

# Вплив комбінації гаплотипів генів $\beta_1$ - та $\beta_2$ -адренорецепторів на перебіг серцевої недостатності

**Мета роботи** – визначити поширеність та вплив комбінованих гаплотипів генів  $\beta_1$ - та  $\beta_2$ -адренорецепторів на перебіг серцевої недостатності (СН).

**Матеріали та методи.** До дослідження включено 200 хворих на СН. Оцінювали клінічний перебіг захворювання. Проводили дослідження поліморфізмів Ser49Gly та Gly389Arg гена  $\beta_1$ -адренорецепторів, а також Gln27Glu гена  $\beta_2$ -адренорецепторів. Матеріалом для молекулярно-генетичного дослідження були лейкоцити периферичної крові пацієнтів. Виділення геномної ДНК здійснювали за методом Вольфганга. Для полімеразно-ланцюгової реакції використовували праймерні послідовності.

**Результати та обговорення.** У ході дослідження встановлено, що найбільш несприятливим комбінованим гаплотипом генів  $\beta_1$ - та  $\beta_2$ -адренорецепторів для перебігу СН є Ser49Ser/Gly389Gly-Gln27Gln та Ser49Ser/Gly389Gly-Glu27Gln. Хворі даних когорт мають негативну динаміку величини фракції викиду лівого шлуночка та діаметра лівого передсердя впродовж періоду спостереження (подальше погіршення скоротливої здатності міокарда), погану хронотропну відповідь на застосування біспрололу, високу частоту розвитку фібриляції передсердь та госпіталізацій у зв'язку з декомпенсацією захворювання. Поряд з цим, дані хворі є кращими відповідачами щодо застосування карведилолу. Зважаючи на ці обставини, у хворих на СН, що мають комбіновані гаплотипи поліморфізмів Ser49Ser/Gly389Gly-Gln27Gln та Ser49Ser/Gly389Gly-Glu27Gln, можливо, при виявленні даного типу поліморфізмів генів  $\beta_1$ - та  $\beta_2$ -адренорецепторів необхідно максимально раніше призначати карведилол та аміодарон (з превентивною антиаритмічною метою).

**Висновки.** Несприятливими комбінаціями гаплотипів генів  $\beta_1$ - та  $\beta_2$ -адренорецепторів для перебігу СН є Ser49Ser/Gly389Gly/Gln27Gln та Ser49Ser/Gly389Gly/Glu27Gln, що зустрічаються, відповідно, у 2 та 4 % хворих. У цих пацієнтів спостерігається негативна динаміка фракції викиду лівого шлуночка та діаметра лівого передсердя, висока частота розвитку фібриляції передсердь, найбільша кількість госпіталізацій у зв'язку з декомпенсацією захворювання, низька хронотропна відповідь на застосування біспрололу. У хворих з комбінованими гаплотипами Ser49Ser/Gly389Gly/Gln27Gln та Ser49Ser/Gly389Gly/Glu27Gln застосування карведилолу є більш ефективним порівняно з біспрололом для зниження частоти серцевих скорочень.

## Ключові слова:

серцева недостатність, клінічний перебіг, поліморфізм, ген,  $\beta_1$ -адренорецептори,  $\beta_2$ -адренорецептори.



**С.М. Пивовар**

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  
Тел. (057) 373-90-90  
E-mail: sn\_p@ukr.net

Стаття надійшла до редакції  
4 жовтня 2018 р.

За даними медичної статистики, в останні два десятиліття спостерігається неухильне зростання числа випадків серцевої недостатності (СН) практично в усіх країнах світу, незалежно від економічного стану [1]. Поширеність захворювання серед дорослого населення як у США, так і в європейських країнах становить у середньому 1,5–2,0 % популяції та прогресує з віком, у групі 80–89 років сягає 10 %. Приблизно половина пацієнтів помирають протягом 4 років, а серед хворих з тяжкою СН смертність сягає 50 % [4, 7]. Зважаючи на демографічну тенденцію в Україні – зростання питомої ваги населення

старших вікових груп, питання надання медичної допомоги цим хворим набуває дедалі більшої актуальності [1].

Інгібітори ангіотензин-перетворюючого ферменту дозволяють домогтися зниження ризику смерті хворих на СН у середньому лише на 23% [12]. На сьогодні  $\beta$ -адреноблокатори ( $\beta$ -АБ) є обов'язковою складовою медикаментозного лікування хворих на СН із систолічною дисфункцією лівого шлуночка (ЛШ). Їх застосування є логічним, оскільки активація симпатoadреналової системи, поряд з ренін-ангіотензиною, відіграє ключову роль на всіх етапах серцево-судинного континууму [3, 6, 16]. Індивідуальний режим прийому та дозування препарату призначається лікарем методом спроб та помилок. На сьогодні немає відомостей про жодні біомаркери, що дозволили б прогнозувати дію препарату, в кого із хворих у вибраній дозі буде більш ефективним, на іншого не подіє, а у наступного матимуть місце небажані побічні ефекти терапії. У даному аспекті одним з можливих раціональних підходів до призначення препаратів, а саме  $\beta$ -АБ, може бути оцінка взаємовідношення реакції на лікування з урахуванням генетичних особливостей конкретного хворого [7, 8]. Генетичну залежність дії ліків почали вивчати задовго до повного розшифрування геному. Чим більше вивчали геном людини, тим більше розуміли, що в основі індивідуальної реакції на лікарський засіб може лежати поліморфізм одного нуклеотиду — SNP (single nucleotide polymorphism). SNP — одноступеневий варіант нуклеотидної послідовності в геномній ДНК, для якої в певній популяції є різні варіанти послідовностей (алелі), причому рідкий алель зустрічається з частотою не менше 1%. Результати багатьох досліджень свідчать про те, що генетичний поліморфізм  $\beta_1$ - та  $\beta_2$ -адренорецепторів ( $\beta_1$ -АР та  $\beta_2$ -АР) дозволяє виділити серед пацієнтів із СН «респондентів» до  $\beta$ -АБ, а значна поширеність у популяції окремих видів поліморфізму генів  $\beta_1$ -АР робить можливим розробку індивідуальних схем лікування з урахуванням фармакогенетичного профілю пацієнтів [8].

**Мета роботи** — визначити поширеність та вплив комбінованих гаплотипів генів  $\beta_1$ - та  $\beta_2$ -адренорецепторів на перебіг серцевої недостатності.

### Матеріали та методи

До дослідження включено 200 хворих на СН (95 жінок та 105 чоловіків, середній вік  $(64,2 \pm 2,3)$  року). Критеріями включення були: підписання інформованої згоди, систолічна дисфункція лівого шлуночка (ЛШ) на тлі післяінфарктного кардіосклерозу. Діагноз СН встанов-

лювали у відповідності до рекомендацій Європейського товариства кардіологів (2016). [15]. Контрольну групу склали 30 осіб відповідного віку та статі без ознак СН. Титування дози  $\beta$ -АБ проводили у відповідності до рекомендацій Європейського товариства кардіологів з діагностики та лікування СН (2016) [15]. У 195 хворих було визначено поліморфізм гена  $\beta_1$ -АР. Для цього проводили забір венозної крові в пробірку з 0,3 мл 4% цитрату натрію. Надалі виділяли ДНК з лімфоцитів за методом Вольфганга [2]. Були синтезовані праймери гена  $\beta_1$ -АР (за двома алелями — 49 і 389). Прямі та зворотні праймери мали, відповідно, наступні нуклеотидні послідовності [13]:

5`-CGCTCTGCTGGCTGCCCTTCTTCC-3` та 5`-TGGGCTTCGAGTTCACCTGCT ATC-3`.

За допомогою полімеразної ланцюгової реакції в реальному часовому режимі визначали типи поліморфізму гена за двома алелями — 49 та 389 [2].

У 200 хворих на СН провели типування зразків ДНК за геном  $\beta_2$ -АР. Визначення проводили з використанням пари специфічних олігонуклеотидних праймерів («Fermentas», Литва) з ділянками даного гена (прямий: 5'-GAA TGA GGC TTC CAG GCG TC-3'; зворотний: 5'-GGC CCA TGA CCA GAT CAG CA-3'). Полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) проводили в 20 мкл реакційної суміші, складеної з компонентів стандартного набору GenePak PCR Core (лабораторія «ІзоГен», Росія), що містила 50 нг ДНК і 0,2 мкМ кожного з праймерів. Температура денатурації ДНК становила 94 °C (1 хв), відпалу праймерів — +61 °C (1 хв), синтезу — 72 °C (1 хв). Кількість циклів дорівнювала 30.

Для визначення генотипу 79C > G гена  $\beta_2$ -АР отримані ампліфікати підлягали рестрикційному аналізу. 20 мкл продукту ампліфікації переносили в суміш для рестрикційного аналізу. Для проведення рестрикційного аналізу використовували 10 одиниць активності/пробу рестриктази Fnu4HI у відповідному буфері («Fermentas», Литва). Рестрикція тривала протягом ночі за температури 37 °C. Візуалізацію отриманих рестрикційних фрагментів довжиною 229, 174 та 97 п.н. та ампліфікатів — 380 п.н., визначення генотипу 79C > G проводили за допомогою горизонтального електрофорезу в 3% агарозному гелі (40 хв при 130 V) в 1xTBE (50 mM трис-НЗВО3 та 2 mM EDTA, pH 8,0), забарвленому етидіумом бромідом. У результаті рестрикційного аналізу ампліфікатів (довжина фрагмента становить 380 п.н.) гена  $\beta_2$ -АР фрагменти 97 п.н. та 229 п.н. отримували тільки у випадку присутності алеля Glu27, який виникає внаслідок заміни С на G. Як маркер довжини фрагментів

**Таблиця 1.** Частота поліморфізму Ser49 гена  $\beta_1$ -АР

Поліморфізм	Група		p
	Хворі на СН (n = 195)	Контрольна (n = 30)	
Ser49Ser	150 (76,9%)	22 (73,3%)	> 0,05
Gly49Ser	45 (23,1%)	8 (26,7%)	> 0,05
Gly49Gly	0	0	—

**Таблиця 2.** Частота поліморфізму Arg389 гена  $\beta_1$ -АР

Поліморфізм	Група		p
	Хворі на СН (n = 195)	Контрольна (n = 30)	
Arg389Arg	104 (53,3%)	17 (56,7%)	> 0,05
Arg389Gly	76 (40%)	10 (33,3%)	> 0,05
Gly389Gly	15 (7,7%)	3 (10,0%)	> 0,05

**Таблиця 3.** Частота та вид гаплотипів гена  $\beta_1$ -АР

Поліморфізм	Група		p
	Хворі на СН (n = 195)	Контрольна (n = 30)	
Ser49Ser/Gly389Gly	15 (7,7%)	3 (10,0%)	> 0,05
Ser49Ser/Arg 389Gly	56 (28,7%)	7 (23,3%)	> 0,05
Ser49Ser/Arg389Arg	79 (40,5%)	9 (30,0%)	> 0,05
Ser49Gly/Arg389Arg	25 (12,8%)	8 (26,7%)	> 0,05
Ser49Gly/Arg 389 Gly	20 (10,3%)	3 (10,0%)	> 0,05

використовували 50 п.н. ДНК М50 (лабораторія «ІзоГен», Росія). Візуалізацію фрагментів здійснювали за допомогою ультрафіолетового випромінювача ЕСХ-15.М (Франція), відеосистеми Gel Imager 2 (НПФ «Біоклон», Москва) та програмного забезпечення Gel Explorer. Перевірку гіпотези про рівність середніх величин за двома групами проводили за допомогою двовибіркового t-критерію. Оцінку різниці серед частот ознак у групах проводили методом Пуассона та критерію  $\chi^2$ . Під час перевірки статистичної гіпотези про рівність середніх для більш ніж двох груп одночасно застосовували однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA — Analysis of Variance). Дані представлені у вигляді  $M \pm SD$ , де  $M$  — середня величина,  $SD$  — стандартне відхилення.

**Таблиця 4.** Частота розвитку ФП у хворих на СН (n = 195)

Параметр	Гаплотип				
	Ser49Ser/ Gly389Gly (n = 15)	Ser49Ser/ Arg389Gly (n = 56)	Ser49Ser/ Arg389Arg (n = 79)	Ser49Gly/ Arg389Arg (n = 25)	Ser49Gly/ Arg389Gly (n = 20)
Фібриляція передсердь (1)	4 (26,7%)*	19 (33,9%)*	21 (26,6%)*	4 (16,0%)*	0
Синусовий ритм (2)	11 (73,3%)	37 (66,1%)	58 (73,4%)	19 (76,0%)	20 (100%)
p (1 : 2)	< 0,05	< 0,001	< 0,02	< 0,05	—

Примітка. \*Достовірність різниці між групами (за статистичним методом ANOVO). Розташування зірочки на різних рівнях вказує на достовірність ( $p < 0,05$ ), так само в табл. 5, 6, 10.

Розрахунки проводились пакетом прикладної програми Statistica 6.0.

### Результати та обговорення

У хворих на СН поліморфізм  $\beta_1$ -АР типу Ser49Ser зустрічався у 150 випадках (76,9%), Gly49Ser — у 45 хворих (23,1%) (табл. 1).

Серед осіб контрольної групи поліморфізм гена  $\beta_1$ -АР типу Ser49Ser зустрічався в 22 випадках (73,3%), Gly49Ser — у 8 (26,7%) (див. табл. 1). Достовірної різниці за частотою поліморфізму Ser49Gly гена  $\beta_1$ -АР між групами не виявлено. 104 хворих на СН (53,3%) мали поліморфізм гена  $\beta_1$ -АР Arg389Arg, 76 пацієнтів (40%) — поліморфізм Arg389Gly, 15 (7,7%) — Gly389Gly (табл. 2).

Статистичний аналіз не виявив достовірної різниці за розподілом частот даного поліморфізму між групами. Аналіз також не виявив гендерних відмінностей в розподілі поліморфізмів.

Проаналізовано частоти поєднання різних мутацій гена (гаплотип) (табл. 3).

Не виявлено достовірної різниці в розподілі гаплотипів гена  $\beta_1$ -АР у хворих на СН до референтної групи (див. табл. 3). Не встановлено закономірності між розвитком фібриляції передсердь (ФП) та гаплотипом гена  $\beta_1$ -АР (табл. 4).

Подальший аналіз продемонстрував, що хворі з гаплотипом Ser49Ser/Gly389Gly мають найбільшу частоту розвитку госпіталізацій протягом 3 років у зв'язку з декомпенсацією СН (93,3%). Цей показник достовірно більший порівняно з частотою госпіталізацій у групі хворих з гаплотипами Ser49Ser/Arg389Gly та Ser49Ser/Arg389Arg, та не відрізнявся від такого в групі Ser49Gly/Arg389Arg (табл. 5).

За 3 роки у підгрупі з гаплотипом Ser49Ser/Gly389Gly померли 4 (26,7%) хворих, у підгрупі з гаплотипом Ser49Ser/Arg389Gly — 11 (19,6%) та 20 (25,3%) у підгрупі з гаплотипом Ser49Ser/Arg389Arg (табл. 6). Дані не мають достовірної різниці.

У результаті проведеного генотипування хворих на СН на 79С > G поліморфізм гена  $\beta_2$ -АР

Таблиця 5. Частота госпіталізацій за 3 роки у зв'язку з декомпенсацією СН (n = 195)

Параметр	Гаплотип				
	Ser49Ser/ Gly389Gly (n = 15)	Ser49Ser/ Arg389Gly (n = 56)	Ser49Ser/ Arg389Arg (n = 79)	Ser49Gly/ Arg389Arg (n = 25)	Ser49Gly/Arg 389Gly (n = 20)
Госпіталізовано (1)	14 (93,3%)*	24 (42,9%)*	27(34,2%)*	24 (96,0%)*	11 (55%)*
Не госпіталізовано (2)	1 (6,7%)	32 (57,1%)	52 (65,8%)	1 (4,0%)	9 (45,0%)
p (1 : 2)	< 0,001	> 0,05	< 0,001	< 0,001	> 0,05

Таблиця 6. Смертність хворих на СН упродовж 3 років спостереження (n = 195)

Параметр	Гаплотип				
	Ser49Ser/ Gly389Gly (n = 15)	Ser49Ser/ Arg389Gly (n = 56)	Ser49Ser/ Arg389Arg (n = 79)	Ser49Gly/ Arg389Arg (n = 25)	Ser49Gly/Arg 389Gly (n = 20)
Несприятливий перебіг (1)	4 (26,7%)*	11 (19,6%)*	20 (25,3%)*	0	0
Сприятливий перебіг (2)	11 (73,3%)	45 (80,4%)	59 (74,5%)	25 (100%)	20 (100%)
p (1 : 2)	> 0,05	< 0,001	< 0,001	—	—

було виділено рестрикційні фрагменти трьох генотипів (C/C, G/C і G/G).

Статистичний аналіз показав, що 33% хворих на СН є гомозиготами за «диким» алелем С. 13% пацієнтів є гомозиготами за алелем G. 54% хворих – гетерозиготами (табл. 7). Алель С реєструється серед хворих з частотою 0,6. Алель G – 0,4.

Не було виявлено значущого взаємозв'язку між поліморфізмом гена  $\beta_2$ -АР та параметрами морфофункціонального стану серця за даними ехокардіоскопії.

Проаналізовано частоту розвитку ФП у хворих на СН. Найменша частота розвитку ФП у 11,5% реєструється у хворих, що є гомозиготними носіями алеля G (Glu/Glu) (табл. 8). Найбільша частота розвитку даного виду аритмії була у гомозиготних пацієнтів за «дикого» алеля C/C (Gln/Gln) – 59,1% (p = 0,07).

Після об'єднання груп хворих, що є гомозиготами за алелем С (Gln/Gln) з гетерозиготами (G/C – Glu/Gln), було виявлено, що синусовий ритм зберігається у 88,4% носіїв гена  $\beta_2$ -АР типу G/G (Glu/Glu). Тоді як серед хворих з алелем С синусовий ритм зберігається лише у 51,1% ( $\chi^2 = 12,781$ ; p < 0,001) (табл. 9).

Проаналізовано частоту шлуночкової екстрасистолії у хворих на СН залежно від поліморфізму гена  $\beta_2$ -АР. Найменша частота розвитку шлуночкової екстрасистолії реєструється у хворих на СН, що є гомозиготними носіями «дикого» алеля С (табл. 10), порівняно з гетерозиготами та «мутованими» гомозиготами.

Після об'єднання груп хворих, що є гомозиготами за алелем G з гетерозиготами (G/C), аналіз дозволив виявити, що шлуночкова ектопічна активність не є патологічною у хворих,

Таблиця 7. Розподіл частот генотипів та алелів поліморфізму гена  $\beta_2$ -АР Gln27Glu при СН (n = 200)

Генотип	Частота, %	Алель	Частота
C/C (Gln27Gln)	33 (n = 66)	C	0,6
G/C (Glu27Gln)	54 (n = 108)	—	—
G/G(Glu27Glu)	13 (n = 26)	G	0,4

Таблиця 8. Частота розвитку ФП у хворих на СН (n = 200)

Ритм	Генотип гена $\beta_2$ -АР		
	G/G (Glu/Glu) (n = 26)	G/C (Glu/Gln) (n = 108)	C/C (Gln/Gln) (n = 66)
Фібриляція передсердь (1) (n = 88)	3 (11,5%)	46 (42,3%)	39 (59,1%)
Синусовий (2) (n = 112)	23 (88,4%)	62 (57,4%)	27 (40,9%)
p (1 : 2)	< 0,02	> 0,05	> 0,05

Таблиця 9. Ймовірність розвитку ФП у хворих на СН (n = 200)

Ритм	Генотип	
	G/G (Glu/Glu) (n = 26)	(Glu/Gln + Gln/Gln) (n = 174)
Фібриляція передсердь	3 (11,5%)	85 (48,9%)
Синусовий	23 (88,4%)	89 (51,1%)
$\chi^2 = 12,781$ ; p < 0,001		

що є носіями «дикого» алеля С. Тоді як серед хворих з алелем G (гомо- та гетерозиготи) шлуночкова ектопічна активність є патологічною у 14,0% ( $\chi^2 = 4,488$ ; p < 0,05) хворих (табл. 11).

Надалі було проаналізовано частоту поєднання мутацій генів  $\beta_1$ - та  $\beta_2$ -АР у хворих на СН (табл. 12).

**Таблиця 10.** Розподіл частоти шлуночкових екстрасистол у хворих на СН залежно від поліморфізму гена  $\beta_2$ -AP (n = 86)

Порушення ритму	Генотип			P
	G/G (Glu/Glu) (n = 11)	G/C (Glu/Gln) (n = 46)	C/C (Gln/Gln) (n = 29)	
Шлуночкова екстрасистоля	2 (18,2%)*	6 (13,0%)*	0 (0%)*	< 0,02

**Таблиця 11.** Частота розвитку шлуночкових екстрасистол у хворих на СН (n = 86)

Порушення ритму	G/G + G/C (Glu/Glu + Glu/Gln) (n = 57)	C/C (Gln/Gln) (n = 29)
Шлуночкова екстрасистоля	8 (14,0%)	0 (0%)
Без патологічної шлуночкової ектопічної активності	49 (86%)	29
$\chi^2 = 4,488$ ; p < 0,05	—	—

**Таблиця 12.** Частота комбінацій гаплотипів генів  $\beta_1$ - та  $\beta_2$ -AP (n = 195)

Комбінація гаплотипів	Хворі на СН
Ser49Ser/Gly389Gly—Gln27Gln	4 (2,05%)
Ser49Ser/Gly389Gly—Glu27Gln	8 (4,10%)
Інші види комбінацій	183 (93,85%)

Комбінований гаплотип Ser49Ser/Gly389Gly-Gln27Gln зустрічається у 2%, Ser49Ser/Gly389Gly—Glu27Gln — у 4% хворих на СН. Інші види комбінацій — у 93,9%.

Проаналізовано вплив комбінованих гаплотипів генів  $\beta_1$ - та  $\beta_2$ -AP Ser49Ser/Gly389Gly-Gln27Gln та Ser49Ser/Gly389Gly-Glu27Gln на перебіг СН (табл. 13). У групі хворих на СН, що мали дані комбіновані гаплотипи генів  $\beta_1$ - та  $\beta_2$ -AP, частіше розвивається ФП (58,3 проти 19,7%; p < 0,02). Ці хворі частіше госпіталізуються протягом 3 років спостереження у зв'язку з декомпенсацією СН (75,0 проти 27,3%; p < 0,05).

У хворих даної когорти під час ехокардіоскопії визначалися більші розміри порожнин ЛП ( $4,9 \pm 0,2$ ) проти ( $4,1 \pm 0,1$ ) см; p < 0,05). Хворі на СН з комбінованими гаплотипами генів Ser49Ser/Gly389Gly-Gln27Gln та Ser49Ser/Gly389Gly-Glu27Gln мають негативну динаміку

величини фракції викиду ЛШ (у динаміці спостереження на тлі загальноприйнятої терапії захворювання) ( $-5,2 \pm 0,2$ ) проти ( $+3,1 \pm 0,2$ ) %, порівняно з хворими, що мають інші поліморфізми (p < 0,02), приріст розміру лівого передсердя ( $+0,3 \pm 0,05$ ) проти ( $+0,1 \pm 0,02$ ) см; p < 0,05).

Пацієнти з комбінованими гаплотипами генів  $\beta_1$ - та  $\beta_2$ -AP Ser49Ser/Gly389Gly-Gln27Gln та Ser49Ser/Gly389Gly-Glu27Gln мають погану хронотропну відповідь на застосування  $\beta$ -АБ. Так, при середньодобовій дозі біспрололу ( $7,25 \pm 0,05$ ) мг хворі мали зменшення ЧСС тільки на ( $-10,2 \pm 0,2$ ) %, тоді як хворі з іншим поліморфізмом мали достовірне зниження ЧСС до ( $-18,9 \pm 0,5$ ) %, при середньодобовій дозі біспрололу ( $6,5 \pm 0,03$ ) мг.

Згідно з даними літератури, під час визначення толерантності до фізичного навантаження у пацієнтів з ідіопатичною та ішемічною кардіоміопатією було виявлено, що гомозиготні пацієнти за Gly389 мали меншу толерантність, ніж пацієнти з алелем Arg389 [6, 9]. У хворих на СН, які очікували на пересадку серця, за наявності Arg389 спостерігалось більше максимальне споживання кисню під час фізичної активності, ніж у пацієнтів з Gly389. Дослідження за участю 900 пацієнтів із захворюванням коронарних арте-

**Таблиця 13.** Вплив поліморфізму генів  $\beta_1$ - та  $\beta_2$ -AP на перебіг СН

Параметр	Комбіновані гаплотипи $\beta_1$ - та $\beta_2$ -AP		P
	Ser49Ser/Gly389Gly-Gln27Gln та Ser49Ser/Gly389Gly-Glu27Gln (n = 12)	Інші види (n = 183)	
Частота розвитку фібриляції передсердь, %	7 (58,3%)	36 (19,7%)	< 0,02
Частота госпіталізації, %	9 (75,0%)	50 (27,3%)	< 0,05
ФВ ЛШ, %	$37,2 \pm 1,9$	$45,9 \pm 2,5$	> 0,05
ЛП, см	$4,9 \pm 0,2$	$4,1 \pm 0,1$	< 0,05
КДР ЛШ, см	$6,6 \pm 0,3$	$5,8 \pm 0,2$	> 0,05
ФВ ЛШ, %	$-5,2 \pm 0,2^*$	$+3,1 \pm 0,2^*$	< 0,02
ЧСС, %	$-10,2 \pm 0,2$	$-18,9 \pm 0,5^*$	< 0,001
ЛП ЛШ, см	$+0,3 \pm 0,05^*$	$+0,1 \pm 0,02$	< 0,05
Добова доза біспрололу	$7,25 \pm 0,05$	$6,5 \pm 0,03$	< 0,05
Добова доза карведилолу	$39,2 \pm 0,8$	$47,2 \pm 0,5$	< 0,05

рій показало наявність значної кількості аеробної енергії під час фізичних вправ за наявності Gly49 або комбінації гаплотипів Gly49 і Arg389 [6].

У дослідженні К. Leineweber та співавт. (2006) показано, що бісопролол блокував вплив агоніста  $\beta$ -АР добутаміну на гемодинаміку та гуморальний статус (підвищення активності реніну) більшою мірою у носіїв варіанта Arg389, ніж Gly389 [6].

Ген  $\beta_2$ -АР локалізується в локусі 5q31-q32.5-ї хромосоми. Описано 12 замін у кодуючій частині. П'ять із цих поліморфних маркерів призводять до амінокислотних замін: Gly16Arg, Gln27Glu, Val134Met, Thr164Ile і Ser220Cys [5]. Дослідники асоціюють схильність до розвитку СН з поліморфізмом Gln27Glu гена  $\beta_2$ -АР. Однонуклеотидна заміна цитозину (C) на гуанін (G) в положенні 79 гена  $\beta_2$ -АР призводить до заміни глютаміну (Gln) на глютамінову кислоту (Glu) в 27-му кодоні (rs1042714). Алель C називають «диким», оскільки він найчастіше зустрічається в популяції, а алель глютамінової кислоти зустрічається в популяції рідше й тому називається «мутантним». Алельні частоти C та G у загальній популяції складають 0,55/0,45 відповідно. У багатьох роботах було показано, що частота алелів гена  $\beta_2$ -АР варіюється між різними етнічними групами. Так, частота мутантного алеля становить 20% серед афроамериканців, у європейській популяції та азіатів даний показник становить 35 і 7% відповідно [9].

Поліморфізм у 27-му кодоні не змінює здатність до зв'язування катехоламінів з  $\beta_2$ -АР та не впливає на аденілатциклазну активність. Тим не менш, дослідження продемонстрували, що цей поліморфізм тісно пов'язаний з чутливістю даного рецептора до понижуючої регуляції. Дослідження *in vitro* показали, що Glu27 алельний варіант мав високу ступінь десенсибілізації стосовно Arg16 варіанта після введення ізопреналіну. Передбачається, що мутантний алель являє собою більш високу ступінь стійкості до понижуючої регуляції, ніж дикий, оскільки він викликає зміни в конформації  $\beta_2$ -АР. Таким чином, ймовірно, що Glu27 поліморфний варіант відповідає за більший рівень продукції  $\beta_2$ -АР з високим ступенем реагування на адренергічні агоністи [6].

Продемонстровано зв'язок поліморфізму гена  $\beta_2$ -АР та ризику розвитку шлуночкових порушень ритму. Так, у доклінічному дослідженні M.N. Nguyen та співавт. (2015), у моделі трансгенних мишей показано провідну роль поліморфізму гена  $\beta_2$ -АР у виникненні шлуночкової тахікардії [14]. У клінічному дослідженні N. Sotoodehnia та співавт. (2006) продемонстрували, що гаплотип Gly16/Gln27 є фактором ризику розвитку медикаментозно-асоційованої шлуночко-

вої тахікардії типу [17]. У свою чергу, D.E. Lanfear та співавт. (2005) [11] та N. Sotoodehnia та співавт. (2006) [17] показали, що гомозиготний генотип  $\beta_2$ -АР Gln27 пов'язаний з високим ризиком розвитку раптової серцевої смерті та високою частотою аритмогенної смерті серед хворих з гострим коронарним синдромом, що припиняли прийом  $\beta$ -АБ.

У більш пізній роботі H. Zian та співавт. (2008) не змогли довести зв'язок між мутацією генів  $\beta_1$ - та  $\beta_2$ -АР з ризиком розвитку раптової смерті (фібриляції шлуночків) у хворих з гострим коронарним синдромом [19]. Однак С. Ulusan та співавт. (2008) продемонстрували, що хворі з ідіопатичними шлуночковими порушеннями ритму мають високу частоту Glu27Glu генотипу (18,2 проти 10,1%;  $p < 0,01$ ) [18]. Суперечливість отриманих результатів та даних літератури, ймовірно, потребують подальших досліджень за участю великої когорти хворих.

При дослідженні впливу поліморфізму гена  $\beta_2$ -АР на ефективність застосування  $\beta$ -АБ при лікуванні СН було встановлено, що у пацієнтів з гомозиготним Gln27 алелем, які отримували карведилол, поліпшення функції серця було більшим порівняно з хворими, що мають Glu27 алель [10]. Результати були підтверджені Metra та співавт. у пацієнтів із СН, які приймали карведилол більш ніж 1 рік. ФВ ЛПШ була вищою у осіб, які були гомозиготні за Gln27 алелем, ніж у гомозиготних за Glu27 алелем.

Таким чином, аналізуючи отримані дані, можна зазначити, що найбільш несприятливим комбінованим гаплотипом генів  $\beta_1$ - та  $\beta_2$ -АР для перебігу СН є Ser49Ser/Gly389Gly-Gln27Gln та Ser49Ser/Gly389Gly-Glu27Gln. Хворі даних когорт мають негативну динаміку величини ФВ ЛПШ та діаметра ЛПШ упродовж періоду спостереження (подальше погіршення скоротливої здатності міокарда), погану хронотропну відповідь на застосування бісопрололу, велику частоту розвитку ФП, найбільшу частоту госпіталізацій у зв'язку з декомпенсацією захворювання. Поряд з цим, дані хворі є кращими відповідачами щодо застосування карведилолу. Зважаючи на ці обставини, у хворих на СН, що мають комбіновані поліморфізми Ser49Ser/Gly389Gly-Gln27Gln та Ser49Ser/Gly389Gly-Glu27Gln, можливо, при діагностиці даного типу поліморфізмів генів у  $\beta_1$ - та  $\beta_2$ -АР, необхідно якомога раніше (I ФК за NYHA) призначати карведилол, аміодарон (з превентивною антиаритмічною метою) та спіронолактон.

## Висновки

1. Несприятливими комбінаціями гаплотипів генів  $\beta_1$ - та  $\beta_2$ -АР для перебігу серцевої недостат-

ності є Ser49Ser/Gly389Gly/Gln27Gln та Ser49Ser/Gly389Gly/Glu27Gln, що зустрічаються, відповідно, у 2 та 4% хворих.

2. У пацієнтів даних груп спостерігається негативна динаміка фракції викиду лівого шлуночка та діаметра лівого передсердя, висока частота розвитку фібриляції передсердь, найбільша кількість госпіталізацій у зв'язку з декомпенсацією захворювання, низька хронотропна відповідь на застосування бісопрололу.

3. У пацієнтів з комбінованими гаплотипами Ser49Ser/Gly389Gly/Gln27Gln та Ser49Ser/Gly389Gly/Glu27Gln застосування карведилолу є більш ефективним порівняно з бісопрололом для зниження частоти серцевих скорочень.

Перспективи подальших досліджень. Представлені в роботі дані вказують на необхідність продовження вивчення впливу комбінацій поліморфізмів генів  $\beta_1$ - (Ser49/Gly389)/ $\beta_2$ - (Gln27) адренорецепторів на становлення й перебіг серцевої недостатності. Результати досліджень, ймовірно, дозволять стратифікувати групи пацієнтів з несприятливим перебігом захворювання та оптимізувати індивідуальну терапевтичну/інтервенційну програму.

Конфлікту інтересів немає.

Список літератури

## Список літератури

1. 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. тер. журн.— 2015.— № 1.— С. 24—31.
2. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярна біотехнологія. Принципи и применение. Пер. с англ. — М.: Мир, 2002.— 589 с.
3. Пивовар С.М. Залежність перебігу серцевої недостатності від поліморфізму Gln27Glu гена  $\beta_2$ -адренорецепторів // Укр. тер. журн.— 2016.— № 3. — С. 50—55.
4. Робоча група Українського наукового товариства кардіологів. Рекомендації Української асоціації кардіологів з діагностики, лікування та профілактики серцевої недостатності у дорослих / Ред. Л.Г. Воронков. — К.: Четверта хвиля, 2014.— 47 с.
5. Bruck H, Leineweber K, Buscher R. The Gln27Glu  $\beta_2$  adrenoceptor polymorphism slows the onset of desensitization of cardiac functional responses in vivo // Pharmacogenetics.— 2003.— Vol. 13.— P. 59—66. doi.org/10.1016/s0531-5131(02)00535-6.
6. Bruck H., Leineweber K., Temme T. et al. The Arg389Gly beta1-adrenoceptor polymorphism and catecholamine effects on plasma—renin activity // J. Am. Coll. Cardiol.— 2005. — Vol. 6. — P. 2111—2115. doi.org/10.1016/j.jacc.2005.08.041.
7. Cresci S., Kelly R.J., Cappola T.P. et al. Clinical and genetic modifiers of long-term survival in heart failure // J. Am. Coll. Cardiol.— 2009.— Vol. 5 4.— P. 432—444. doi.org/10.1016/j.jacc.2009.05.009.
8. Fiuzat M., Neely M.L., Starr A.Z. et al. Association between adrenergic receptor genotypes and beta-blocker dose in heart failure patients: analysis from the HF-ACTION DNA substudy // Eur. J. Heart Fail.— 2013.— Vol. 15.— P. 258—266. doi.org/10.3410/f.717961685.793464442.
9. Hae-Young Lee, Wook-Jin Chung, Hui-Kyung Jeon. Impact of the  $\beta$ -1 adrenergic receptor polymorphism on tolerability and efficacy of bisoprolol therapy in Korean heart failure patients: association between  $\beta$  adrenergic receptor polymorphism and bisoprolol therapy in heart failure (ABBA) study // Korean J. Intern. Med.— 2016.— Vol. 3 1.— P. 277—287. doi.org/10.3904/kjim-2015.043.
10. Kaye D.M., Smirk B., Williams C. et al. Beta-adrenergic receptor genotype influence the response to carvedilol in patients with congestive heart failure // Pharmacogenetics.— 2003.— Vol. 13.— P. 379—382. doi.org/10.1097/00008571-200307000-00002.
11. Lanfear D.E., Jones P.G., Marsh S. et al. Beta2-adrenergic receptor genotype and survival among patients receiving beta-blocker therapy after an acute coronary syndrome // Jama.— 2005.— Vol. 294 (12).— P. 1526—1533.
12. Leonid Voronkov, Elena Filatova, Alina Lyashenko, Natalya Tkach, Pavel Babych. 36 months survivability and its predictors in patients with chronic heart failure and decreased fraction of left ventricular ejection depending on sex // Eureka: health sciences.— 2017.— N 5.— P. 44—49. doi.org/10.21303/2504-5679.2017.00408.
13. Maqbool A., Hall A.S., Ball S.G. et al. The polymorphisms of beta1-adrenoceptor: identification and rapid screening assay // Lancet.— 1999.— Vol. 13.— P. 353—356. doi.org/10.1016/s0140-6736(99)00549-8.
14. Nguyen M.N., Kiriazis H., Ruggiero D. et al. Spontaneous ventricular tachyarrhythmias in  $\beta$ 2-adrenoceptor transgenic mice in relation to cardiac interstitial fibrosis // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.— 2015.— Vol. 309 (5).— P. H946—57. doi: 10.1152/ajpheart.00405.2015. Epub 2015 Jun 26.
15. Ponikowski P., Voors A.A., Anker S.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.— P. 123 doi:10.1093/eurheartj/ehw128.
16. Rienstra M., Damman K., Mulder B.A. et al. Beta-blockers and outcome in heart failure and atrial fibrillation: a meta-analysis // JACC Heart Fail.— 2013.— Vol. 1.— P. 21—28. doi.org/10.1016/j.jchf.-2012.09.002.
17. Sotoodehnia N., Siscovick D.S., Vatta M. et al. Beta2-adrenergic receptor genetic variants and risk of sudden cardiac death // Circulation.— 2006.— Vol. 113 (15).— P. 1842—1848. doi.org/10.1161/circulationaha.105.582833.
18. Ulucan C., Cetintas V., Tetik A. et al. Beta1 and beta2-adrenergic receptor polymorphisms and idiopathic ventricular arrhythmias // J. Cardiovasc. Electrophysiol.— 2008.— Vol. 19 (10).— P. 1053—1058. doi: 10.1111/j.1540-8167.2008.01202.x. Epub 2008 May 9.
19. Zian H. Tseng, Bradley E. Aouizerat, Ludmila Pawlikowska et al. Common  $\beta$  Adrenergic Receptor Polymorphisms Are Not Associated with Risk of Sudden Cardiac Death in Patients with Coronary Artery Disease // Heart Rhythm.— 2008.— Vol. 5 (6).— P. 814—821. doi: 10.1016/j.hrthm.-2008.03.016.

**С.Н. Пивовар**

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

**Влияние комбинации гаплотипов генов  $\beta_1$ - и  $\beta_2$ -адренорецепторов на течение сердечной недостаточности**

**Цель работы** — определить распространенность и влияние комбинированных гаплотипов генов  $\beta_1$ - и  $\beta_2$ -адренорецепторов на течение сердечной недостаточности (СН).

**Материалы и методы.** В исследование включили 200 больных с СН. Оценивали клиническое течение заболевания. Проводили исследования полиморфизмов Ser49Gly и Gly389Arg гена  $\beta_1$ -адренорецепторов, а также Gln27Glu гена  $\beta_2$ -адренорецепторов. Материалом для молекулярно-генетического исследования служили лейкоциты периферической крови пациентов. Выделение геномной ДНК осуществляли по методу Вольфганга. Для полимеразной цепной реакции использовали праймерные последовательности.

**Результаты и обсуждение.** В ходе исследования установлено, что наиболее неблагоприятными комбинированными гаплотипами генов  $\beta_1$ - и  $\beta_2$ -адренорецепторов для течения СН являются Ser49Ser/Gly389Gly-Gln27Gln и Ser49Ser/Gly389Gly-Glu27Gln. Больные этих когорт имеют негативную динамику величины фракции выброса левого желудочка и диаметра левого предсердия в течение периода наблюдения (дальнейшее ухудшение сократительной способности миокарда), плохой хронотропный ответ на применение бисопролола, большую частоту развития фибрилляции предсердий и госпитализаций в связи с декомпенсацией заболевания. Наряду с этим данные больные являются лучшими респондерами на применение карведилола. С учетом этих обстоятельств, у больных с СН, имеющих комбинированные гаплотипы полиморфизмов Ser49Ser/Gly389Gly-Gln27Gln и Ser49Ser/Gly389Gly-Glu27Gln, возможно, при обнаружении данного типа полиморфизмов генов  $\beta_1$ - и  $\beta_2$ -адренорецепторов необходимо раннее назначение карведилола и/или амиодарона (с превентивной антиаритмической целью).

**Выводы.** Неблагоприятными комбинациями гаплотипов генов  $\beta_1$ - и  $\beta_2$ -адренорецепторов для течения СН являются Ser49Ser/Gly389Gly/Gln27Gln и Ser49Ser/Gly389Gly/Glu27Gln, которые встречаются, соответственно, у 2 и 4% больных. У этих пациентов наблюдается отрицательная динамика фракции выброса левого желудочка и диаметра левого предсердия, высокая частота развития фибрилляции предсердий, большое количество госпитализаций в связи с декомпенсацией заболевания, низкий хронотропный ответ на применение бисопролола. У больных с комбинированными гаплотипами Ser49Ser/Gly389Gly/Gln27Gln и Ser49Ser/Gly389Gly/Glu27Gln применение карведилола является более эффективным по сравнению с бисопрололом для снижения частоты сердечных сокращений.

**Ключевые слова:** сердечная недостаточность, клиническое течение, полиморфизм, ген,  $\beta_1$ -адренорецепторы,  $\beta_2$ -адренорецепторы.

**S.M. Pyvovar**

SI «National Institute of Therapy named after L.T. Mala of the NAMS of Ukraine», Kharkiv

**Influence of combination of genetic haplotype of  $\beta_1$ - and  $\beta_2$ -adrenoreceptors on cardiac disease**

**Objective** — to determine the prevalence and the effects of combined haplotypes of  $\beta_1$ - and  $\beta_2$ -adrenoreceptors genes on the course of heart failure.

**Materials and methods.** 200 patients with heart failure were included to study. The clinical course of the disease was assessed. The polymorphisms Ser49Gly and Gly389Arg of the  $\beta_1$ -adrenoreceptor gene and polymorphism Gln27Glu of the  $\beta_2$ -adrenoreceptor gene were studied. The peripheral blood leukocytes of patients was used as a material for molecular genetic studies. The genomic DNA was isolated by the Wolfgang method. The primer sequences were used for the polymerase chain reaction.

**Results and discussion.** It has been established that the most unfavorable combined haplotypes of  $\beta_1$ - and  $\beta_2$ -adrenoreceptors genes for cardiac insufficiency were Ser49Ser/Gly389Gly-Gln27Gln and Ser49Ser/Gly389Gly-Glu27Gln. Patients of these cohorts had a negative dynamics of the left ventricular ejection fraction and the left atrium diameter during the follow-up period, a poor chronotropic response to bisoprolol use, a higher incidence of atrial fibrillation and hospitalizations due to decompensation of the heart failure. Along with this, these patients are the best responders to the use of carvedilol. Based on the revealed results, the administration of carvedilol and/or amiodarone (with a preventive anti-arrhythmic goal) seems to be rational for the patients with heart failure who have combined haplotypes of the Ser49Ser/Gly389Gly-Gln27Gln and Ser49Ser/Gly389Gly-Glu27Gln polymorphisms, and if this type of  $\beta_1$ - and  $\beta_2$ -adrenoreceptors gene polymorphisms is detected.

**Conclusions.** Based on the results of the study, it has been established that combinations of haplotypes of  $\beta_1$ - and  $\beta_2$ -adrenoreceptors genes Ser49Ser/Gly389Gly/Gln27Gln and Ser49Ser/Gly389Gly/Glu27Gln, occurring respectively in 2 and 4% of patients with heart failure, are unfavorable. These patients have a negative dynamics of the left ventricular ejection fraction and the left atrium diameter, a high incidence of atrial fibrillation and hospitalizations due to decompensation of the disease, as well as low chronotropic response to the use of bisoprolol. The carvedilol is more effective than bisoprolol in reducing heart rate in these patients.

**Key words:** heart failure, clinical course, polymorphism, gene,  $\beta_1$ -adrenoreceptors,  $\beta_2$ -adrenoreceptors.