

УДК 616.12-009.46+616.441-006.5]-092:575.174.015.3:612.017

ISSN 1605-7295 (Print)

ISSN 2522-1175 (Online)

Асоціація поліморфізмів генів системи β -адренорецепції та рівнів інтерлейкінів у хворих на серцеву недостатність та нетоксичний зоб

Мета роботи — вивчити взаємозв'язок поліморфізмів генів системи β -адренорецепції (β -APi) з рівнями інтерлейкінів (ІЛ) у хворих на серцеву недостатність (СН) та нетоксичний зоб (НЗ).

Матеріали та методи. Включено 285 хворих на СН на тлі післяінфарктного кардіосклерозу. Проводилось генотипування за 4 поліморфізмами (Gly389Arg гена β_1 -адренорецепторів (β_1 -AP), Ser49Gly гена β_1 -AP, Gln27Glu гена β_2 -AP та Ser275 гена β_3 -субодиниці G-протеїна) за допомогою полімеразноланцюгової реакції. За допомогою імуноферментного метода дослідження визначали рівні фактора некрозу пухлин- α (ФНП- α), ІЛ-1 β , ІЛ-4, ІЛ-6. Статистичний аналіз проводили за допомогою програм SPSS та SNPStats.

Результати та обговорення. Хворі на СН, порівнюючи з даними у референтній групі, мали вищі рівні ФНП- α (на 38,8%; $p < 0,0001$), ІЛ-6 (на 116,4%; $p < 0,0001$) та нижчу концентрацію ІЛ-4 (на 27,3%; $p < 0,0001$). У хворих на СН С-алель поліморфізма Gly389A гена β_1 -AP асоційований зі зниженням ризику підвищення сироваткового рівня ФНП- α ($\text{ВШ} = 0,48$ (0,25–0,93); $p = 0,028$ — домінантна модель спадковості; $\text{ВШ} = 0,62$ (0,39–0,99); $p = 0,046$ — лог-адитивна модель спадковості). Рівень ІЛ-1 β зростає $> 2,13$ пг/мл у хворих на СН з А-алелем поліморфізма Ser49Gly гена β_1 -AP ($\text{ВШ} = 1,82$ (1,01–3,27); $p = 0,042$ — домінантна модель спадковості). Гетерозиготні (за А/Г — поліморфізмом Ser49Gly гена β_1 -AP) хворі на СН мають зниження ризику зростання рівня ІЛ-6 $> 2,13$ пг/мл ($\text{ВШ} = 0,44$ (0,21–0,93); $p = 0,035$ — надмірно домінантна модель спадковості). Встановлено, що у хворих на СН, котра пліне на тлі НЗ, що мають гетерозиготний генотип поліморфізму Ser49Gly (с,145А $>$ G) гена β_1 -AP, зростає ризик підвищення рівня ФНП- α ($\text{ВШ} = 4,55$ (1,27–16,34); $p = 0,028$). Ризик збільшення рівня ІЛ-6 зростає у гомозиготних (С/С) хворих за поліморфізмом Ser275 гена GN β_3 за наявності НЗ ($\text{ВШ} = 5,86$ (1,81–19,0); $p = 0,003$).

Висновки. Отримані результати дозволяють зробити висновок про те, що рівні інтерлейкінів у крові хворих на серцеву недостатність можуть бути асоційовані зі вродженими генетичними відмінностями в шляхах β -адренорецепції. Ризик підвищення рівнів фактора некрозу пухлин та інтерлейкіну-1 β зростає за наявності нетоксичного зоба та гетерозиготного генотипу поліморфізму Ser49Gly (с,145А $>$ G) гена β_1 -адренорецепторів та гомозиготного (С/С) поліморфізму Ser275 гена GN β_3 відповідно.

Ключові слова:

β_1 -адренорецептори, β_2 -адренорецептори, G-протеїн, серцева недостатність, поліморфізм, ген, інтерлейкіни.



С.М. Пивовар,
Ю.С. Рудик,
Т.В. Лозик,
О.Б. Кротова,
В.Ю. Гальчінська,
Т.М. Бондар

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

КОНТАКТНА ІНФОРМАЦІЯ

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

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

Стаття надійшла до редакції
25 січня 2020 р.

Серцева недостатність (СН) є однією з найпоширеніших причин госпіталізації та смерті хворих [15]. Відомо, що з перебігом СН, її прогресуванням пов'язані супутні захворювання та динаміка цілої низки біомаркерів, гормонів і генетичних чинників [19].

Нетоксичний зоб (НЗ) — це дифузне або вузлове збільшення щито-подібної залози (ЩЗ), що не є наслідком запального або неопластич-

ного процесу та не пов'язане з порушенням функції залози. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), дитячого фонду ООН (ЮНІСЕФ) та Міжнародної ради з контролю за станом йодного дефіциту (ICCIDD), за відсутності йодного дефіциту (ЙД) поширеність НЗ складає менше 5%; при легкому ЙД частота НЗ коливається від 5 до 20%; при помірному ЙД НЗ розвивається у 20–30%; виражений ЙД підвищує частоту НЗ > 30% [12]. Регулярні обстеження з використанням чутливих методів візуалізації дають значно більшу частоту [12]. У трьох проспективних дослідженнях частота виявлення НЗ за допомогою УЗД становила 16–67% [12]. Харків та Харківська область, де проводилося наше дослідження, відносяться до регіонів України із слабким ЙД [18]. На відміну від спорадичного НЗ, спричиненого, здебільшого, спонтанною рецесивною зміною геному, сімейний НЗ представляє автосомно-домінантний тип наслідування [12]. Взаємодія генів, чи генів та різних інших чинників (тобто синергічні ефекти декількох варіантів чи поліморфізмів та негеномних факторів) підвищує складність розуміння патогенезу НЗ та, можливо, пояснює його генетичну гетерогенність [12]. Дефекти в генах, що регулюють фізіологічні процеси в ЩЗ, можуть призводити до розвитку НЗ в умовах граничного чи явного ЙД [12].

Гіперкатехолемія, що притаманна СН, реалізує свої ефекти через систему β -АРі. β -АР — парні трансмембранні протеїни, що розташовані на клітинах всього організму, включаючи кардіоміоцити, гладенькі міоцити судин та позасудинні клітини паренхіматозних органів, зокрема у ЩЗ, печінці, Т-хелперах, моноцитах, нейтрофілах, клітинах паренхіми селезінки [10]. Катехоламіни, через β -АР, регулюють функцію ЩЗ [10] та активність дейодиназ, як у самій залозі, так і печінці й жировій тканині [10]. Завдяки β -АР відбувається зв'язок симпатичного відділу нервової (СВНС) та імунної систем [4, 13].

У літературі мало даних щодо впливу поліморфізмів генів системи β -АРі на рівні ІЛ у хворих на СН та НЗ. Це спонукає до проведення нових досліджень у цьому напрямі.

Мета роботи — вивчити взаємозв'язок поліморфізмів генів системи β -АРі з рівнями інтерлейкінів (ІЛ) у хворих на СН та НЗ.

Матеріали та методи

Усі проведені процедури дослідження за участю пацієнтів були виконані у відповідності з етичними нормами Гельсінської декларації. Хворі були залучені до дослідження на момент госпіталізації до кардіологічного відділення

у зв'язку з декомпенсацією СН. У дослідження залучили 354 хворих на СН європеїдної раси.

Критерії залучення: підписання інформованої згоди, інфаркт міокарда (ІМ) в анамнезі, верифікований діагноз СН — II–IV ФК за NYHA. Критерії виключення: непідписання інформованої згоди, гемодинамічно значущі клапанні вади серця; СН іншої етіології, ніж післяінфарктний кардіосклероз; тиреосупресивне лікування, клінічний гіпотиреоз, тиреотоксикоз, запальні захворювання, інші серйозні патології (пухлина, туберкульоз), що могли б ускладнити лікування чи знизити очікувану тривалість життя.

Контрольну групу склали 38 здорових осіб (без наявності ІХС, СН, тиреоїдної патології). Статистичний аналіз не виявив достовірної різниці за розподілом частот статі та віку між контрольною групою та хворими на СН.

Діагностування СН і лікування хворих виконали відповідно до рекомендацій Європейського товариства кардіологів [15].

Для визначення сироваткового рівня фактора некроза пухлин- α (ФНП- α) (діапазон норми — (0–6,0) пг/мл), ІЛ-1 β (діапазон норми — (0–11) пг/мл), ІЛ-4 (діапазон норми — (0–4) пг/мл), ІЛ-6 (діапазон норми — (0–10) пг/мл) використовували набори реактивів («А-8756», «А-8766», «А-8754» та «А-8768» відповідно) компанії «Вектор Бест». Імуноферментні дослідження виконували із застосуванням напівавтоматичного імуноферментного аналізатора Immunochem-2100 (High technology, США).

Діагноз НЗ встановлювали за допомогою ультразвукового дослідження (УЗД). Під час УЗД оцінювали величину ЩЗ, наявність вогнищевих утворень — їх локалізацію, величину, ехогенність (вузли дифузні: нормо-, гіпер- і гіпогенні; анехогенні кісти), внутрішню структуру (гомо- або гетерогенні); контури (чіткі і гладенькі або розмиті), характер кальцифікатів (мікро- або макро-), васкуляризацію всієї пульпи і вогнищеві зміни (дослідження кольоровим доплером).

У першу групу увійшли 149 (42,1%) пацієнтів, які не мали НЗ; у другу — 218 (57,9%) з НЗ. Хворі обох груп не відрізнялися за віком, рівнем систолічного та діастолічного артеріального тиску, частотою серцевих скорочень, індексом маси тіла на момент включення до дослідження. Хворі на СН, що протікає на тлі НЗ, порівняно з пацієнтами без НЗ, частіше були жіночої статі (відповідно 42,7 проти 16,6%; при $p = 0,001$).

У 276 хворих було визначено поліморфізм генів системи β -адренорецепції (β -АРі). При відборі генних поліморфізмів використовувалися три основні критерії: 1) локалізація в генах системи β -АРі; 2) частота мінорного алеля

Таблиця 1. Характеристика вивчених поліморфізмів

Ген	Поліморфізм	Нуклеотидна заміна	Амінокислотна заміна	5'-3' (F)- и 3'-5' (R)-праймери для полімеразної ланцюгової реакції
β_1 -AP	rs1801253	c.1165G > C	Gly389Arg	F: ccccgacttccgcaaggccttccag R: gactgctctgtcgcgcgcagggc
β_1 -AP	rs1801252	c.145A > G	p.Ser49Gly	F: ctctgttgctgctcccgccagcgaa R: gccccgagccgctgtctcagcagtg
β_2 -AP	rs1042714	c.79C > G	p.Gln27Glu	F: tgcgccggaccacgacgtcacgcag R: aaaggacgaggtgtgggtgggtggg
GN β 3	rs5443	c.825C > T	p.Ser275=	F: agagcatcatctgcggcatcacgtc R: gtggccttctccctcagtgcccgcc

Таблиця 2. Рівновага Харді — Вайнберга (значення p)

Поліморфізм	Контрольна група	Хворі на СН	Загалом
Gly389Arg гена β_1 -AP	0,55	0,22	0,14
Ser49Gly гена β_1 -AP	0,55	0,44	0,17
Gln27Glu гена β_2 -AP	0,43	0,16	0,091
Ser275 гена GN β 3	0,65	1	1

в європейській популяції $\geq 5\%$ за даними HarMap; 3) мала кількість або відсутність досліджень щодо ролі того чи іншого поліморфізму при НЗ щодо синтезу ІЛ. Для відбору поліморфізмів використовувалися бази даних dbSNP, SNPinfo і SNPnexus [6]. Загалом було відібрано 4 поліморфізми у 3 генах. У табл. 1 наведено специфічні праймери для генотипування. Лабораторний персонал не знав, до якої групи належать пацієнти; 10 % усіх зразків ДНК генотипувалися повторно з метою контролю якості.

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

CFX96 Touch (BioRad)». Для алейної дискримінації використовували програмне забезпечення CFX Manager Software.

Усі вивчені нами поліморфізми були в рівновазі Харді—Вайнберга (табл. 2). Це виключало ймовірність помилки генотипування.

Аналіз нормальності розподілу показників виконували за допомогою критерію Шапіро—Уїлка. Дані наведені як медіана (Me) й інтерквантильний діапазон (при розподілі даних, що відрізняється від нормального). Кількісні показники порівнювали за допомогою непараметричного критерію Манна—Уїтні. Різницю серед частот ознак у групах оцінювали за критерієм χ^2 Пірсона. Розраховували відношення шансів (ВШ) з 95 % довірчим інтервалом (ДІ). Різницю між значеннями вважали статистично достовірною за рівня критерію значущості $p < 0,05$. Статистичну обробку проводили за допомогою пакетів програм IBM®SPSS® Statistics 20.0 (free-download full Version). Генетико-епідеміологічний аналіз здійснювався за допомогою онлайн програми SNPStats [17].

Результати та обговорення

Хворі на СН, порівняно з даними у референтній групі, мали вищі рівні ФНП- α (на 38,8%; $p < 0,0001$), ІЛ-6 (на 116,4%; $p < 0,0001$) та нижчу концентрацію ІЛ-4 (на 27,3%; $p < 0,0001$) (табл. 3).

Водночас, хворі на СН та НЗ не відрізнялися за рівнем ІЛ від хворих на СН без НЗ (табл. 4).

З метою визначення асоціацій ІЛ з поліморфізмами генів системи β -APi усі хворі на СН були розподілені на групи залежно від того, чи перевищували концентрації цитокінів медіанні рівні таких у референтній когорті.

Таблиця 3. Сироваткові рівні ІЛ

Параметр, пг/мл	Група		p
	Контрольна (n = 38)	Хворі на СН (n = 354)	
ФНП-α	1,96 [1,57; 2,27]	2,72 [2,10; 3,33]	< 0,0001
ІЛ-1β	2,13 [1,99; 2,43]	2,35 [1,73; 3,13]	> 0,05
ІЛ-4	1,32 [0,99; 1,70]	0,96 [0,78; 1,35]	< 0,0001
ІЛ-6	2,13 [1,40; 6,42]	4,61 [2,81; 8,69]	< 0,0001

Таблиця 4. Сироваткові рівні ІЛ у хворих на СН

Параметр, пг/мл	Група хворих на СН		p
	Без НЗ (n = 149)	Із НЗ (n = 205)	
ФНП-α	2,89 [2,15; 3,48]	2,69 [2,07; 3,17]	0,13
ІЛ-1β	2,42 [1,70; 3,16]	2,31 [1,73; 3,13]	0,94
ІЛ-4	0,96 [0,83; 1,45]	0,96 [0,76; 1,32]	0,27
ІЛ-6	4,24 [2,56; 7,92]	4,82 [3,22; 8,72]	0,10

Аналіз даних за допомогою онлайн програми SNPStats продемонстрував, що у хворих на СН С-алель поліморфізму Gly389A гена β_1 -АР асоційований із зниженням ризику підвищення сироваткового рівня ФНП-α > 1,96 пг/мл (ВШ = 0,48 (0,25–0,93); p = 0,028 – домінантна модель спадковості; ВШ = 0,62 (0,39–0,99); p = 0,046 – лог-адитивна модель спадковості) (табл. 5). Рівень ІЛ-1β зростає > 2,13 пг/мл у хворих на СН із А-алелем поліморфізму Ser49Gly гена β_1 -АР (ВШ = 1,82 (1,01–3,27); p = 0,042 – домінантна модель спадковості). Гетерозиготні (за А/С-поліморфізмом Ser49Gly гена β_1 -АР) хворі на СН мають зниження ризику зростання рівня ІЛ-6 > 2,13 пг/мл (ВШ = 0,44 (0,21–0,93); p = 0,035 – надмірно домінантна модель спадковості). Не було виявлено статистично значущих асоціацій за іншими поліморфізмами та іншими ІЛ.

Раніше нами було продемонстровано, що наявність НЗ у хворих на СН зумовлює менш сприятливий перебіг патології серця, порівняно з пацієнтами без НЗ [1]. Так, серед хворих на СН, що протікає на тлі НЗ, вищий ризик повторної госпіталізації (ВШ = 3,037 (1,85–4,99); p = 0,0001) та комбінованої кінцевої точки (ВШ = 2,53 (1,60–3,995); p = 0,001) [1].

Ми провели аналіз асоціації ризику збільшення рівня ІЛ з генотипом системи β -АРі при НЗ у хворих на СН. Встановлено, що у хворих на СН, що протікає на тлі НЗ, які мають гетерозиготний генотип поліморфізму Ser49Gly (с,145А > G) гена β_1 -АР, зростає ризик підвищення рівня ФНП-α (ВШ = 4,55 (1,27–16,34); p = 0,028) (табл. 6). Ризик збільшення рівня ІЛ-6 зростає у гомозиготних (С/С) хворих за поліморфізмом Ser275 гена $\text{GN}\beta_3$ за наявності НЗ (ВШ = 5,86 (1,81–19,0); p = 0,003) (див. табл. 6). За іншими

поліморфізмами, що вивчалися, статистично значущих асоціацій не виявлено.

ІЛ – група цитокінів, що синтезуються переважно лейкоцитами (з цієї причини було обрано корінь «лейкін»). Вони також виробляються мононуклеарними фагоцитами та іншими клітинами як імунної, так і інших систем. Це клас невеликих пептидів (8–30 кДа), що регулюють міжклітинні та міжсистемні взаємодії в організмі, включаючи стимуляцію чи пригнічення росту клітин, диференціацію, функціональну активність і апоптоз, а також забезпечують узгодженість дії імунної, ендокринної і нервової систем у нормальних умовах та при захворюваннях [3]. ІЛ активні в малих концентраціях. Їх біологічний вплив на клітини реалізується через взаємодію із специфічними рецепторами, локалізованими на клітинній мембрані. Утворення і секреція ІЛ відбувається короткочасно та жорстко регулюється. Спектри біологічної активності ІЛ значною мірою перекриваються: один і той же процес може активуватися у клітині більш ніж одним ІЛ. У багатьох випадках у діях ІЛ спостерігається синергізм. ІЛ – антиген-неспецифічні фактори, тому специфічна діагностика інфекційних, аутоімунних і алергічних захворювань за допомогою визначення рівня ІЛ неможлива. Але визначення їх концентрації у крові дає інформацію про функціональну активність різних типів імунокомпетентних клітин, про тяжкість запального процесу, його перехід на системний рівень і прогноз захворювання.

ФНП (англ. tumor necrosis factor – TNF) – білок, що кодується однойменним геном, розташованим у людей на короткому плечі 6-ї хромосоми [11]. Довжина поліпептидного ланцюга білка становить 233 амінокислоти [11]. ФНП за функціями належить до клітинних

Таблиця 5. Асоціація рівнів ІЛ та поліморфізми генів системи β-APi у хворих на СН

Модель спадковості	Генотип	Рівень ФНП-α, пг/мл		ВШ (95% ДІ)	p	ІКА	РХВ
		≤1,96 (n = 46)	> 1,96 (n = 225)				
Поліморфізм Gly389A гена β ₂ -AP (n = 271)							
Кодомінантна	G/G	19 (41,3%)	129 (57,3%)	1,00	0,09	246,1	0,22
	G/C	21 (45,6%)	78 (34,7%)	0,48 (0,24—0,98)			
	C/C	6 (13%)	18 (8%)	0,47 (0,16—1,36)			
Домінантна	G/G	19 (41,3%)	129 (57,3%)	1,00	0,028	244,2	
	G/C—C/C	27 (58,7%)	96 (42,7%)	0,48 (0,25—0,93)			
Рецесивна	G/G-G/C	40 (87%)	207 (92%)	1,00	0,4	248,3	
	C/C	6 (13%)	18 (8%)	0,64 (0,23—1,76)			
Надмірно-домінантна	G/G—C/C	25 (54,4%)	147 (65,3%)	1,00	0,081	246,0	
	G/C	21 (45,6%)	78 (34,7%)	0,55 (0,29—1,07)			
Лог-адитивна	—	—	—	0,62 (0,39—0,99)	0,046	245,0	
Модель спадковості	Генотип	Рівень ІЛ-1β, пг/мл		ВШ (95% ДІ)	p	ІКА	РХВ
		≤2,13 (n = 108)	> 2,13 (n = 168)				
Поліморфізм Ser49Gly гена β ₂ -AP (n = 276)							
Кодомінантна	G/G	87 (80,6%)	118 (70,2%)	1,00	0,13	369	0,44
	A/G	20 (18,5%)	48 (28,6%)	1,81 (0,99—3,29)			
	A/A	1 (0,9%)	2 (1,2%)	2,08 (0,18—24,70)			
Домінантна	G/G	87 (80,6%)	118 (70,2%)	1,00	0,042	367	
	A/G—A/A	21 (19,4%)	50 (29,8%)	1,82 (1,01—3,27)			
Рецесивна	G/G—A/G	107 (99,1%)	166 (98,8%)	1,00	0,63	370,9	
	A/A	1 (0,9%)	2 (1,2%)	1,81 (0,15—21,37)			
Надмірно-домінантна	G/G—A/A	88 (81,5%)	120 (71,4%)	1,00	0,052	367,3	
	A/G	20 (18,5%)	48 (28,6%)	1,79 (0,98—3,25)			
Лог-адитивна	—	—	—	1,74 (1,00—3,03)	0,044	367,1	
Модель спадковості	Генотип	Рівень ІЛ-6, пг/мл		ВШ (95% ДІ)	p	ІКА	РХВ
		≤ 2,13 (n = 36)	> 2,13 (n = 240)				
Поліморфізм Ser49Gly гена β ₂ -AP (n = 276)							
Кодомінантна	G/G	22 (61,1%)	183 (76,2%)	1,00	0,067	215,3	0,44
	A/G	14 (38,9%)	54 (22,5%)	0,45 (0,21—0,95)			
	A/A	0 (0%)	3 (1,2%)	NA (0,00—NA)			
Домінантна	G/G	22 (61,1%)	183 (76,2%)	1,00	0,062	215,2	
	A/G—A/A	14 (38,9%)	57 (23,8%)	0,49 (0,23—1,02)			
Рецесивна	G/G—A/G	36 (100%)	237 (98,8%)	1,00	0,27	217,5	
	A/A	0 (0%)	3 (1,2%)	NA (0,00—NA)			
Надмірно-домінантна	G/G—A/A	22 (61,1%)	186 (77,5%)	1,00	0,035	214,3	
	A/G	14 (38,9%)	54 (22,5%)	0,44 (0,21—0,93)			
Лог-адитивна	—	—	—	0,58 (0,30—1,15)	0,13	216,4	

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

сигнальних білків (цитокінів, фосфопротеїнів), бере участь у процесах системного запалення, є одним із цитокінів, що формують реакцію гострої фази. ФНП виробляється переважно активованими макрофагами, меншою мірою його синтезують інші типи клітин (Т-хелпери, НК-клітини, нейтрофіли, тучні клітини, еозинофіли). Основна роль ФНП полягає в регуляції взаємодії імунних клітин, запускає процес апоптозу, спричинює кахексію, запалення та пригнічення росту пухлини, реплікацію вірусів, регулює продукцію прозапальних ІЛ1 та ІЛ6 [11].

ІЛ-1 (англ. interleukin-1, IL-1) — цитокін, медіатор запалення та імунітету, що синтезується багатьма клітинами організму, насамперед акти-

вованими макрофагами, кератиноцитами, В-лімфоцитами та фібробластами. ІЛ-1 був відкритий одним з перших інтерлейкінів у 1943—1948 рр. при дослідженні цитокінів з клітин перитонеального ексудату, виділених у кролика. Контролює активність лейкоцитів, збільшує кількість клітин кісткового мозку. Пізніше було виявлено, що існує два подібних інтерлейкіни-1: α та β [3].

ІЛ-4 (молекулярна маса 19 кД) продукується активованими Т-хелперами 2 типу (Th2), тучними клітинами й еозинофілами. Регулює ріст і диференціювання В-лімфоцитів, а також процеси біосинтезу та секреції антитіл [8]. Даний ІЛ впливає на продукцію і секрецію IgE і IgG1 В-лімфоцитами, на перемикання С-генів Th2,

Таблиця 6. Асоціація частоти підвищення ІЛ з поліморфізмами генів β -APi у хворих на СН та НЗ

Поліморфізм	Група хворих на СН	Рівень ФНП-α, пг/мл		ВШ
		≤ 1,96 (n = 46)	> 1,96 (n = 230)	
ФНП-а та поліморфізм Ser49Gly (с, 145A > G) гена β ₁ -AP (n = 276)				
G/G	Без НЗ	11	76	1,00
	З НЗ	18	100	0.71 (0.31—1.62)
G/A	Без НЗ	12	20	1,00
	З НЗ	4	32	4,55 (1,27—16,34)
A/A	Без НЗ	1	2	1,00
	З НЗ	0	0	—
p = 0,028				
Поліморфізм	Група хворих на СН	Рівень ІЛ-6, пг/мл		ВШ
		≤ 2,13 (n = 46)	> 2,13 (n = 230)	
ІЛ-6 та поліморфізм Ser275 гена GNβ ₃ (n = 276)				
C/C	Без НЗ	14	47	1,00
	Із НЗ	4	78	5,86 (1,81—19,01)
C/T	Без НЗ	4	42	1,00
	Із НЗ	10	54	0,50 (0,14—1,72)
T/T	Без НЗ	2	12	1,00
	Із НЗ	2	6	0,42 (0,05—3,89)
p = 0,003				

накопичення еозинофілів, експресію на В-лімфоцитах і тучних клітинах низькоафінних рецепторів до IgE CD23. Він перешкоджає диференціюванню Th1 і продукції ними інших ІЛ. ІЛ-4 пригнічує прозапальну активність макрофагів і секрецію ними ІЛ-1, ФПН та ІЛ-6, тобто проявляє кінцевий протизапальний ефект [8].

ІЛ-6 (англ. interleukin-6, IL-6) — синтезується активованими макрофагами та Т-лімфоцитами. Може діяти як прозапальний, так і антизапальний цитокін, стимулює імунну відповідь [8].

Уперше про збільшення рівня ФНП- α у сироватці крові хворих на тяжку СН було повідомлено В. Levine і співавт. у 1990 р. Було продемонстровано, що рівень ФНП- α у сироватці крові хворих на СН III—IV ФК значно вище, ніж у здорових людей та асоціюється із зниженням скоротливої здатності міокарда. Результати досліджень довели його значення у розвитку синдрому кардіальної кахексії [8]. Пізніше було також продемонстровано збільшення вмісту даного та інших прозапальних цитокінів у плазмі крові хворих на СН, зокрема ІЛ-6 [9], ІЛ І β [3]. Відзначено також підвищення рівня ФНП- α у крові хворих на асимптомну дисфункцію лівого шлуночка. Цитокіни можуть сприяти формуванню синдрому СН так само, як і дисфункція лівого шлуночка здатна індукувати зростання рівня ІЛ плазми [11].

Нам удалося встановити, що хворі на СН, порівняно з контрольною групою, мали вищі рівні ФНП- α (на 38,8%; $p < 0,0001$), ІЛ-6 (на 116,4%; $p < 0,0001$) та нижчу концентрацію ІЛ-4 (на 27,3%; $p < 0,0001$).

Під час гострих інфекцій, гіпоксії чи ушкодження тканин, моноцити є основними продуцентами ІЛ та ФНП, які, в свою чергу, активують інші ланки імунної системи [5]. З іншого боку, підвищена активність симпатoadреналової системи, викликана тими ж чинниками, являє собою важливий регуляторний механізм, що оптимізує вроджені запальні реакції [4]. Було показано, що норадреналін має вплив на вроджений імунітет *in vivo*, включаючи дію хемотаксичного агента для моноцитів, а також впливає на продукцію ФНП- α [4]. Таким же чином тривала або невідповідна стимуляція симпатичної нервової системи, як відповідь на високу активність імунної системи, може призвести до надмірного запалення, або неконтрольованої інфекції, що спричиняє патологічні ефекти, включаючи токсичний шок і ушкодження тканин [4].

Відповіді на норадреналін і адреналін опосередковуються активацією трьох незалежних сімейств АР, що включають у кожній групі три характерних підтипи (α_{1a} , α_{1b} , α_{1d} , α_{2a} , α_{2b} , α_{2c} , β_1 , β_2 , β_3). Доведено наявність експресії β -АР у препараті *ex vivo* людських мононуклеарних лейкоцитів [13]. Було також продемонстровано експресію підтипів β_1 - і β_2 -АР на людських моноцитах, які при одночасній стимуляції катехоламінами викликали збільшення продукції ІЛ-1 β [13]. Використовуючи селективні антагоністи β_1 -АР, було доведено прозапальну відповідь моноцитів, що функціонально корелювала з генерацією цАМФ [13].

β_1 - та β_2 -АР реалізують стимуляцію катехоламінів на внутрішньоклітинні процеси через

цитозольний G-протеїн — гетеротример, що складається з трьох субодиниць: α , β та γ . β_1 -АР тільки активують G-протеїн (Gs).

На число й активність β -АР та субодиниць G-протеїну впливають типи поліморфізмів генів, що їх кодують. Це, в свою чергу, може впливати на рівень ІЛ, що продукуються імунокомпетентними клітинами.

Під час даного дослідження нами було встановлено, що у хворих на СН С-алель поліморфізму Gly389A гена β_1 -АР асоційований із зниженням ризику підвищення сироваткового рівня ФНП- $\alpha > 1,96$ пг/мл (ВШ = 0,48 (0,25–0,93); $p = 0,028$ — домінантна модель спадковості; ВШ = 0,62 (0,39–0,99); $p = 0,046$ — логадитивна модель спадковості). Рівень ІЛ-1 β зростає $> 2,13$ пг/мл у хворих на СН з А-алелем поліморфізму Ser49Gly гена β_1 -АР (ВШ = 1,82 (1,01–3,27); $p = 0,042$ — домінантна модель спадковості). Гетерозиготні (за А/С-поліморфізмом Ser49Gly гена β_1 -АР) хворі на СН мають зниження ризику зростання рівня ІЛ-6 $> 2,13$ пг/мл (ВШ = 0,44 (0,21–0,93); $p = 0,035$ — надмірно-домінантна модель спадковості).

Відомо, що β -АР розташовані на мембранах як ендотеліоцитів судин ЦЗ, так і клітин паренхіми залози. Є дані, що активність дейодиназ (як периферичних, так і у ЦЗ) може залежати й від поліморфізмів β -АР [2, 7]. У свою чергу, слід зазначити, що тиреоцити можуть продукувати локально ІЛ. У генезі розвитку НЗ відіграють роль як генетичні, так і запальні чинники.

Нами було встановлено, що у хворих на СН та НЗ, що мають гетерозиготний генотип поліморфізму Ser49Gly (с,145А > G) гена β_1 -АР зростає ризик підвищення рівня ФНП- α (ВШ = 4,55 (1,27–16,34); $p = 0,028$). Ризик збільшення рівня ІЛ-6 зростає у гомозиготних (С/С) хворих за поліморфізмом Ser275 гена $GN\beta_3$ за наявності НЗ (ВШ = 5,86 (1,81–19,0); $p = 0,003$).

Ген β_1 -АР локалізований на хромосомі 10q24-26. Відомо про два клінічно-значущих поліморфізми, пов'язаних з одонуклеотидними замінами: в позиції 49 (позаклітинний N-термінальний сайт), асоційований із заміною амінокислоти серину (Ser) на гліцин (Gly) та в позиції 389

(внутрішньоклітинний карбокситермінальний сайт) — із заміною аргініну (Arg) на гліцин. Дослідження *in vitro* показали, що гомозиготи за Ser (генотип AA) мають нижчу функціональну активність аденілатциклази в порівнянні з носіями алеля G, але більш чутливі до стимуляції адреналіном [14]. В іншому дослідженні не було виявлено відмінностей базальної активності аденілатциклази, але було підтверджено високу чутливість до тривалого впливу агоністів. Можливо припустити, що алель G робить β_1 -АР менш чутливим до адреналової стимуляції [14].

Активна форма G-протеїну (Gs), зв'язуючись з алостеричним центром аденілатциклази, активує утворення цАМФ. цАМФ служить регулятором активності багатьох ферментів. Найбільш частий С825Т поліморфізм гена β_3 -субодиниці ($GN\beta_3$) [16]. Незважаючи на те, що Т-поліморфізм є функціонально неактивним, він призводить до урізаного (альтернативного) сплайсингу екзону 9 ($GN\beta_3$) і, врешті-решт, до «урізаної» β_3 -субодиниці G-протеїну. Така змінена субодиниця підвищує α -адренергічну активацію та пов'язана з підвищенням активності сигнальних шляхів [16].

Висновки

1. Отримані результати дозволяють зробити висновок про те, що рівні інтерлейкінів у крові хворих на серцеву недостатність можуть бути асоційовані із вродженими генетичними відмінностями в шляхах β -адренорецепції.

2. Ризик підвищення рівнів фактора некрозу пухлин та ІЛ-1 β зростає за наявності нетоксичного зоба у хворих на серцеву недостатність і гетерозиготного генотипу поліморфізму Ser49Gly (с,145А > G) гена β_1 -адренорецепторів та гомозиготного (С/С) поліморфізму Ser275 гена $GN\beta_3$ відповідно.

Перспективи подальших досліджень. Оскільки дослідження обмежене невеликою кількістю пацієнтів, це зменшує силу статистичних даних. Результати подальших досліджень, імовірно, дозволять більш точно стратифікувати хворих на серцеву недостатність з високим прозапальним потенціалом.

Конфлікт інтересів немає. Участь авторів: концепція та дизайн дослідження, збір, інтерпретація даних, написання статті — С.М. Пивовар; критичний перегляд статті та її остаточне схвалення — В.Ю. Гальчінська, Ю.С. Рудик; проведення лабораторних досліджень, аналіз даних — Т.М. Бондар; критичний аналіз статті — О.Б. Кротова; корекція тексту статті — Т.В. Лозик.

Список літератури

1. Пивовар С.М. Особливості перебігу серцевої недостатності у хворих з нетоксичним зобом: клінічні аспекти // Укр.тер. журн.— 2019.— Vol. 2.— P. 33—39. doi: 10.30978/UTJ2019-2-33.
2. Bianco A.C., Kim B.W. Deiodinases: implications of the local control of thyroid hormone action // J. Clin. Invest.— 2006.— Vol. 116 (10).— P. 2571—2579.
3. Bujak M. The role of IL-1 in the pathogenesis of heart disease // Arch. Immunol. Ther. Exp.— 2009.— Vol. 57 (3).— P. 165—176.
4. Calcagni E., Elenkov I. Stress system activity, innate and T helper cytokines, and susceptibility to immunerelated diseases // Ann. N.Y. Acad. Sci.— 2006.— Vol. 1069.— P. 62—76. doi: 10.1196/annals.1351.006.
5. Cavaillon J.M., Adib-Conquy M. Monocytes/macrophages and sepsis // Crit. Care Med.— 2005.— Vol. 33.— P. 506—509. doi: 10.1097/01.ccm.0000185502.21012.37.
6. Dayem Ullah A.Z., Lemoine N.R., Chelala C. SNPnexus: a web server for functional annotation of novel and publicly known genetic variants (2012 update) // Nucleic. Acids. Res.— 2012.— Vol. 40.— P. 65—70. doi: 10.1093/nar/gks364.
7. Fernando A.C., Seara I.G., Araujo G.E. et al. β -Blocker inhibits myocardial infarction-induced brown adipose tissue D2 activation and maintains a low thyroid hormone state in rats // bioRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/353052>.
8. Hedayat M., Mahmoudi M.J., Rose N.R. et al. Proinflammatory cytokines in heart failure: double-edged swords // Heart Fail. Rev.— 2010.— Vol. 15 (6).— P. 543—562. doi: 10.1007/s10741-010-9168-4.
9. Iida Y., Yamada S., Nishida O., Nakamura T. Body mass index is negatively correlated with respiratory muscle weakness and interleukin-6 production after coronary artery bypass grafting // J. Crit. Care.— 2010.— Vol. 25 (1).— P. 172—178. doi: 10.1016/j.jcrc.2009.05.012.
10. Kim C.B., Reed L. Thyroid Hormone and Adrenergic Signaling // Arq. Bras. Endocrinol. Metab.— 2004.— Vol. 48 (1).— P. 171—175.
11. Kosmala W. Plasma levels of TNF- α , IL-6, and IL-10 and their relationship with left ventricular diastolic function in patients with stable angina pectoris and preserved left ventricular systolic performance // Coron. Artery Dis.— 2008.— Vol. 19(6).— P. 375—382. doi: 10.1097/MCA.0b013e3282fc617c.
12. Krohn K., Führer D., Bayer Y. et al. Molecular Pathogenesis of Euthyroid and Toxic Multinodular Goiter // Endocr Rev. June.— 2005.— Vol. 26 (4).— P. 504—524. doi: 10.1210er.20040005.
13. Laurel A. Grisantic, Janel Evanson, Erica Marchus, et al. Pro-Inflammatory Responses in Human Monocytes are β 1-Adrenergic Receptor Subtype Dependent // Mol. Immunol.— 2010.— Vol. 47(6).— P. 1244—1254. doi: 10.1016/j.molimm.2009.12.013.
14. Levin M., Marullo S., Muntaner O. et al. The myocardium protective Gly 49 variant of the β 1 adrenergic receptor exhibits of constitutive activity and increased desensitization and down regulation // J. Biol. Chemistry.— 2002.— Vol. 277.— P. 30429—30435.
15. Ponikowski P., Voors A.A., Anker S.D. et al. 2016 ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: 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. J. Heart. Fail.— 2016. doi: 10.1002/ehf.592.
16. Sheppard R., Hsieh E., Damp J. et al. Investigators GNB3 C825T Polymorphism and Myocardial Recovery in Peripartum Cardiomyopathy Results of the Multicenter Investigations of Pregnancy-Associated Cardiomyopathy Study // Circ. Heart Fail.— 2016.— Vol. 9.— P. e002683 doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.115.002683.
17. Sole X., Guino E., Valls J., Iniesta R., Moreno V. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies // Bioinformatics.— 2006.— Vol. 22.— P. 1928—1929. doi: 10.1093/bioinformatics/btl268.
18. Turchina S.I., Nacheveta T.A. Distireoz kak faktor riska formirovaniya vtorichnoy amenorei u devushek, prozhivayushchikh v usloviyakh slabogo yodo-defitsita // Health of Woman.— 2017.— Vol. 8 (124).— P. 16—20; doi 10.15574 HW.2017.124.16.
19. Yuzhalin A.E., Kutikhin A.G. Integrative systems of genomic risk markers for cancer and other diseases: future of predictive medicine // Cancer. Manag. Res.— 2012.— Vol. 4.— P. 131—135. doi: 10.2147/CMAR.S30855.

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

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

Асоціація поліморфізмів генів системи β -адренорецепції і рівней інтерлейкінів у больних з серцевою недостатністю і нетоксическим зобом

Цель работы — изучить взаимосвязь полиморфизмов генов системы β -адренорецепции (β -АРи) с уровнями интерлейкинов (ИЛ) у больнх с сердечной недостаточностью (СН) и нетоксическим зобом (НЗ).

Материалы и методы. У 285 больнх СН на фоне постинфарктного кардиосклероза проводилось генотипирование по 4 полиморфизмам (Gly389Arg гена β_1 -адренорецепторов (β_1 -АР), Ser49Gly гена β_1 -АР, Gln27Glu гена β_2 -АР и Ser275 гена β_3 -субъединицы G-протеина (GN β_3)) с помощью полимеразной цепной реакции. Иммуноферментным методом исследования определяли уровни фактора некроза опухолей- α (ФНО- α), ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-6. Статистический анализ проводили с помощью программ SPSS и SNPStats.

Результаты и обсуждение. Больные СН, по сравнению с данными в контрольной группе, имели более высокие уровни ФНО- α (на 38,8%; $p < 0,0001$), ИЛ-6 (на 116,4%; $p < 0,0001$) и низкую концентрацию ИЛ-4 (на 27,3%; $p < 0,0001$). У больнх с СН С-аллель полиморфизма Gly389A гена β_1 -АР ассоциирована со снижением риска повышения уровня ФНО- α $> 1,96$ пг/мл (ОШ = 0,48 (0,25—0,93); $p = 0,028$ — доминантная модель наследственности; ОШ = 0,62 (0,39—0,99); $p = 0,046$ — лог-аддитивная модель наследственности). Уровень ИЛ-1 β возрастает $> 2,13$ пг/мл у больнх с СН с А-аллелью полиморфизма Ser49Gly гена β_1 -АР (ОШ = 1,82 (1,01—3,27); $p = 0,042$ — доминантная модель наследственности). Гетерозиготные (по А/С-полиморфизмом Ser49Gly гена β_1 -АР) больные с СН имеют снижение риска роста уровня ИЛ-6 $> 2,13$ пг/мл (ОШ = 0,44 (0,21—0,93); $p = 0,035$ — избыточно-доминантная модель наследственности). У больнх с СН, которая протекает на фоне НЗ, имеющих гетерозиготный генотип полиморфизма Ser49Gly (с, 145А $>$ G) гена β_1 -АР, существует риск повышения уровня ФНО- α (ОШ = 4,55 (1,27—16,34); $p = 0,028$). Риск увеличения уровня ИЛ-6 возрастает у гомозиготных (С/С) больнх с полиморфизмом Ser275 гена GN β_3 при наличии НЗ (ОШ = 5,86 (1,81—19,0); $p = 0,003$).

Выводы. Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что уровни интерлейкинов в крови больнх с сердечной недостаточностью могут быть ассоциированы с врожденными генетическими различиями в путях

β -адренорецепції. Риск підвищення рівней фактора некроза опухолей і інтерлейкіна-1 β зростає при наявності нетоксического зоба і гетерозиготного генотипа поліморфізму Ser49Gly (c, 145A > G) гена β_1 -адренорецепторів і гомозиготного (C/C) поліморфізму Ser275 гена $GN\beta_3$ відповідно.

Ключевые слова: β_1 -адренорецепторы, β_2 -адренорецепторы, G-протеин, сердечная недостаточность, полиморфизм, ген, интерлейкины.

S.M. Pyvovar, Yu.S. Rudyk, T.V. Lozyk, O.B. Krotova, V.Yu. Galchinskaya, T.M. Bondar

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

The association of β -adrenoreception system genes polymorphisms and interleukins levels in patients with heart failure and non-toxic goiter

Objective — to study the relationship between the β -adrenoreception system (β -ARs) genes polymorphisms with interleukins (IL) levels in patients with heart failure (HF) and non-toxic goiter (NG).

Materials and methods. The study involved 285 patients with heart failure against the background of post-infarction cardiosclerosis. The genotyping for them was performed using 4 polymorphisms (Gly389Arg and Ser49Gly of the β_1 -adrenoreceptors gene, Gln27Glu of the β_2 -adrenoreceptors gene and Ser275 of the β_3 -subunit of G-protein gene) using the polymerase chain reaction.

Results and discussion. In patients with heart failure, the C-allele of Gly389A polymorphism of the β_1 -AR gene is associated with a reduced risk of increased TNF- α levels > 1.96 pg/ml (Odds ratio (OR) = 0.48 (0.25–0.93), p = 0.028 — dominant model of inheritance; OR = 0.62 (0.39–0.99), p = 0.046 — log-additive model of inheritance). The level of IL 1 β increases > 2.13 pg/ml in patients with heart failure and with the A-allele of the Ser49Gly polymorphism of the β_1 -AR gene (OR = 1.82 (1.01–3.27), p = 0.042 — the dominant model of inheritance). Heterozygous (by A/G-Ser49Gly polymorphism of the β_1 -AR gene) patients with heart failure have a reduced risk of an increase in IL 6 level > 2.13 pg/ml (OR = 0.44 (0.21–0.93), p = 0.035 — over-dominant model of inheritance). In patients with heart failure against the NG background with a heterozygous genotype of Ser49Gly (c, 145A > G) polymorphism of the β_1 -AR gene, there is a risk of an increase in the TNF- α levels (OR = 4.55 (1.27–16.34), p = 0.028). The risk of an increase in the IL 6 levels is higher in homozygous (C/C) patients of the Ser275 polymorphism of the $GN\beta_3$ gene in the presence of NG (OR = 5.86 (1.81–19.0), p = 0.003).

Conclusions. The obtained results allowed to conclude that interleukins levels in the blood of patients with heart failure may be associated with congenital genetic differences in the pathways of β -adrenoreception. The risk of increased levels of TNF- α and interleukin 1 β increases with nontoxic goiter and heterozygous genotype of Ser49Gly (c, 145A > G) polymorphism of β_1 -adrenergic receptor gene and homozygous (C/C) Ser275 polymorphism of $GN\beta_3$ gene, respectively.

Key words: β_1 -adrenergic receptors, β_2 -adrenergic receptors, G-protein, heart failure, polymorphism, gene, interleukins.