

## АССОЦИАЦИЯ TRP64ARG ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА В<sub>3</sub>-АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ С АТЕРОГЕННОЙ ДИСЛИПИДЕМИЕЙ В ГРУППЕ ЭТНИЧЕСКИХ КЫРГЫЗОВ

Керимкулова А.С.<sup>1</sup>, Лунегова О.С.<sup>2</sup>, Неронова К.В.<sup>1</sup>,  
Бекташева Э.Э.<sup>1</sup>, Миррахимов Э.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Кыргызская государственная медицинская академия им. И.К. Ахунбаева,

<sup>2</sup> Национальный Центр кардиологии и терапии им. М.М. Миррахимова  
Бишкек, Кыргызская Республика

**Резюме:** изучение ассоциации Trp64Arg полиморфизма гена  $\beta$  3-адренорецепторов (ADRB3) с компонентами липидного профиля в группе этнических кыргызов.

**Ключевые слова:**  $\beta_3$ -адренорецепторы, Trp64Arg полиморфизм, липидный спектр, атерогенная дислипидемия.

## КЫРГЫЗ ЭТНИКАЛЫК ТОПТОГУ В<sub>3</sub>- АДРЕНОРЕЦЕПТОРЛОР ГЕНИНИН TRP64ARG ПОЛИМОРФИЗИМИ АТЕРОГЕНДҮҮ ДИСЛИПИДЕМИЯ МЕНЕН АССОЦИАЦИЯСЫ

Керимкулова А.С.<sup>1</sup>, Лунегова О.С.<sup>2</sup>, Неронова К.В.<sup>1</sup>,  
Бекташева Э.Э.<sup>1</sup>, Миррахимов Э.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> И.К. Ахунбаев атындагы Кыргыз мамлекеттик медициналык академиясы

<sup>2</sup> Академик Миррахимов М.М атындагы улуттук кардиология жана терапия борбору  
Бишкек, Кыргыз Республикасы

**Корутунду:** этникалык кыргыздардын тобунда ADRB3 генинин Arg64 аллел ЖТЛП-ХС төмөнкү деңгээли менен байланыш.

**Негизги сөздөр:**  $\beta_3$ -адренорецепторлор, Trp64Arg полиморфизми, липиддик спектри, атерогендүү дислипидемиясы.

## ASSOCIATION OF TRP64AARG POLYMORPHISM OF V<sub>3</sub> ADRENOCEPTORS WITH LIPID PROFILE IN GROUP OF ETHNIC KYRGYZES

Kerimkulova A.S.<sup>1</sup>, Lunegova O.S.<sup>2</sup>, Neronova K.V.<sup>1</sup>,  
Bektsheva E.E.<sup>1</sup>, Mirrakhimov E.M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> I.K. Akhunbaev Kyrgyz State Medical Academy

<sup>2</sup> National Centre of cardiology and internal medicine named after M. Mirrakhimov  
Bishkek, Kyrgyz Republic

**Resume:** in group of ethnic Kyrgyz the Arg64 allele of ADRB3 gene was associated with decreased HDL-cholesterol.

**Key words:**  $\beta$ -adrenoceptors, Trp64Arg polymorphism, lipid profile, atherogenic dyslipidemia.

**Введение:** В развитии атерогенной дислипидемии, наряду с другими сердечно-сосудистыми факторами риска, важную роль играют не только внешние, но и генетические причины [1]. Наступление эпохи современных технологий молекулярной биологии ускорило поиск специфических генов, контролирующих развитие кардиометаболических факторов риска. Так, некоторые гены кандидаты ассоциируются с потреблением энергии, распределением в организме жировых депозитов и метаболизмом

липидов [2]. Среди них заслуживает внимания ген  $\beta_3$ -адренорецепторов (ADRB3), играющий важную роль в регуляции липолиза и теплообразования в жировой ткани [3,4].

В организме человека ADRB3, сконцентрированные в основном в висцеральной жировой ткани [5], регулируют липолиз и доставку свободных жирных кислот в портальную вену [6]. В отличие от  $\beta_1$ - и  $\beta_2$ -адренорецепторов ADRB3 относительно резистентны к десенсibilизации и способны поддерживать активацию в условиях

постоянной симпатической стимуляции [7]. Мутация в 64 кодоне гена ADRB3 приводит к замене триптофана на аргинин (Trp64Arg) [8]. Указанный однонуклеотидный полиморфизм ассоциировался с ожирением и инсулинорезистентностью [9].

Исследования Trp64Arg полиморфизма гена ADRB3 в различных этнических группах выявили его ассоциацию со сниженным потреблением энергии среди индейцев Пима [9], распространенностью ожирения у финнов [8], увеличением массы тела у французов [10], а также повышением индекса массы тела (ИМТ) у японцев [11,12]. Тем не менее, результаты указанных исследований противоречивы. Так, некоторые исследования не выявили ассоциацию Trp64Arg полиморфизма гена ADRB3 с ожирением в других популяциях, включая чилийцев [13], мексиканцев [14], китайцев [15] и финнов [16]. Подобные неоднозначные результаты, вероятно, могут быть обусловлены этническими, расовыми, популяционными различиями, а также содержанием жировой ткани в организме, особенностями образа жизни, алиментарными факторами в исследованных выборках. В кыргызской популяции Trp64Arg полиморфизм гена ADRB3 ранее не изучался.

Целью настоящей работы было изучение взаимосвязи Trp64Arg полиморфизма гена ADRB3 с дислипидемией в группе этнических кыргызов.

**Материал и методы:** Обследованы этнические кыргызы старше 30 лет, жители Кыргызской Республики, не являющиеся родственниками и откликнувшиеся на объявление об исследовании. Обследование пациентов проводилось с мая по июль 2008г. Протокол исследования получил одобрение местного этического комитета Национального Центра кардиологии и терапии им. М.М. Миррахимова. Все пациенты дали письменное информированное согласие на участие в исследовании. Критериями исключения были состояния, способные повлиять на липидный профиль: проведенные менее чем за 1 месяц до исследования оперативные вмешательства, наличие тяжелых хронических заболеваний почек и печени, дисфункция щитовидной железы, хронический алкоголизм, прием кортикостероидных, гиполипидемических препаратов, инсулинотерапия при сахарном диабете (СД), а также беременность и/или лактация.

Всем пациентам проводилось общеклиническое обследование, включавшее сбор жалоб, анамнеза, антропометрию, измерение артериального давления (АД). Оценивались следующие антропометрические показатели: рост, вес, подсчитывался ИМТ (отношение веса (кг) к росту (м)<sup>2</sup>). АД измерялось стандартным сфигмоманометром в положении обследуемого сидя, после 10-минутного отдыха.

Забор крови осуществлялся утром натощак из локтевой вены, после 12ч периода голода. Лабораторные исследования включали анализ липидного спектра (общий холестерин (ОХ), триглицериды (ТГ), липопротеины высокой (ЛВП-ХС) и низкой (ЛНП-ХС) плотности) и генотипирование по Trp64Arg полиморфизму гена ADRB3. Липидный спектр определялся на биохимическом автоанализаторе "Sinchron CX4-DELTA" фирмы "Beckman", США. ЛНП-ХС высчитывали по формуле Friedwald W. [17].

ДНК выделялась из клеток крови с использованием набора для экстракции геномной ДНК Nucleon BACC3 (Amersham Pharmacia Biotech, Швеция). Генотипирование T191C (Trp64Arg) полиморфизма гена ADRB3 проводилось методом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ). Полимеразная цепная реакция (ПЦР) проводилась на амплификаторе "Hybaid" (HBPX 220, Великобритания) с использованием специфических праймеров (F – CGCCAATACCGCCAACAC и R – 3 CCACCAGGAGTCCCATCACC) с последующей рестрикцией полученных ПЦР продуктов ферментом BstOI (Promega, США). В результате рестрикции образовывались фрагменты: T191T 161 п.н.; T191C 161+99+62 п.н.; C191C 99+62 п.н., которые разделялись с помощью электрофореза в 3% агарозном геле. Сканирование геля и анализ полученных результатов осуществлялся на имидж-денситометре Fluor-S Multimager ("Bio-Rad", США).

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью программы STATISTICA 6,0. Различия между переменными с нормальным распределением устанавливались при помощи *t* критерия Стьюдента. Переменные с непараметрическим распределением сравнивались с помощью *U*-критерия Манна-Уитни. Наличие ассоциации между категориальными переменными оценивалось при помощи  $\chi^2$  теста. Данные представлены как среднее  $\pm$  стандартное отклонение для

переменных с нормальными распределением и медиана (25%;75%) – для переменных с непараметрическим распределением. Статистически значимыми считались различия при  $p < 0,05$ .

**Результаты:** В исследование включили 213 пациентов (145 мужчин, 68 женщин) от 30 до 73 ( $50,7 \pm 7,6$ ) лет. Была изучена встречаемость различных генотипов и аллелей Trp64Arg полиморфизма гена ADRB3. Частота аллели Arg64 составила в среднем 0,239 (или 0,269 и 0,176 у мужчин и женщин соответственно). Генотипы гена ADRB3 распределились следующим образом: 54,5% ( $n=116$ ), 43,2% ( $n=92$ ) и 2,3% ( $n=5$ ) для гомозигот Trp64, гетерозигот Trp64Arg и гомозигот Arg64 соответственно. Распределение генотипов было согласно равновесию Харди-Вайнберга.

Общая характеристика включенных в исследование пациентов представлена в табл.1. В зависимости от выявленного генотипа все обследованные пациенты были распределены на 2 группы (табл.1): 1). - с генотипом Trp64Trp ( $n=116$ ), 2). - с генотипами Trp64Arg и Arg64Arg ( $n=97$ ; объединены в общую группу из-за малой ( $n=5$ ) численности гомозигот Arg64Arg). Сравнимые группы были сопоставимы по возрасту и курению. Однако во второй группе было больше мужчин (табл.1). При анализе показателей ИМТ в группах обнаружено, что пациенты с генотипами Trp64Arg и Arg64Arg, по сравнению с генотипом Trp64Trp, имели большие значения ИМТ, у них чаще встречалось ожирение ( $p < 0,0001$ ). Хотя пациенты обеих групп существенно не различались по уровню АД, у носителей генотипов Trp64Arg и Arg64Arg чаще, чем у лиц с генотипом Trp64Trp выявлялась артериальная гипертензия (АГ) ( $p=0,02$ ) (табл.1).

Сравнительный анализ результатов липидного спектра выявил более низкие значения ЛВП-ХС у носителей генотипов Trp64Arg и Arg64Arg по сравнению с генотипом Trp64Trp ( $p=0,03$ ). По другим компонентам липидного спектра значимых изменений не обнаружено (табл.2).

С целью изучения ассоциации Trp64Arg полиморфизма гена ADRB3 с дислипидемией был проведен корреляционный анализ Trp64Arg и Arg64Arg генотипов с компонентами липидного спектра. Выявлена слабая отрицательная корреляционная связь Trp64Arg генотипа  $B_3AP$  с ЛВП-ХС (табл.3).

**Обсуждение:** По результатам настоящего

исследования выявлено, что в обследованной группе этнических кыргызов преобладают гомозиготный генотип Trp64Trp (54,5%) и аллель Trp64. Гомозиготный генотип Arg64Arg обнаружен лишь у 2,3% пациентов, в связи с чем генотипы с наличием Arg64 аллели (Trp64Arg и Arg64Arg) анализировались в составе единой группы ( $n=97$ ).

Некоторые исследования указывают о взаимосвязи между Trp64Arg полиморфизмом гена ADRB3 и АГ [8,18]. По данным нашей работы также отмечалась большая встречаемость АГ среди лиц носителей Arg64 аллели ( $p < 0,019$ ). Однако проведенный корреляционный анализ генотипов с САД и ДАД не выявил значимой корреляционной связи.

Результаты исследований ассоциации Trp64Arg полиморфизма гена ADRB3 с дислипидемией неоднородны и противоречивы. Так, при исследовании молодых датчан выявлена взаимосвязь данной мутации с гипертриглицеридемией и повышением ЛНП-ХС сыворотки крови [19]. В испанском исследовании Trp64Arg полиморфизм гена ADRB3 был достоверно связан с ТГ и ОХ сыворотки крови [18]. В то же время в исследованиях Nao et al. [20], Oksanen et al. [21] не обнаружено ассоциации генотипа ADRB3 с уровнями ТГ и ОХ сыворотки крови. В изученной нами группе этнических кыргызов у пациентов-носителей Trp64Arg полиморфизма гена ADRB3 выявлены более низкие значения ЛВП-ХС. Однако учитывая неоднородность групп по гендерному составу (большую численность мужчин в группе пациентов с Trp64Arg и Arg64Arg генотипами), нами был проведен корреляционный анализ с компонентами липидного спектра. Была обнаружена отрицательная корреляционная связь Trp64Arg генотипа с ЛВП-ХС ( $r = -0,14$ ;  $p < 0,049$ ). Со стороны других компонентов липидного спектра достоверных изменений не обнаружено. Вероятно, указанная мутация гена ADRB3 характеризуется различной пенетрантностью, а также зависит от этнической принадлежности, алиментарных факторов и уровня физической активности индивидуумов.

Таким образом, нами был изучен Trp64Arg полиморфизм гена ADRB3 в группе этнических кыргызов. Выявлена ассоциация генотипов Trp64Arg и Arg64Arg гена ADRB3 со сниженным уровнем ЛВП-ХС.

Таблица 1.

Общая характеристика обследованных пациентов в зависимости от генотипа

Параметры	Trp64Trp (n=116)	Trp64Arg + Arg64Arg (n=97)	p
Пол (мужской)	59%	78%	0,004
Возраст, годы	51,0 ± 7,9	50,4 ± 7,3	нд
Курение, %	24,7	25	нд
Ожирение, %	29	55,2	<0,0001
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	27,7 ± 4,5	29,4 ± 4,9	0,008
АГ, %	32,7	48,5	0,02
САД, мм.ст.ст.	134 ± 23	136 ± 24	нд
ДАД, мм.рт.ст.	85 ± 14	87 ± 13	нд

Примечания: нд – не достоверно; САД – систолическое, ДАД – диастолическое АД.

Таблица 2.

Взаимосвязь с компонентами липидного спектра

Параметры (ммоль/л)	Trp64Trp (n=116)	Trp64Arg + Arg64Arg (n=97)	p
ОХ	5,14 ± 1,1	4,94 ± 0,9	0,14
ЛНП-ХС	3,2 ± 0,9	3,1 ± 0,8	0,29
ЛВП-ХС	1,12 ± 0,3	1,02 ± 0,3	0,03
ТГ*	1,36 (0,92; 2,1)	1,42 (1,08; 2,22)	0,45

\* - данные представлены как медиана (25%;75%)

Таблица 3.

Корреляционный анализ Trp64Arg и Arg64Arg генотипов с компонентами липидного спектра

	n=213	
	R	p
ОХ	-0,06	0,4
ТГ	0,05	0,4
ЛНП-ХС	-0,05	0,5
ЛВП-ХС	-0,14	0,049

Примечания: R – коэффициент Спирмена.

### Литература:

1. Bouchard C., Trembly A., Despres J.P., et al. The response to long-term overfeeding in identical twins. *N Eng J Med.* 1990; 322: 1477-1482.

2. Carmelli D., Cardon L.R., Fabsitz R. Clustering of

hypertension, diabetes, and obesity in adult male twins: same genes or same environments. *Am J Hum Genet* 1994; 55:566-573.

3. Strosberg A.D. Association of  $\beta_3$ -adrenoceptor polymorphism with obesity and diabetes: current status. *Trends Pharmac Sci* 1997; 18:449-454.

4. Ursino M.G., Vasina V., Raschi E., et al. The  $\beta_3$ -adrenoceptor as a therapeutic target: current perspectives // *Pharmacol Res.* – 2009. – Vol. 59. – P.221–234.
5. Krief S., Strosberg A.D., Nyberg S., et al. Tissue distribution of  $\beta_3$ -adrenoceptor mRNA in man // *J. Clin. Invest.* - 1993. – Vol. 91. – P.344-349.
6. Lönnqvist F., Krief S., Strsberg A.D., et al. A pathogenic role of visceral fat  $\beta_3$ -adrenoceptors in obesity // *J. Clin. Invest.* - 1995. - Vol. 95. - P.1109–1116.
7. Susulic V.S., Frederich R.C., Lawitts J., et al. Targeted disruption of the  $\beta_3$ -adrenoceptor gene. *J Biol Chem* 1995;270: 29483-29492.
8. Widen E., Lehto M., Kanninen T., et al. Association of a polymorphism in the  $\beta_3$ -adrenoceptor gene with features of the insulin resistance syndrome in Finns // *N. Engl. J. Med.* - 1995. - Vol. 333. - P.348-351.
9. Walston J., Silver K., Bogardus C., et al. Time of onset of non-insulin-dependent diabetes mellitus and genetic variation in the  $\beta_3$ -adrenoceptor-gene // *N. Engl. J. Med.* - 1995. - Vol. 333. - P.343–7.
10. Clement K., Vaisse C., Manning B., et al. Genetic variation in the  $\beta_3$ -adrenoceptor and an increased capacity to gain weight in patients with morbid obesity. *N Engl J Med* 1995; 333:352-4.
11. Fujisawa T., Ikegami H., Yamato E. et al. Association of Trp64Arg mutation of the  $\beta_3$ -adrenoceptor with type 2 diabetes and body weight gain // *Diabetologia.*-1996.- Vol.39. - P349-52.
12. Yoshida T., Sakane N., Umekawa T., et al. Mutation of  $\beta_3$ -adrenoceptor gene and response to treatment of obesity. *Lancet* 1995; 346: 1433-1434.
13. Santos J.L., Perez-Bravo F., Martinez J.A., et al. No evidence for an association between genetic polymorphisms of  $\beta_2$ - and  $\beta_3$ -adrenoceptor genes with body mass index in Aymara natives from Chile. *Nutrition* 2002;18:255-258.
14. Hsueh W., Cole S., Shuldiner A., et al. Interactions between variants in the  $\beta_3$ -adrenoceptor and peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ 2 genes and obesity. *Diabetes Care* 2001; 24: 672-677.
15. Xinli W., Xiaomei T., Meihua P., Song L. Association of a mutation in the  $\beta_3$ -adrenoceptor gene with obesity and response to dietary intervention in Chinese children. *Acta Paediatr* 2001;90: 1233-1237.
16. Ghosh S., Langefeld C.D., Ally D., et al. The W64R variant of the  $\beta_3$ -adrenoceptor is not associated with type II diabetes or obesity in a large Finnish sample. *Diabetologia* 1999; 42: 238-244.
17. Friedewald W.T., Levy R.I., Fredrickson D.S. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge // *Clin. Chem.* - 1972. - Vol. 18. - P.499-502.
18. Tonolo G., Melis M.G., Secchi G., et al. Association of Trp64Arg  $\beta_3$ -Adrenoceptor gene polymorphism with essential hypertension in the Sardinian population // *J. Hypertens.* - 1999. - Vol. 17. - P.33-38.
19. Kadowaki H., Yasuda K., Iwamoto K., et al. A mutation in the  $\beta_3$ -adrenoceptor gene is associated with obesity and hyperinsulinemia in Japanese subjects // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* - 1995. - Vol. 215. - P.555–560.
20. Hao K., Peng S., Xing H., et al.  $\beta_3$ -Adrenoceptor polymorphism and obesity-related phenotypes in hypertensive patients // *Obesity. Res.* - 2004. - Vol. 12. - P.1433–1434.
21. Oksanen L., Mustajoki P., Kaprio J., et al. Polymorphism of the  $\beta_3$ -adrenoceptor gene in morbid obesity // *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*- 1996.- Vol. 20.- P.1055-61.