

**М.И. Воевода, А.А. Кузнецов, И.В. Орлянская, В.Н. Максимов,
И.В. Куликов, Е.В. Шахтшнейдер, Т.Н. Кузнецова, Ю.Л. Казаринова,
А.Г. Ромащенко, С.К. Малютина, Ю.П. Никитин**

АССОЦИАЦИЯ ИНДЕКСОВ ЖЕЛУДОЧКОВОЙ РЕПОЛЯРИЗАЦИИ С ПОЛИМОРФИЗМОМ ГЕНОВ β_1 -АДРЕНОРЕЦЕПТОРА И α_{2B} -АДРЕНОРЕЦЕПТОРА

ГУ НИИ терапии СО РАМН, Новосибирск

Материалами для настоящей работы послужили данные стандартного эпидемиологического исследования репрезентативной выборки (837 человек) из неорганизованной популяции мужчин 25-64 лет, выполненного по проекту ВОЗ «MONICA» в 1994 г. в Новосибирске. Определяли распространенные полиморфизмы генов β_1 -адренорецептора (BADR) и α_{2B} -адренорецептора (AADR), а также частоту сердечных сокращений, продолжительность интервалов QT, амплитуду и положение электрической оси зубца Т на ЭКГ. Амплитуда зубца Т в I стандартном отведении ассоциировалась с 49Ser/49Gly-полиморфизмом гена BADR ($p<0,013$), а частота сердечных сокращений и продолжительность интервала QT — с I/D-полиморфизмом гена AADR ($p<0,002$ и $p<0,047$ соответственно), независимо от влияния возраста, роста, массы тела, уровня артериального давления и липидов крови.

Ключевые слова: общая популяция, полиморфизм генов, желудочковая реполяризация

Введение

Поиск предвестников кардиоваскулярных событий, особенно внезапной сердечной смерти (ВСС), остается актуальной задачей современной кардиологии.

Изучение интегральной генетической основы предрасположенности к ВСС как к мультифакториальному осложнению оказывается намного более сложным, чем определение дефектного гена при моногенном заболевании и требует оптимизации методологических подходов [1].

В рамках данной проблемы достаточно актуальной является задача по выявлению связи между полиморфизмом генов, ассоциированных с сердечно-сосудистыми заболеваниями и индикаторами автономного дисбаланса и электрической нестабильности миокарда, такими, как тахикардия, замедление желудочковой реполяризации и отклонение электрической оси зубца Т на электрокардиограмме.

Материалы и методы

Характеристика обследованных лиц.

Материалами для настоящей работы послужили данные стандартного эпидемиологического исследования репрезентативной выборки (837 человек) из неорганизованной популяции мужчин 25-64 лет, выполненного по проекту ВОЗ «MONICA» в 1994 г. в Новосибирске.

Аппаратура, методы исследования, диагностические критерии. Обследование репре-

зентативной выборки проводили стандартными эпидемиологическими методами [2, 3], включающими опрос, измерение артериального давления (АД), антропометрию, исследование липидного профиля крови, запись электрокардиограммы покоя (ЭКГ).

АД измеряли ртутным сфигмоманометром Riva-Rocci минимум дважды с интервалом 5 минут и рассчитывали среднее значение.

Рост обследованных измеряли в положении стоя, без обуви на стандартном ростометре. Массу тела измеряли без верхней одежды и обуви на рычажных весах. Измерение проводили с точностью до 0,1 кг.

Для биохимического определения концентрации общего холестерина (ОХС), холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС ЛПВП) и триглицеридов (ТГ) у обследуемых лиц натощак брали кровь в положении сидя путем венопункции с помощью вакуумированных пробирок. Анализ проводили на автоматизированном аппарате фирмы Technicon в соответствии с инструкциями и под контролем лаборатории стандартизации липидных исследований при ВОЗ и лаборатории стандартизации популяционных исследований Института профилактики неинфекционных заболеваний.

Запись ЭКГ осуществляли в 12 общепринятых отведениях в положении лежа на спине на 3-канальном электрокардиографе FUKUDA DENSHI со скоростью 25 мм/сек.

Во II стандартном отведении произвели мануальное измерение интервалов QT и RR в соответствии с общепринятыми рекомендациями [4, 5]. Оценку проводили не менее чем в трех сердечных циклах. Началом интервала QT считали самую раннюю точку комплекса QRS (место перехода изоэлектрической линии сегмента PQ(R) в зубец Q(R)), окончанием — максимально позднюю точку зубца T (место его перехода в изоэлектрическую линию TP). Единицами измерения являлись ms. Для расчета скорректированного интервала QTc применяли преобразованную L. Taran и N. Szilagyi (1947) формулу Н. Bazett (1920): $QTc = QT / \sqrt{RR}$ [6, 7]. Значения интервала QTc выражали в $ms^{1/2}$.

В I и III стандартных отведениях измерили амплитуду зубца T с точностью до $\frac{1}{2}$ mm и определили в градусах отклонение электрической оси зубца T относительно оси I отведения [8].

Анализ ЭКГ проводили «слепо» по отношению к остальным данным исследования.

Выделение ДНК из образцов крови и тканей осуществляли методом фенол-хлороформной экстракции [9].

Определяли распространенные полиморфизмы генов β_1 -адренорецептора (BADR) и α_{2B} -адренорецептора (AADR).

Ген BADR тестировался на наличие транзиции A-145G, приводящей к замене Ser-49Glu в аминокислотной последовательности. Детекция проводилась методом аллельспецифической ПЦР с использованием оригинальной методики, при которой в одной реакционной смеси присутствовали сразу две пары праймеров, каждая из которых комплементарна одному из аллельных вариантов, и для каждого из которых синтезируется продукт разной длины.

Генотипирование делеционного полиморфизма гена AADR проводили через амплификацию соответствующего локуса гена и анализ длины фрагментов ДНК ПЦР продуктов.

Анализ данных

Применяли методы описательной статистики и мультивариативную общую линейную (GLM).

Результаты представлены в виде среднего значения (m) с мерой вариации в виде стандартного отклонения (SD).

При интерпретации статистических тестов максимальной вероятностью ошибки (минимальный уровень значимости) считали значение $p < 0,05$.

Анализ данных проводили на персональном компьютере посредством пакета программы SPSS версия 11.0.

Результаты исследования

Характеристика клинических, биохимических

Таблица 1

Клинические, биохимические и электрофизиологические характеристики обследованных лиц ($n=636$)

Параметры	$m \pm SD$
Возраст	$45,8 \pm 10,8$
Рост (см)	$170,9 \pm 7,1$
Вес (кг)	$75,0 \pm 13,3$
САД (мм рт. ст.)	$134,3 \pm 22,7$
ДАД (мм рт. ст.)	$86,4 \pm 12,3$
ОХС (мг/дл)	$205,5 \pm 43,4$
ХС ЛПВП (мг/дл)	$54,4 \pm 16,4$
Триглицериды (мг/дл)	$115,7 \pm 68,0$
ЧСС (уд/мин)	$65,7 \pm 11,4$
QT (ms)	$381,0 \pm 30,3$
QTc ($ms^{1/2}$)	$395,4 \pm 26,3$
TI (mm)	$2,3 \pm 1,1$
ТП (mm)	$0,6 \pm 1,3$
T-axis (°)	$40,5 \pm 27,6$

Примечание: САД — систолическое артериальное давление, ДАД — диастолическое артериальное давление, ОХС — общий холестерин, ХС ЛПВП — холестерин липопротеидов высокой плотности, ЧСС — частота сердечных сокращений, QT — фактический интервал QT, QTc скорректированный интервал QTc, TI — амплитуда зубца T в I отведении, ТП — амплитуда зубца T в III отведении, T-axis отклонение электрической оси зубца T

и электрофизиологических параметров обследованных лиц в целом представлена в таблице 1. Оценивая интересующие нас электрофизиологические показатели — частоту сердечных сокращений, продолжительность интервалов QT и QTc, амплитуду и положение электрической оси зубца T — следует отметить их нормативные величины.

Частоты генотипов и аллелей проанализированных генов были близки к опубликованным для других европеоидных популяций и находились в равновесии Харди-Вайнберга.

Сравнение характера распределения количественных электрофизиологических параметров проводилось в трех группах лиц, определяемых генотипами каждого тестируемого гена. Статистически значимые результаты приведены в таблице 2.

Амплитуда зубца T в I стандартном отведении ассоциировалась с 49Ser/49Gly-полиморфизмом гена BADR ($p < 0,013$), а частота сердечных сокращений и продолжительность интервала QT — с I/D-полиморфизмом гена AADR ($p < 0,002$ и $p < 0,047$ соответственно), независимо от влияния возраста, роста, массы тела, уровня артериального давления и липидов крови.

Обсуждение

В настоящее время, наряду с традиционными факторами кардиоваскулярного риска, для прогнозирования ВСС предлагают использовать такие показатели, как: снижение фракции выброса, гипертрофию и дилатацию левого желудочка; нарушение желудочкового ритма и проводимос-

Таблица 2

Сравнительная характеристика электрофизиологических показателей в группах, определяемых тремя генотипами изучаемых генов

ЭКГ-показатели	Генотип 1		Генотип 2		Генотип 3		p
	n	m \pm SD	n	m \pm SD	n	m \pm SD	
BADR	49Ser/49Ser		49Ser/49Gly		49Gly/49Gly		
TI (mm)	148	2,1 \pm 1,2	39	2,4 \pm 1,1	5	3,5 \pm 1,7	0,013
AADR	I/I		I/D		D/D		
ЧСС (уд/мин)	65	62,3 \pm 9,4	92	66,7 \pm 10,8	21	68,6 \pm 8,0	0,002
QT (ms)	65	392,6 \pm 28,0	92	382,6 \pm 31,7	21	375,2 \pm 27,5	0,047

Примечание: ЧСС — частота сердечных сокращений, QT — фактический интервал QT, T_1 — амплитуда зубца T в I отведении, p — уровень значимости F-критерия при тестировании межгрупповых различий с поправкой на влияние возраста, роста, веса, систолического и диастолического артериального давления, уровней липидов крови в мультивариативной общей линейной модели (GLM)

ти; изменения желудочковой реполяризации; наличие поздних желудочковых потенциалов; тахикардию, снижение вариабельности сердечного ритма и барорефлекторной чувствительности [1].

ВСС может являться следствием врожденного генетического дефекта ключевых белков миокарда. Такие патологические состояния, как синдром удлиненного или укороченного интервала QT, синдром Brugada, гипертрофическая кардиомиопатия, аритмогенная кардиомиопатия правого желудочка, катехоламинэргическая полиморфная желудочковая тахикардия, или дилатационная кардиомиопатия, являются хорошо известными примерами достаточно редких моногенных нарушений, предрасполагающих к ВСС [1]. Выбор генов-кандидатов в нашем исследовании определялся сведениями об ассоциации их полиморфизма с основными сердечно-сосудистыми заболеваниями. А, как известно, ВСС лишь в 5-10% случаев развивается при отсутствии ИБС или застойной сердечной недостаточности. Таким образом, гены, определяющие патологические кардиоваскулярные состояния, наряду с другими внутренними и внешнесредовыми факторами могут быть ответственны и за опасные для жизни электрофизиологические сдвиги.

В настоящее время отсутствуют сведения об ассоциации 49Ser/49Gly-полиморфизма гена BADR с параметрами желудочковой реполяризации. Известно, что данный генный полиморфизм связан с частотой сердечных сокращений в покое [10], реакцией частоты сердечных сокращений и артериального давления в ответ на антигипертензивную терапию адреноблокатором [11]. Выявленная нами связь величины зубца T в I стандартном отведении электрокардиограммы с изученными генотипами гена BADR, вероятно, базируется на различиях симпатического влияния на реполяризацию миокарда. Для подтверждения

данного предположения целесообразно проведение дальнейших исследований, в частности, с использованием методов клинической и инструментальной (изучение вариабельности сердечного ритма) аттестации автономного статуса обследуемых, в том числе во время функциональных и фармакологических тестов.

Доказано, что α_{2B} -адренорецепторы представлены в центральной нервной системе, тромбоцитах и коронарных сосудах [12]. Показано, что I/D-полиморфизм гена AADR ассоциирован с частотой сердечных сокращений в покое у лиц с ожирением [13], в отличие от лиц с идиопатической ортостатической нетолерантностью [14], а также с показателями вариабельности сердечного ритма у молодых японцев (носители Short/Short аллеля демонстрировали большую симпатическую активность в сравнении с носителями Long/Long аллеля) [15]. В нашем исследовании минимальная частота сердечных сокращений отмечалась у лиц с I/I генотипом, максимальная — у лиц с D/D генотипом. Ассоциация полиморфизма гена AADR с продолжительностью фактического интервала QT, скорее всего, была обусловлена его известной зависимостью от частоты сердечных сокращений. Это подтверждается и отсутствием достоверной связи AADR-полиморфизма с продолжительностью скорректированного интервала QTc. Возможное влияние I/D-полиморфизма гена AADR на частоту сердечного ритма, очевидно, реализуется через центральную нервную систему.

Заключение

Проведенное исследование свидетельствует о достоверной связи полиморфизма генов β_1 -адренорецептора и α_{2B} -адренорецептора с электрофизиологическими параметрами миокарда, в том числе характеризующими риск внезапной сердечной смерти, и демонстрирует перспективы дальнейшего изучения молекулярно-генетических основ сердечно-сосудистых заболеваний.

ASSOCIATION OF VENTRICULAR REPOLARIZATION INDEXES WITH POLYMORPHISM OF GENES β_1 -ADRENORE- CEPTORS AND α_{2B} -ADRENORECEPTORS

M.I. Voevoda, A.A. Kuznetsov, I.V. Orlyanskaya,
V.N. Maksimov, I.V. Kulikov, E.V. Shahtshneider,
T.N. Kuznetsova, Ju.L. Kazarinova,
A.G. Romashchenko, S.K. Maljutina, Yu.P. Nikitin

The work deals with the data of the standard epidemiological study of representative sample (837 persons) from general population of men at 25-64 years, executed under the WHO «MONICA» project in 1994 in Novosibirsk. Both widespread genes polymorphisms β_1 -adrenoreceptors (BADR) and α_{2B} -adrenoreceptors (AADR) and heart rate, duration of QT intervals, amplitude and position of an electric axis of T wave on ECG were defined. The amplitude of T wave in I standard lead was associated with polymorphism of BADR gene ($p < 0,013$), and heart rate and duration of interval QT — with I/D-polymorphism of AADR gene ($p < 0,002$ and $p < 0,047$, correspondingly) independently on influence of age, growth, body weight, blood pressure and lipids levels.

Литература

1. Task Force on Sudden Cardiac Death of the European Society of Cardiology / Priori S.G., Aliot E., Blomstrom-Lundqvist C. et al. // European Heart Journal. — 2001. — Vol. 22. — № 16. — P. 1374-1450.
2. Эпидемиологические методы исследования сердечно-сосудистых заболеваний / Роуз Д., Блэкберн Г., Гиллум Р., Принеас Р. // ВОЗ. Серия монографий. — Женева. — 1984.
3. Профилактика ИБС: Методическое указание // ВКНЦ АМН СССР, Институт профилактической кардиологии. — М. — 1983.
4. Ahnve S. Correction of the QT interval for heart rate: review of different formulas and the use of Bazett's formula

in myocardial infarction // Am. Heart J. — 1985. — Vol. 109. — P. 568-574.

5. Surawicz B., Knebel S. Long QT: good, bad or indifferent? // J. Am. Coll. Cardiol. — 1984. — Vol. 4. — P. 398-413.

6. Bazett H.S. An analysis of time relations of electrocardiograms // Heart. — 1920. — Vol. 7. — P. 353-367.

7. Taran L.M., Szilagyi N. The duration of the electrical systole (QT) in acute rheumatic carditis in children // Am. Heart J. — 1947. — Vol. 33. — P. 14-26.

8. T-loop morphology as a marker of cardiac events in the elderly / Kors J.A., de Bruyne M.C., Hoes A.W. et al. // J. Electrocardiol. — 1998. — Vol. 31. — Suppl. — P. 54-59.

9. Смит К., Калко С., Кантор Ч. Пульс-электрофорез и методы работы с большими молекулами ДНК. // Анализ генома / Под редакцией К. Дейвис, пер. с англ. — М.: Мир. — 1990. — С. 58-94.

10. A polymorphism in the beta1 adrenergic receptor is associated with resting heart rate / Ranade K., Jorgenson E., Sheu W.H. et al. // Am. J. Hum. Genet. — 2002. — Vol. 70. — № 4. — P. 935-942.

11. Karlsson J., Lind L., Hallberg P. et al. Beta1-adrenergic receptor gene polymorphisms and response to beta1-adrenergic receptor blockade in patients with essential hypertension // Clin. Cardiol. — 2004. — Vol. 27. — № 6. — P. 347-350.

12. Rockman H.A., Koch W.J., Lefkowitz R.J. Seven-transmembrane-spanning receptors and heart function // Nature. — 2002. — Vol. 415. — № 10. — P. 206-212.

13. The alpha2B adrenergic receptor deletion/insertion polymorphism in morbid obesity / Sykiotis G.P., Polyzogopoulou E., Georgopoulos N.A. et al. // Clin. Auton. Res. — 2003. — Vol. 13. — № 3. — P. 203-207.

14. Functional adrenergic receptor polymorphisms and idiopathic orthostatic intolerance / Winker R., Barth A., Valic E. et al. // Int. Arch. Occup. Environ. Health. — 2005. — Vol. 78. — № 3. — P. 171-177.

15. Alpha(2B)-adrenergic receptor deletion polymorphism associates with autonomic nervous system activity in young healthy Japanese / Suzuki N., Matsunaga T., Nagasumi K. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2003. — Vol. 88. — № 3. — P. 1184-1187.