать	3,603	2	166	0,029
САТ, мм рт. ст.	0,840	2	166	0,434
ДАТ, мм рт. ст.	0,255	2	166	0,775
ЧСС, хв ⁻¹	1,336	2	166	0,266
КДР, см	0,470	2	166	0,626
КРС, см	0,038	2	166	0,962
ФВ, %	0,029	2	166	0,971
ЛП, см	0,211	2	166	0,810
ПШ, см	0,080	2	165	0,923
ПП, см	0,359	2	165	0,699
Інфаркт міокарда	0,373	2	166	0,690
Наявність ФП	9,704	2	166	0,000
Наявність цукрового діабету	3,050	2	166	0,050
Гемоглобін крові	0,849	2	166	0,430
Еритроцити крові	0,243	2	166	0,784
Лейкоцити	0,592	2	166	0,554
Гранулоцити	0,138	2	165	0,871
Лімфоцити	0,213	2	166	0,809
Моноцити	11,746	2	166	0,000
Тромбоцити	2,562	2	155	0,080
Альбумін	0,825	2	41	0,445
Креатинін	3,193	2	161	0,044
Смерть	1,105	2	166	0,334

Таблиця 4. Результати дисперсійного аналізу

Показник	Сума квадратів	Ступінь свободи	Середній квадрат	F	p	
Вік, роки	T825T	636,080	2	318,040	2,905	0,058
	C825C + C825T	18171,518	166	109,467		
	Усього	18807,598	168			
Моноцити	T825T	52,984	2	26,492	5,869	0,003
	C825C + C825T	749,359	166	4,514		
	Усього	802,343	168			

Порівняльний статистичний аналіз трьох груп поліморфізму гена (β_3 -субодиниці G-протеїну (CC, CT, TT типи) не виявив значущої різниці. Після об'єднання групи хворих, що є гомозиготами за C-алелем (CC генотип), з гетерозиготами (CT генотип) та порівняння даної когорти з гомозиготними носіями T-алеля (TT) було виявлено наступні достовірні різниці (табл. 5).

Носії C-алеля (гомозиготні та гетерозиготні) мали більший вік до розвитку СН ((65,9 ± 10,6) року), порівняно з гомозиготними носіями T-алеля (59,3 ± 7,8) року) (p < 0,05). Також носії C-алеля (гомозиготні та гетерозиготні) мали менший рівень моноцитів крові (4,1 ± 1,9), порівнюючи з гомозиготними носіями T-алеля (6,3 ± 4,5) (p < 0,001).

Аналіз спряженості продемонстрував вплив поліморфізму гена β_3 -субодиниці G-протеїну на рівень креатиніну крові (табл. 6). Так, хворі, що є гомозиготними носіями T-алеля (TT), мали найбільшу частоту відхилення від норми креа-

тиніну крові (18,2 %), в той час як гомозиготні носії C-алеля (CC генотип) мали відхилення від норми креатиніну крові лише у 13,7 %.

Таким чином, носії C-алеля гена β_3 -субодиниці G-протеїну мали більший вік до розвитку СН ((65,9 ± 10,6) року), порівняно з гомозиготними носіями T-алеля ((59,3 ± 7,8) року); менший рівень моноцитів крові (4,1 ± 1,9), (при T-алелі (6,3 ± 4,5)) (p < 0,001). Хворі, що були гомозиготними носіями T-алеля (TT), мали велику частоту відхилення від норми креатиніну крові (18,2 %), в той час як гомозиготні носії C-алеля (CC генотип) – лише у 13,7 %.

Серцево-судинні ефекти стимуляції β_1 і β_2 -адренорецепторів зумовлені здатністю Gs-білка опосередковано активувати аденілатциклазу. У неактивному стані Gs-білки мають гетеротримерну структуру, що складається з α -, β - та γ -субодиниці. Активація β -АР призводить до зв'язування Gs-білка із ГТФ (гуанозинтрифос-

Таблиця 5. Залежність розвитку фібриляції передсердь від поліморфізму гена β_3 -субодиниці G-протеїну (M \pm SD, n = 169)

Показник	Поліморфізм		p
	СС + СТ (n = 158)	ТТ (n = 11)	
Вік, роки	65,8553 \pm 10,6014	59,2727 \pm 7,7858	0,04
САТ, мм рт. ст.	158,4494 \pm 25,3074	162,5455 \pm 27,1159	0,606009
ДАТ, мм рт. ст.	94,0506 \pm 11,9834	95,4545 \pm 13,1253	0,709270
ЧСС, хв ⁻¹	82,5409 \pm 19,8853	77,6364 \pm 11,2718	0,420472
КДР, см	5,4347 \pm 0,6466	5,3455 \pm 0,5956	0,657033
КРС, см	4,0134 \pm 0,7965	3,7909 \pm 0,7556	0,370353
ФВ, %	50,2642 \pm 10,5737	53,6364 \pm 9,9526	0,306156
ЛП, см	4,1051 \pm 0,5345	3,9000 \pm 0,5099	0,219130
ПЖ, см	2,7255 \pm 0,4401	2,6818 \pm 0,4238	0,750316
ПП, см	3,7548 \pm 0,5625	3,5182 \pm 0,5930	0,180857
Моноцити, 10 ⁶ /л	4,0509 \pm 1,8596	6,3273 \pm 4,5235	0,001

Таблиця 6. Вплив поліморфізму гена β_3 -субодиниці G-протеїну на рівень креатиніну крові

Показник	Поліморфізм β_3 -субодиниці G-протеїну			Усього	
	СС	СТ	ТТ		
Креатинін	Норма	69 (86,3 %)	72 (98,6 %)	9 (81,8 %)	150
	Не норма	11 (13,7 %)	1 (1,6 %)	2 (18,2 %)	14
Усього	80	73	11	164	
χ^2	8,898				
p	0,012				

фат) та відділення від нього β - та γ -субодиниць, що дозволяє передати сигнали ефекторам. Поліморфізми $G\alpha_s$ -субодиниці досить рідкісні, не описано їх значущого впливу на серцево-судинну систему [13]. Але синонімічна заміна (АТТ > АТС, Пе131) в п'ятому екзоні була пов'язана з АГ [10]. Рідкісні активні GNAS ($G\alpha_s$ ген) мутації, наприклад Arg201Leu, можуть призводити до гормональної гіперсекреції з розвитком спонтанних пухлин гіпофіза, щитовидної залози та надниркових залоз, ураження шкіри за типом «кава з молоком» при синдромі McCune-Albright [21]. Натомість неактивні Gas мутації визначають спадкову остеодистрофію Олбрайта, резистентність до парат- і тиреотропного гормону (ТТГ) та соматоліберину [19].

Встановлено, що поліморфізм некодуєчого динуклеотида α -субодиниці Gq-протеїну, який передає сигнал від α -адренорецепторів, пов'язаний з підвищенням смертності при СН серед афроамериканців [12] та АГ в європейській популяції [9].

Описано багато поліморфних варіантів $G\beta_3$ -субодиниці. С825Т варіант $G\beta_3$ викликає альтернативний сплайсинг, що кодує урізаний протеїн, який, як вважають, підвищує чутливість G-протеїну. Цей поліморфізм знижує ризик розвитку інфаркту міокарда та підвищує ефективність статинотерапії [15]. Також є дані

про його асоціацію з розвитком метаболічного синдрому, АГ, ожиріння, дисліпідемії та інсулінорезистентності [11]. Варіант алеля виявився пов'язаний з ожирінням і гіпертонією. Заміна нуклеотиду С на Т в положенні 825 в гені GNB3, який кодує β_3 -субодиницю G-білка, супроводжується альтернативним сплайсингом, що призводить до скороченого варіанта 9-го екзону. Наслідком цього є втрата одного білкового домену. Молекулярні механізми, залучені в альтернативний сплайсинг, ще до кінця не досліджені. При ЦД 2 типу алель 825Т асоціюється з більшою достовірністю розвитку термінальної стадії захворювань нирок [18]. Поширеність мутації (Т) в європейській популяції складає 38 % [17].

За останні кілька років було показано, що в дії інсуліну беруть участь механізми, пов'язані з G-білками. Інсулін змінює чутливість до агентів, що діють за допомогою G-білків. Було показано, що у носіїв алеля 825Т чутливість до інсуліну підвищена. Поліморфізм GNB3 С825Т асоціюється з ЦД 2 типу. Відомий зв'язок алеля Т825 з індексом маси тіла (ІМТ). У групі європейців ІМТ достовірно відрізнявся між генотипами (ТТ — (24,9 \pm 2,3) кг/м²; ТС — (23,6 \pm 2,4) кг/м²; СС — (23,1 \pm 2,5) кг/м²; p = 0,003). Ця різниця також була помітною при співвідношенні генотипів з алелем Т та без нього: ТТ/СТ

проти СС- генотипу ($p = 0,01$). Частота алеля 825Т складала 29,5; 39,3 і 47,7 % у групах з нормальною вагою, підвищеною вагою й ожирінням відповідно. Розподіл генотипів між групою з підвищеною вагою/ожирінням і групою з нормальною вагою достовірно відрізнявся ($p = 0,05$). У носіїв генотипу ТТ імовірність підвищення ваги збільшувалася в 2,5 разу, а вірогідність розвитку ожиріння — в 5 разів. Тоді як наявність гетерозиготи С/Т збільшувала ризик надмірної ваги й ожиріння в 1,5 і в 2,2 разу відповідно [11].

Не всі дослідження продемонстрували достовірні результати [8, 14], однак і ці роботи слід розглядати, як вагомий для проведення більш масштабних спостережень.

Висновки

Визначено поширеність поліморфних варіантів С825Т (rs5443) гена β_3 -субодиниці G-протеїну серед хворих із СН. 47,1 % хворих були гомозиготними носіями «дикого» алеля С825,

46,5 % — гетерозиготами (С825Т), 6,5 % — гомозиготами за «мутованим» алелем (С825Т).

Носії «мутованого» Т-алеля гена β_3 -субодиниці G-протеїну мали молодший вік на момент розвитку СН ($(59,3 \pm 7,8)$ року) порівняно з хворими із СС генотипом ($(65,9 \pm 10,6)$ року) та вищий рівень моноцитів крові ($6,3 \pm 4,5$ проти $4,1 \pm 1,9$ ($p < 0,001$)).

Хворі, що були гомозиготними носіями Т-алеля (ТТ), мали велику частоту відхилення від норми креатиніну крові (18,2 %) на відміну від гомозиготних носіїв С-алеля (13,7 %).

Конфлікт інтересів відсутній.

Участь авторів:

Концепція, збір даних, написання статті: С.М. Пивовар.

Редагування: Ю.С. Рудик.

Проведення полімеразної ланцюгової реакції: А.С. Попович.

Статистична обробка матеріалу: О.В. Висоцька і Г.М. Страшенко.

Список літератури

1. Воронков Л.Г., Горовенко Н.Г., Мазур І.Д. та ін. Поліморфні варіанти Т(-786)С і G894Т гена ендотеліальної NO-синтази та стан вазодилатаційної функції ендотелію у хворих із хронічною серцевою недостатністю // Серце і судини.— 2012.— № 4.— С. 43—51.
2. Воронков Л.Г., Дзяк Г.В., Амосова Е.Н. и др. Обоснование, дизайн и результаты украинского многоцентрового исследования КОРИОЛАН (КОРИОЛ — Альтернатива насосной недостаточности сердца) // Серцева недостатність.— 2015.— № 2.— С. 28—33.
3. Воронков Л.Г., Ільницька М.Р., Бабич П.М. Прогноз пацієнтів із хронічною серцевою недостатністю та систолічною дисфункцією лівого шлуночка залежно від даних неінвазивних методів обстеження // Укр. терапевт. журн.— 2015.— № 1.— С. 24—31.
4. Горбась І.М., Воронков Л.Г. Епідеміологічні аспекти хронічної серцевої недостатності у дорослого населення України // Укр. кардіол. журн.— 2008.— № 4.— С. 8—12.
5. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование.— М.: Мир, 1984.— 243 с.
6. Рудык Ю.С., Пивовар С.Н. Прикладное значение фармакогенетики в лечении больных с сердечной недостаточностью // Укр. терапевт. журн.— 2013.— № 1.— С. 84—92.
7. Шиллер Н., Осипов М.А. Клиническая эхокардиография.— М., 1993.— 347 с.
8. Brand E., Herrmann S.M., Nicaud V. et al. The 825C/T polymorphism of the G-protein subunit beta3 is not related to hypertension // Hypertension.— 1999.— Vol. 33.— P. 1175—1178.
9. Frey U.H., Lieb W., Erdmann J. et al. Characterization of the GNAQ promoter and association of increased Gq expression with cardiac hypertrophy in humans // Eur. Heart J.— 2008.— Vol. 29.— P. 888—897.
10. Jia H., Hingorani A.D., Sharma P. et al. Association of the G(alpha) gene with essential hypertension and response to beta-blockade // Hypertension.— 1999.— Vol. 34.— P. 8—14.
11. Kiani J.G., Saeed M., Parvez S.H., Frossard P.M. Association of G-protein beta-3 subunit gene (GNB3) T825 allele with Type II diabetes // Neuro Endocrinol. Lett.— 2005.— Vol. 26.— P. 87—88.
12. Liggett S.B., Kelly R.J., Parekh R.R. et al. A functional polymorphism of the Galphaq (GNAQ) gene is associated with accelerated mortality in African-American heart failure // Hum. Mol. Genet.— 2007.— Vol. 16.— P. 2740—2750.
13. Lynch R.A., Wagoner L., Li S. et al. Novel and nondetected human signaling protein polymorphisms // Physiol. Genomics.— 2002.— Vol. 10.— P. 159—168.
14. Meirhaeghe A., Cottel D., Amouyel P., Dallongeville J. Lack of association between certain candidate gene polymorphisms and the metabolic syndrome // Mol. Genet. Metab.— 2005.— Vol. 86.— P. 293—299.
15. Peters B.J., Maitland-van der Zee A.H., Stricker B.H. et al. Effectiveness of statins in the reduction of the risk of myocardial infarction is modified by the GNB3 C825T variant // Pharmacogenomics.— 2008.— Vol. 18.— P. 631—636.
16. Roskopf D. G protein beta 3 gene: structure, promoter, and additional polymorphisms // Hypertension— 2000.— Vol. 36 (1)— P. 33—41.
17. Roskopf D., Busch S., Manthey J., Siffert W. G-protein beta 3 gene: structure, promoter, and additional polymorphisms // Hypertension— 2000.— Vol. 36 (1)— P. 33—41.
18. Siffert W. Molecular genetics of G proteins and atherosclerosis risk // Basic Res. Cardiol.— 2001.— Vol. 96.— P. 606—611.
19. Spiegel A.M. Albright's hereditary osteodystrophy and defective G proteins // N. Engl. J. Med.— 1990.— Vol. 322.— P. 1461—1462.
20. von Homeyer P., Schwinn D.A. Pharmacogenomics of β -adrenergic receptor physiology and response to β -blockade // Anesth Analg.— 2011 Dec.— 113(6): 1305—18. doi: 10.1213/ANE.0b013e31822b887e. Epub 2011 Sep 29. Review.
21. Weinstein L.S., Chen M., Xie T., Liu J. Genetic diseases associated with heterotrimeric G proteins // Trends Pharmacol. Sci.— 2006.— Vol. 27.— P. 260—266.

С.Н. Пивовар¹, Ю.С. Рудик¹, А.С. Попович¹, Е.В. Высоцкая², А.Н. Страшненко²¹ГУ «Национальный институт терапии имени Л.Т. Малой НАМН Украины», Харьков²Харьковский национальный университет радиоэлектроникиПолиморфизм C825T (rs5443) гена β_3 -субъединицы G-протеина и течение сердечной недостаточности

Цель работы — определить распространенность и влияние полиморфизма C825T (rs5443) гена β_3 -субъединицы G-протеина на течение сердечной недостаточности (СН).

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 170 больных с СН. Оценивали клиническое течение заболевания. Параметры внутрисердечной гемодинамики определяли с помощью доплерэхокардиографии. Молекулярно-генетическое исследование β_3 -субъединицы полиморфизма C825T (rs5443) гена GNB3 (G-протеина) проводили в лаборатории биохимических и иммуноферментных методов исследования и клинической морфологии. Материалом для молекулярно-генетического исследования служили лейкоциты периферической крови пациентов. Выделение геномной ДНК из лейкоцитов крови для молекулярно-генетических исследований осуществляли с помощью коммерческого набора «ДНК-сорб-В» («Амплиценс», Россия) в соответствии с инструкцией к набору. Для полимеразной цепной реакции использовали праймеры последовательности.

Результаты и обсуждение. Из 170 больных с СН 80 были гомозиготными носителями дикого аллеля C825 (CC). 11 пациентов имели два мутированных аллеля T825 (TT). 79 больных с СН были гетерозиготными носителями (C825T) (CT). Носители С-аллеля (гомозиготные и гетерозиготные) имели больший возраст к началу развития СН ((65,9 ± 10,6) года) по сравнению с гомозиготными носителями Т-аллеля (59,3 ± 7,8) года (p < 0,05). Также носители С-аллеля (гомозиготные и гетерозиготные) имели меньший уровень моноцитов крови (4,1 ± 1,9), по сравнению с гомозиготными носителями Т-аллеля (6,3 ± 4,5) (p < 0,001). Гомозиготные носители Т-аллеля (TT) имели наибольшую частоту отклонения от нормы креатинина крови (18,2 %), в то время как гомозиготные носители С-аллеля (CC-генотип) имели отклонения от нормы креатинина крови только в 13,7 %.

Выводы. Определена распространенность полиморфных вариантов C825T (rs5443) гена β_3 -субъединицы G-протеина среди больных с СН. 47,1 % больных являлись гомозиготными носителями «дикого» аллеля C825, 46,5 % — гетерозиготными (C825T), 6,5 % — гомозиготными по «мутированному» гену (C825T). Носители β_3 -субъединицы G-протеина имели более молодой возраст на момент развития СН ((59,3 ± 7,8) года), по сравнению с больными с CC генотипом ((65,9 ± 10,6) года), и высокий уровень моноцитов крови (6,3 ± 4,5 против 4,1 ± 1,9 (p < 0,001)). Гомозиготные носители Т-аллеля (TT) имели большую частоту отклонения от нормы креатинина крови (18,2 %) в отличие от гомозиготных носителей С-аллеля (13,7 %).

Ключевые слова: сердечная недостаточность, течение заболевания, полиморфизм гена, G-протеин, β_3 -субъединица.

S.M. Pivovar¹, Yu.S. Rudyk¹, A.S. Popovich¹, O.V. Vysotskaya², G.M. Strashnenko²¹SI «National Institute of Therapy named after L.T. Mala of NAMS of Ukraine», Kharkiv²Kharkiv National University of Radio ElectronicsThe polymorphism C825t (rs5443) of β_3 -subunit G-protein gene and heart failure

Objective — to determine the prevalence and impact of polymorphism C825T (rs5443) of G-protein β_3 -subunit gene on the course of heart failure.

Materials and methods. 170 patients with heart failure were included to study. The clinical course of the disease was assessed. The intracardiac hemodynamics was evaluated with Doppler echocardiography. Molecular-genetic study of polymorphism C825T (rs5443) gene GNB3 (G-protein) β_3 -subunit was performed in the laboratory of biochemical and immunoassay research methods of clinical morphology. Peripheral blood leukocytes of patients were used as a material for molecular genetic investigations. Extraction of the genomic DNA from white blood cells for molecular genetic studies was carried out using a commercial kit DNA Sorbo-In (Amplias Sense, Russia) according to the instructions. The primer sequences were used for PCR.

Results and discussion. From 170 patients with heart failure, 80 were homozygous for the wild allele S825 (CC). 11 patients had two mutated alleles T825 (TT). 79 patients with heart failure were heterozygotes (C825T) (CT). C-allele carriers (homozygous and heterozygous) had a greater age to under-development of heart failure ((65.9 ± 10.6) years) compared to homozygous carriers of the T-allele ((59.3 ± 7.8) years) (p < 0.05). Also, the C-allele carriers (homozygous and heterozygous) had lower levels of blood monocytes (4.1 ± 1.9) compared to homozygous carriers of the T-allele (6.3 ± 4.5) (p < 0.001). Patients who are homozygous carriers of the T-allele (TT) have the highest frequency of abnormal blood creatinine (18.2 %) at the same time homozygous carriers of the C-allele (CC genotype) had a deviation of blood creatinine only 13.7 %.

Conclusions. The prevalence of polymorphic variations C825T (rs5443) gene of G-protein β_3 -subunit among patients with heart failure was determined. 47.1 % of patients are homozygous carriers of «wild» C825 allele, 46.5 % of patients — heterozygotes (C825T), 6.5 % of patients are homozygotes for «mutated» allele (C825T). Carriers of «mutated» T-allele gene of β_3 -subunits of G-protein have younger age of heart failure development ((59.3 ± 7.8) years) compared to patients with CC genotype ((65.9 ± 10.6) years) and higher level of blood monocytes (6.3 ± 4.5 to 4.1 ± 1.9 (p < 0.001)). Patients who are homozygous carriers of the T-allele (TT) have higher frequency of abnormal blood creatinine (18.2 %) in contrast to homozygous carriers of the C-allele (13.7 %).

Key words: heart failure, clinical course, gene polymorphism, G-protein, β_3 -subunit.