

ПОЛИМОРФНЫЙ ЛОКУС ARG16GLY БЕТА 2-АДРЕНОРЕЦЕПТОРА (ADRB2) У ПАЦИЕНТОВ С ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ

Сенникова А. В., Михайлова Е. И., Липская Е. А., Калинин А. Л.

*Учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет»,
г. Гомель, Республика Беларусь*

Реферат. В исследовании «случай-контроль» приняли участие 109 пациентов с циррозом печени и 143 здоровых добровольца. Целью исследования явилось изучение ассоциации полиморфного локуса rs1042713 (Arg16Gly) гена ADRB2 с развитием цирроза печени. Установлено, что у пациентов с циррозом печени и здоровых добровольцев наиболее распространенными были генотип Arg16Gly (44,04 и 45,45 %, $p = 0,82$ соответственно) и аллель Gly (61,47 и 66,78 %, $p = 0,22$ соответственно). Более редкими оказались аллель Arg (38,53 и в 33,22 %, $p = 0,22$ соответственно) и генотипы Gly16Gly (39,45 и 44,06 %, $p = 0,46$ соответственно) и Arg16Arg (16,51 и 10,49 %, $p = 0,16$ соответственно). В отличие от пациентов с циррозом печени у здоровых добровольцев между мужчинами и женщинами имели место достоверные статистические различия по частоте встречаемости генотипа Arg16Gly, который был выявлен в 38,4 и 56,1 % соответственно ($p = 0,04$). Полиморфизм Arg16Gly гена ADRB2 не выявил ассоциации с риском развития цирроза печени по генотипам Arg16Gly (OR = 0,94; 95% ДИ: 0,26–0,57), Gly16Gly (OR = 0,83; 95% ДИ: 0,49–1,37) и Arg16Arg (OR = 1,69; 95% ДИ: 0,81–3,5).

Ключевые слова: полиморфизм, бета 2-адренорецептор, ген ADRB2, цирроз печени.

Введение. Генетические особенности пациента являются важными факторами, которые определяют эффективность и безопасность фармакотерапии. Около половины, а, по некоторым данным, и до 90 % всех «неблагоприятных» ответов на лекарственные средства (отсутствие ожидаемого эффекта и/или нежелательные лекарственные реакции) основаны на генетической предрасположенности [1].

Исследование генетических особенностей человека является базисом развития фармакогенетики и дает основания для формирования персонализированной медицины.

Знание генетических особенностей человека позволяет прогнозировать фармакологический ответ на действие лекарственного средства, и, как результат, делать фармакотерапию более эффективной и безопасной. Выявление у пациента полиморфных вариантов гена, приводящих к модификациям фармакокинетических и/или фармакодинамических показателей лекарственного препарата, требует коррекции его дозы, частоты приема и способа введения, а в некоторых случаях даже замены на другой препарат. Применение такого подхода помогает врачу определить для каждого конкретного пациента бо-

лее эффективную и безопасную терапию, т. е. делать ее индивидуализированной или персонализированной [2, 3].

Одним из генов, представляющих особый интерес для фармакогенетических исследований, является ген β_2 -адренергического рецептора (ADRB2). Он является важной частью симпатической нервной системы и принимает участие в различных физиологических и патофизиологических реакциях. В гене ADRB2, кодирующем β_2 -АР, обнаружено более 250 полиморфизмов. Наиболее детально изучены три варианта полиморфных локусов — rs1042713 (Arg16Gly), rs1042714 (Gln27Glu) и rs1800888 (Thr164Ile). Полиморфизмы Arg16Gly и Gln27Glu обуславливают функцию β_2 -адренорецепторов и провоцируют увеличение риска развития бронхиальной астмы, сахарного диабета и артериальной гипертензии. Полиморфные варианты гена ADRB2 способствуют формированию специфического индивидуального ответа на лечение бронхиальной астмы, ряда сердечно-сосудистых заболеваний и т. д. [4].

В настоящее время наиболее изученной является ассоциация полиморфных вариантов гена ADRB2 с развитием бронхиальной астмы. Этому вопросу посвящено большое количество работ, но однозначного ответа до сих пор не получено. Некоторые авторы считают, что с тяжелой формой бронхиальной астмы ассоциирован генотип rs1042713*A/A гена ADRB2. Другие авторы настаивают, что повышенный риск развития бронхиальной астмы принадлежит генотипу rs1042714*C/C гена ADRB2. Третьи авторы указывают на слабую ассоциацию полиморфных вариантов гена ADRB2 с развитием бронхиальной астмы и считают, что ген ADRB2 не является главным геном предрасположенности к бронхиальной астме [4].

Не меньший интерес исследователей привлекает изучение ассоциации полиморфных вариантов гена ADRB2 с развитием сердечно-сосудистой патологии. Так, генотипу Gln27Glu приписывают связь с повышением уровня систолического артериального давления. Одни авторы отрицают наличие таковой между полиморфизмами гена ADRB2 Arg16Gly и Gln27Glu и развитием хронической сердечной недостаточности [5], другие авторы, наоборот, связывают аллели

Arg16 и Gln27 гена ADRB2 с риском ее появления [6].

Несколько реже встречаются исследования ассоциации полиморфных вариантов гена ADRB2 с развитием цирроза печени. В большой степени они посвящены изучению связи полиморфизмов этого гена с ответом на лечение портальной гипертензии при циррозе печени β_2 -адреноблокаторами. Так, предполагается, что 85 % пациентов показывают снижение силы ответа β_2 -адренорецепторов на адренергическую стимуляцию, что, по мнению авторов, может влиять на способность пациента реагировать на проводимую фармакотерапию [7].

Таким образом, несмотря на большое количество исследований, посвященных генетике β_2 -адренорецептора, накопленные данные или противоречивы, или недостаточны, что делает проведение подобных исследований по-прежнему актуальным.

Цель работы — изучение наличия ассоциации полиморфного локуса rs1042713 (Arg16Gly) гена β_2 -адренорецептора с риском развития цирроза печени.

Материалы и методы. Проведено исследование «случай-контроль», группу исследования в котором составили 109 пациентов с циррозом печени, из них: 50 (45,87 %) — мужчины и 59 (54,13 %) — женщины. В группу контроля вошли 143 здоровых добровольца, среди которых было 86 (60,14 %) мужчин и 57 (39,86 %) женщин. Средний возраст участников исследования составил $43,0 \pm 13,17$ лет.

Все здоровые добровольцы не имели клинических симптомов каких-либо заболеваний, не подвергались хирургическим вмешательствам и не принимали лекарственных средств в течение не менее трех месяцев до включения в исследование. Все обследованные пациенты являлись европеоидами и не состояли в родстве.

Всем пациентам проводилось стандартное обследование с целью подтверждения диагноза цирроза печени и выявления сопутствующей патологии. Стандартное обследование включало в себя применение клинических, лабораторных и инструментальных методов.

Исследование одобрено этическим комитетом УО «Гомельский государственный медицинский университет». Все пациенты до на-

чала проведения процедур исследования подписали письменное информированное добровольное согласие на участие в исследовании.

Исследование полиморфного локуса rs1042713 (Arg16Gly) гена ADRB2 выполнялось с помощью метода полимеразной цепной реакции путем анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов ампликонов (ПДРФ-анализ). Выделение ДНК из образцов цельной крови проводилось с помощью коммерческого набора «АртРНК» ООО «АртБиоТех» (Беларусь) согласно инструкции производителя. Для проведения ПЦР, электрофоретической детекции и рестрикционного анализа использовались реагенты фирмы ThermoScientific (США). Детекцию рестриктов выполнялся при помощи электрофоретической разгонки в 2,5%-м агароз-

ном геле. Для визуализации полученных результатов использовалась видеосистема GelDocXR фирмы Bio-Rad (США).

Аmplификация выполнялась с применением амплификатора Palm. Cycler фирмы Corbett Research (Австралия). Программа амплификации включала денатурацию при температуре (Т) 94 °С — 30 с (1 цикл); элонгацию при температуре 94 °С — 30 с, при температуре 63 °С — 30 с, при температуре 72 °С — 20 с (35 циклов); финальную элонгацию при температуре 72 °С — 4 мин (1 цикл). Ожидаемая зона после амплификации полиморфизма Arg16Gly — 201 п.н. представлена на рисунке 1.

Структура праймеров производства ОДО «Праймтех» (Беларусь) приведена в таблице 1.

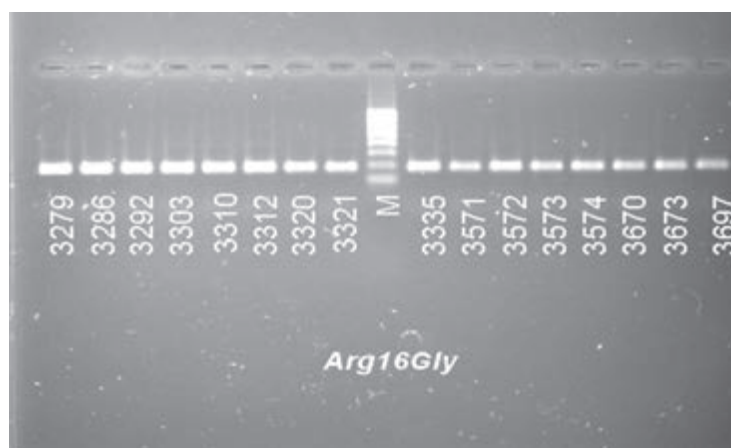


Рисунок 1 — Электрофоретическая детекция фрагмента гена β 2-адренорецептора, содержащего полиморфизм Arg16Gly

Таблица 1 — Нуклеотидная последовательность праймеров

Название	Последовательность	Ожидаемая длина зоны, пар нуклеотидов (п.н.)
Arg16Gly прямой	СТТСТГСТГГСАСГСААТ	201
Arg16Gly обратный	ССАГТГААГТГАТГААГТАГТТГГ	

Статистическая и графическая обработка полученных данных проведена с использованием пакета программ Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Нормальность распределения определена с помощью критерия согласия Колмогорова — Смирнова. Количественные показатели представлены в виде среднего значения (M) и стандартного отклонения (SD). Качественные показатели показаны в виде абсолютных и относитель-

ных частот (в процентах). Сравнение качественных признаков (выраженных в частотах) в двух независимых группах выполнено с помощью критерия χ^2 и точного критерия Фишера. Оба показателя были двусторонними. Для количественной оценки вероятности исхода использовалось отношение шансов двух вариантов событий (OR), ДИ для OR . Распределение частот генотипов исследуемого полиморфного локуса проверяли на

соответствие равновесию Харди – Вайнберга с помощью критерия χ^2 . Различия считались достоверными на 5%-м уровне значимости, или при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. При изучении генотипов полиморфного локуса rs1042713 (Arg16Gly) у пациентов с циррозом печени обнаружено, что наиболее распространенным был генотип AG (Arg16Gly). Он

имел место у 48 человек (44,04 %). Вторым по частоте встречаемости оказался генотип GG (Gly16Gly). Он был выявлен у 43 человек (39,45 %). Наиболее редким стал генотип AA (Arg16Arg). Он был обнаружен у 18 человек (16,51 %).

Распределение генотипов полиморфного локуса Arg16Gly гена ADRB2 у пациентов с циррозом печени представлено на рисунке 2.



Рисунок 2 — Частота встречаемости генотипов полиморфного локуса Arg16Gly гена ADRB2 у пациентов с циррозом печени

Анализ полученных данных показал, что распределение полиморфных вариантов изучаемого гена в данной выборке не отклонялось от равновесия Харди – Вайнберга ($\chi^2 = 0,54$, $p = 0,76$).

У здоровых добровольцев наиболее распространенным также стал генотип AG (Arg16Gly). Он имел место у 65 человек

(45,45 %). Вторым по частоте встречаемости оказался генотип GG (Gly16Gly). Он был выявлен у 63 человек (44,06 %). Наиболее редким был генотип AA (Arg16Arg). Он был обнаружен у 15 человек (10,49 %).

Распределение генотипов полиморфного локуса Arg16Gly гена ADRB2 у здоровых добровольцев представлено на рисунке 3.

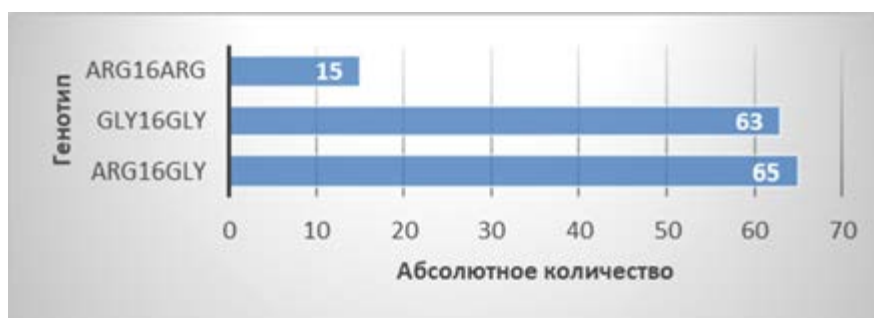


Рисунок 3 — Частота встречаемости генотипов полиморфного локуса Arg16Gly гена ADRB2 у здоровых добровольцев

Анализ полученных данных показал, что распределение полиморфных вариантов изучаемого гена в данной выборке не отклонялось от равновесия Харди – Вайнберга ($\chi^2 = 0,09$, $p = 0,96$).

При сравнении распределения генотипов полиморфного локуса Arg16Gly гена ADRB2 у здоровых добровольцев и пациентов с циррозом печени установлено, что до-

стоверных статистических различий по частоте встречаемости генотипов AG (Arg16Gly), GG (Gly16Gly), AA (Arg16Arg) между группами не обнаружено ($\chi^2 = 0,05$, $p = 0,82$; $\chi^2 = 0,54$, $p = 0,46$ и $\chi^2 = 1,97$, $p = 0,16$ соответственно).

При проведении анализа частоты аллелей полиморфного локуса Arg16Gly гена ADRB2 у пациентов с циррозом печени уста-

новлено, что наиболее распространенным оказался аллель Gly (G). Он имел место в 134 случаях (61,47 %). Минорный Arg (A) аллель обнаружен в 84 случаях (38,53 %).

Частота встречаемости аллелей полиморфизма Arg16Gly гена ADRB2 у пациентов с циррозом печени представлена на рисунке 4.

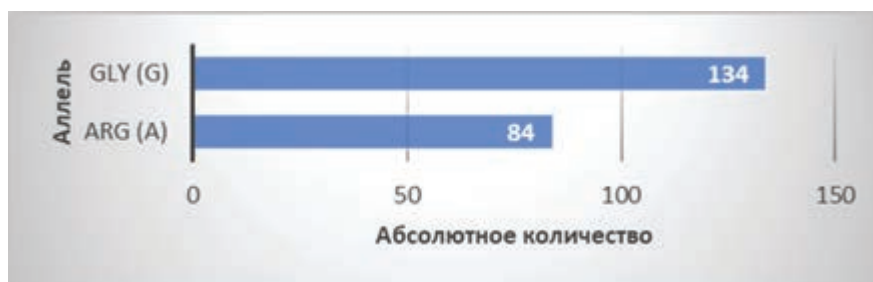


Рисунок 4 — Частота встречаемости аллелей полиморфного локуса Arg16Gly гена ADRB2 у пациентов с циррозом печени



Рисунок 5 — Частота встречаемости аллелей полиморфного локуса Arg16Gly гена ADRB2 у здоровых добровольцев

При сравнении частот встречаемости аллелей полиморфного локуса Arg16Gly гена ADRB2 у пациентов с циррозом печени и здоровых добровольцев оказалось, что достоверные статистические различия отсутствовали ($\chi^2 = 1,53$; $p = 0,22$).

При изучении распределения генотипов полиморфного локуса Arg16Gly гена ADRB2 в зависимости от пола оказалось, что досто-

У здоровых добровольцев наиболее распространенным также стал аллель Gly (G). Он имел место в 191 случае (66,78 %). Минорный Arg (A) аллель обнаружен в 95 случаях (33,22 %).

Частота встречаемости аллелей полиморфизма Arg16Gly гена ADRB2 у здоровых добровольцев представлена на рисунке 5.

верных статистических различий по частоте встречаемости генотипов AG (Arg16Gly), GG (Gly16Gly), AA (Arg16Arg) между мужчинами и женщинами с циррозом печени не обнаружено ($p = 0,44$; $p = 0,78$ и $p = 0,16$ соответственно).

Частота встречаемости генотипов полиморфного локуса Arg16Gly гена ADRB2 в зависимости от пола у пациентов с циррозом печени представлена в таблице 2.

Таблица 2 — Частота встречаемости генотипов полиморфного локуса Arg16Gly гена ADRB2 в зависимости от пола у пациентов с циррозом печени

Генотип	Распределение по полу				Статистические различия (p)
	Женщины		Мужчины		
	n	%	n	%	
AG (Arg16Gly)	28	47,46	20	40,00	0,44
GG (Gly16Gly)	24	40,68	19	38,00	0,78
AA (Arg16Arg)	7	11,86	11	22,00	0,16

Примечание — n — абсолютное количество пациентов.

В отличие от пациентов с циррозом печени у здоровых добровольцев между мужчинами и женщинами имели место достоверные статистические различия по частоте встречаемости генотипа Arg16Gly, который был выявлен в 38,4 и 56,1 % соответственно ($p = 0,04$). Достоверные статистические различия отсутствовали по генотипам GG (Gly16Gly) и AA (Arg16Arg) ($p = 0,78$ и $p = 0,16$ соответственно).

Частота встречаемости генотипов полиморфного локуса Arg16Gly гена ADRB2 в зависимости от пола у здоровых добровольцев представлена в таблице 3.

Таблица 3 — Частота встречаемости генотипов полиморфного локуса Arg16Gly гена ADRB2 в зависимости от пола у здоровых добровольцев

Генотип	Распределение по полу				Статистические различия (p)
	Женщины		Мужчины		
	n	%	n	%	
AG (Arg16Gly)	32	56,14	33	38,37	0,04
GG (Gly16Gly)	22	38,60	41	47,67	0,31
AA (Arg16Arg)	3	5,26	12	13,96	0,16

Примечание — n — абсолютное количество пациентов.

При сравнении распределения генотипов полиморфного локуса Arg16Gly гена ADRB2 у пациентов с циррозом печени и здоровых добровольцев в зависимости от пола оказалось, что достоверные статистические различия отсутствовали между женщинами и мужчинами по частоте встречаемости генотипа AG (Arg16Gly) ($\chi^2 = 0,88$; $p = 0,35$ и $\chi^2 = 0,04$; $p = 0,85$ соответственно), GG (Gly16Gly) ($\chi^2 = 0,05$; $p = 0,81$ и $\chi^2 = 1,20$; $p = 0,273$ соответственно) и AA (Arg16Arg) ($\chi^2 = 1,60$; $p = 0,20$ и $\chi^2 = 1,46$; $p = 0,23$ соответственно).

При изучении возможности использования полиморфного локуса Arg16Gly гена ADRB2 в качестве маркера цирроза печени установлено отсутствие его связи с риском развития данного заболевания по генотипам Arg16Gly (OR = 0,94; 95% ДИ: 0,26–0,57), Gly16Gly (OR = 0,83; 95% ДИ: 0,49–1,37) и Arg16Arg (OR = 1,69; 95% ДИ: 0,81–3,5).

Ассоциация полиморфного локуса Arg16Gly гена ADRB2 с риском развития цирроза представлена в таблице 4.

Таблица 4 — Ассоциация полиморфного локуса Arg16Gly гена ADRB2 с риском развития цирроза

Показатель	Генотип					
	AG (Arg16Gly)		GG (Gly16Gly)		AA (Arg16Arg)	
	Группа		Группа		Группа	
	Цирроз печени ($n = 48$)	Здоровые добровольцы ($n = 65$)	Цирроз печени ($n = 43$)	Здоровые добровольцы ($n = 63$)	Цирроз печени ($n = 18$)	Здоровые добровольцы ($n = 15$)
OR, 95% ДИ	0,94 (0,26–0,57)		0,83 (0,49–1,37)		1,69 (0,81–3,52)	

Заключение. На основании проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Среди генотипов полиморфного локуса rs1042713 (Arg16Gly) у пациентов с циррозом печени и здоровых добровольцев наиболее распространенным оказался генотип Arg16Gly (44,04 и 45,45 %, $p = 0,82$ соответственно). Несколько реже встречались генотипы Gly16Gly (39,45 и 44,06 %, $p = 0,46$

соответственно) и Arg16Arg (16,51 и 10,49 %, $p = 0,16$ соответственно).

2. У пациентов с циррозом печени и здоровых добровольцев в полиморфном локусе rs1042713 наиболее распространенным оказался аллель Gly (61,47 и 66,78 %, $p = 0,22$ соответственно). Минорный аллель Arg был обнаружен в тех же группах в 38,53 и в 33,22 % случаев соответственно ($p = 0,22$).

3. В отличие от пациентов с циррозом печени у здоровых добровольцев между мужчинами и женщинами имели место достоверные статистические различия по частоте встречаемости генотипа Arg16Gly, который был выявлен в 38,4 и 56,1 % соответственно ($p = 0,04$).

4. Полиморфный локус Arg16Gly гена ADRB2 не связан с риском развития цирроза печени по генотипам Arg16Gly (OR = 0,94; 95% ДИ: 0,26–0,57), Gly16Gly (OR = 0,83; 95% ДИ: 0,49–1,37) и Arg16Arg (OR = 1,69; 95% ДИ: 0,81–3,5).

Список цитированных источников

1. Клиническая фармакогенетика и практическое здравоохранение: перспективы интеграции [Электронный ресурс] — 2006. — Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/klinicheskaya-farmakogenetika-i-prakticheskoe-zdravoohranenie-perspektivy-integratsii>. — Дата доступа: 03.05.2023.
2. Дедов, И. И. Персонализированная медицина / И. И. Дедов // Вестник РАМН. — 2019. — Т. 74, № 1. — С. 61–70.
3. Долгополов, И. С. Эволюция персонализированной медицины: обзор литературы / И. С. Долгополов, М. Ю. Рыков // Исследования и практика в медицине. — 2022 — Т. 9, № 3. — С. 117–128.
4. Роль полиморфных вариантов гена β_2 -адренергического рецептора (ADRB2) в развитии и течении бронхиальной астмы / О. Н. Савельева [и др.] // Медицинский вестник Башкортостана. — 2019. — Т. 13, № 5. — С. 69–73.
5. Сокова, Е. А. Фармакогенетическое тестирование по полиморфному маркеру Arg16Gly гена ADRB2 и полиморфному маркеру C3435T гена MDR1 у русских беременных с хронической артериальной гипертензией / Е. А. Сокова, В. Г. Кукес // Биомедицина. — 2014. — № 4. — С. 89–98.
6. Булашова, О. В. Роль генетических факторов в формировании хронической сердечной недостаточности / О. В. Булашова, Е. В. Хазова, В. Н. Ослопов // Казанский медицинский журнал. — 2013. — Т. 94, № 3. — С. 362–366.
7. Roca, R. β_2 -adrenergic receptor functionality and genotype in two different models of chronic inflammatory disease: Liver cirrhosis and osteoarthritis / R. Roca, P. Esteban, A. Conte // Molecular medicine reports. — 2018. — Vol. 17. — P. 7987–7995.

The Arg16Gly polymorphic locus of the beta 2-adrenoceptor (ADRB2) in patients with cirrhosis

Sennikava A. V., Mikhailova E. I., Lipskaya E. A., Kalinin A. L.

Gomel State Medical University, Gomel, Republic of Belarus

The case-control study involved 109 patients with cirrhosis and 143 healthy volunteers. The aim of the study was to investigate the association of the polymorphic locus rs1042713 of the ADRB2 gene with the development of liver cirrhosis. The Arg16Gly genotype (44.04 and 45.45 %, $p = 0.82$, respectively) and the Gly allele (61.47 and 66.78 %, $p = 0.22$, respectively) were found to be most common in patients with cirrhosis and healthy volunteers. The Arg allele (38.53 and in 33.22 %, $p = 0.22$ respectively) and the Gly16Gly (39.45 and 44.06 %, $p = 0.46$ respectively) and Arg16Arg (16.51 and 10.49 %, $p = 0.16$ respectively) genotypes were rarer. In contrast to patients with cirrhosis in healthy volunteers, there were significant statistical differences in the frequency of the Arg16Gly genotype between males and females, which was detected in 38.4 and 56.1 %, respectively ($p = 0.04$). The Arg16Gly polymorphism of the ADRB2 gene showed no association with risk of cirrhosis by Arg16Gly (OR = 0.94; CI: 0.26–0.57), Gly16Gly (OR = 0.83; CI: 0.49–1.37) and Arg16Arg (OR = 1.69; CI: 0.81–3.5) genotypes.

Keywords: polymorphism, beta 2-adrenoceptor, ADRB2 gene, liver cirrhosis.

Поступила 20.06.2023