

АССОЦИАЦИЯ МЕЖДУ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫМИ ПОЛИМОРФИЗМАМИ RS2200733 И RS10033464 НА ХРОМОСОМЕ 4Q25 И ТИРЕОТОКСИЧЕСКОЙ ФИБРИЛЛЯЦИЕЙ ПРЕДСЕРДИЙ

Пономарцева Д. А.¹, Хушкина А. Ю.², Костарева А. А.¹,
Бабенко А. Ю.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

² Областное бюджетное учреждение здравоохранения «Курская областная многопрофильная клиническая больница» Комитета здравоохранения Курской области, Курск, Россия

Контактная информация:

Пономарцева Дарья Александровна,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
E-mail: savitskayadaria@gmail.com

Статья поступила в редакцию 22.09.2022
и принята к печати 01.11.2022

Резюме

Введение. В генезе тиреотоксической фибрилляции предсердий (ТФП) не исключается наличие генетического компонента в связи с различием эффектов тиреоидных гормонов на сердечно-сосудистую систему у схожих пациентов. Первым ассоциированным с нетиреотоксической фибрилляцией предсердий (ФП) локусом, по данным исследований полногеномного поиска ассоциаций (GWAS), был локус 4q25, а первыми его полиморфными вариантами, идентифицированными, как факторы риска ФП, были полиморфизмы rs2200733 и rs10033464. Связь их с ТФП ранее не была изучена.

Цель исследования. Исследовать наличие ассоциации ТФП с однонуклеотидными полиморфизмами rs2200733 и rs10033464 хромосомы 4q25.

Материалы и методы. Ассоциация ТФП и некоторых других проявлений тиреотоксической кардиомиопатии с вышеописанными полиморфизмами изучена на выборке из 150 пациентов с болезнью Грейвса и манифестным тиреотоксикозом, 18.7 % из которых имели ТФП. Генотипирование проводилось методом полимеразно-цепной реакции в режиме реального времени.

Результаты. По обоим полиморфизмам выявлено достоверное преобладание генотипа ТТ при сравнении всех трех генотипов между собой: $p=0.038$ для rs10033464, $p<0.001$ для rs2200733. Частота генотипа ТТ в группе пациентов с ТФП по сравнению с группой без нее: 7.4 % vs 1.6 % для rs10033464, 17.9 % vs 0.8 % для rs2200733. При оценке частоты генотипов в зависимости от наличия других проявлений тиреотоксической кардиомиопатии, генотип ТТ полиморфизма rs2200733 встречался достоверно чаще у пациентов с желудочковой экстрасистолией, $p=0.001$.

Выводы. Генотип ТТ по полиморфизмам в локусе 4q25 rs2200733 и rs10033464 ассоциирован с большей частотой развития ТФП и желудочковой экстрасистолии при тиреотоксикозе.

Ключевые слова: rs10033464, rs2200733, однонуклеотидный полиморфизм, тиреотоксическая фибрилляция предсердий, хромосома 4q25.

Для цитирования: Пономарцева Д.А., Хушкина А.Ю., Костарева А.А., Бабенко А.Ю. Ассоциация между однонуклеотидными полиморфизмами rs2200733 и rs10033464 на хромосоме 4q25 и тиреотоксической фибрилляцией предсердий. Трансляционная медицина. 2022;9(4):62-73. DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-4-62-73

ASSOCIATION BETWEEN SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS RS2200733 AND RS10033464 AT CHROMOSOME 4Q25 AND THYROTOXIC ATRIAL FIBRILLATION

Daria A. Ponomartseva¹, Anastasiya Yu. Hushkina²,
Anna A. Kostareva¹, Alina Yu. Babenko¹

¹ Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

² Budgetary Healthcare Institution, Kursk Regional Multidisciplinary Clinical Hospital of the Healthcare Committee of the Kursk Region, Kursk, Russia

Corresponding author:

Daria A. Ponomartseva,
Almazov National Medical Research Centre,
Akkuratova str. 2, Saint Petersburg, Russia,
197341.
E-mail: savitskayadaria@gmail.com

Received day 22 September 2022; accepted
day 01 November 2022.

Abstract

Background. Thyrotoxic atrial fibrillation (TAF) genesis does not exclude a genetic component due to the difference in thyroid hormones effects on the cardiovascular system in similar patients. According to genome-wide association studies (GWAS), the first locus associated with non-thyrotoxic atrial fibrillation (AF) was locus 4q25, and the first single-nucleotide polymorphisms in it identified as risk factors for AF were polymorphisms rs2200733 and rs10033464. Their connection with TAF remains unclear.

Objective. To investigate the possible association of the two single nucleotide polymorphisms rs2200733 and rs10033464 with TAF.

Design and methods. The association of TAF and other thyrotoxic cardiomyopathy manifestations with the studied polymorphisms was examined in a sample of 150 patients with Graves' disease and overt thyrotoxicosis, 18.7 % of whom had TAF. Genotyping was performed using real time PCR.

Results. A significant predominance of TT genotype for both polymorphisms was revealed: p=0.038 for rs10033464, p<0.001 for rs2200733. TT genotype frequency in TAF patients compared with non-TAF participants: 7.4 % vs 1.6 % for rs10033464, 17.9 % vs 0.8 % for rs2200733. When assessing the frequency of genotypes depending on the presence of other thyrotoxic cardiomyopathy manifestations, TT genotype was more common in patients with ventricular premature beats, p=0.001.

Conclusion. TT genotype of rs2200733 and rs10033464 polymorphisms at 4q25 locus is associated with a higher incidence of TAF and ventricular extrasystole in thyrotoxic patients.

Key words: a single nucleotide polymorphism, chromosome 4q25, rs10033464, rs2200733, thyrotoxic atrial fibrillation.

For citation: Ponomartseva DA, Hushkina AYu, Kostareva AA, Babenko AYu. Association between single nucleotide polymorphisms rs2200733 and rs10033464 at chromosome 4q25 and thyrotoxic atrial fibrillation. Translyatsionnaya meditsina=Translational Medicine. 2022;9(4):62-73. (In Russ.) DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-4-62-73

Список сокращений: GWAS — genome-wide association studies (исследования полногеномного поиска ассоциаций), PITX2 — paired-like homeodomain transcription factor 2 (ген парного гомеодоменного фактора транскрипции 2), ЖЭ — желудочковая экстрасистолия, НЖЭ — наджелудочковая экстрасистолия, ТФП — тиреотоксическая фибрилляция предсердий, ФП — фибрилляция предсердий, ХМ ЭКГ — электрокардиограммы холтеровского мониторинга.

Введение

Самым частым из тяжелых осложнений тиреотоксикоза, зачастую определяющим прогноз пациентов, является фибрилляция предсердий (ФП). Это осложнение развивается у 10-15 % пациентов с тиреотоксикозом [1]. Предрасполагающими факторами являются пожилой возраст, мужской пол и наличие сопутствующей сердечно-сосудистой патологии [2, 3]. Однако тиреотоксическая ФП (ТФП) может развиваться и у молодых людей без предшествующих заболеваний сердца. Другие проявления тиреотоксической кардиомиопатии также не всегда коррелируют с возрастом, наличием сопутствующей кардиальной патологии и тяжестью тиреотоксикоза. Именно поэтому возник интерес к поиску генетических факторов, предрасполагающих к более тяжелому течению тиреотоксической кардиомиопатии, и в том числе — к развитию ТФП.

Кроме того, идея поиска генетических предикторов ТФП во многом возникла в связи с наличием в настоящее время уже разработанных генетических шкал расчета риска нетиреотоксической ФП [4, 5].

В аритмологии генетические исследования получили очень широкое распространение [6]. В том числе за последние три десятилетия описано множество генетических маркеров, предрасполагающих к развитию ФП. Даже в генезе вторичной ФП, к которой относится тиреотоксическая, не исключается наличие генетического компонента, поскольку у различных пациентов с одинаковой тяжестью первичного заболевания ФП развивается далеко не всегда. Поэтому важным направлением в генетическом исследовании ФП должен быть скрининг генов кандидатов (генов предрасположенности) [7].

В настоящем исследовании проводилась оценка наличия ассоциации полиморфизмов rs2200733 и rs10033464 в локусе 4q25 с ТФП. Данные полиморфные маркеры были выбраны, так как они были первыми однонуклеотидными полиморфизмами хромосомы 4q25, идентифицированными как факторы, предрасполагающие к ФП по данным исследований полногеномного поиска ассоциаций

(genome-wide association studies — GWAS) [8]. Наиболее сильная ассоциация с фибрилляцией предсердий доказана для полиморфизма rs2200733. Помимо GWAS, исследования на различных когортах пациентов доказывают, что носительство минорного аллеля Т значительно увеличивает риск развития ФП [9-13], в том числе в российской популяции [7, 14, 15]. Ассоциация полиморфного маркера rs10033464 (аллель Т — аллель риска) с ФП также была подтверждена, но в меньшем количестве исследований [11]. Отношение шансов по данным проводившегося в 2009 году метаанализа составляет 1.90 для rs2200733 и 1.36 для rs10033464 [8, 11].

Причина такой предрасположенности остается не до конца ясной. Участок, где располагаются изучаемые полиморфизмы, является некодирующей частью генома. Предполагается, что влияние на аритмогенез связано с регуляцией расположенного неподалеку гена парного гомеодоменного фактора транскрипции 2 (paired-like homeodomain transcription factor 2, PITX2). Ген PITX2 кодирует один из транскрипционных факторов, играющих важную роль в развитии органов грудной полости, в том числе левого предсердия и легочных вен [16], участвует в регуляции активности генов, экспрессируемых в синотриальном узле [15]. В экспериментах на животных показано, что участок 4q25 взаимодействует с промотором специфической для сердца изоформы PITX2, а также с промотором соседнего гена ENPEP, который экспрессируется в областях развивающегося сердца, необходимых для электрической активности сердца [17]. Тем не менее, подобные механизмы у людей не доказаны, и данные в литературе о влиянии полиморфизма rs2200733 на экспрессию PITX2 противоречивы [15].

Цель исследования

Исследовать наличие ассоциации ТФП с полиморфными вариантами хромосомы 4q25: rs2200733 и rs10033464.

Материалы и методы

Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России (выписка №1804–17 из протокола заседания локального этического комитета от 10.04.2017). Перед включением в исследование все пациенты подписывали форму информированного добровольного согласия.

Все участники исследования находились на стационарном лечении в отделениях эндокринологии и/или кардиологии и/или наблюдались амбулаторно у эндокринолога и/или кардиолога ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России

или ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова в период с 2000 по 2019 гг.

В исследование включено 150 пациентов с манифестным тиреотоксикозом в анамнезе или на момент включения в исследование. У 28 пациентов (18.7 %) имела место ТФП. Для отбора подходящих испытуемых проводилось изучение медицинских карт пациентов с тиреотоксикозом. С целью получения проб венозной крови и получения письменного согласия на исследование были организованы однократные визиты всех участников. В дальнейшем отслеживание динамики заболевания проводилось по телефону.

Участники были набраны в соответствии с перечисленными ниже критериями.

Критерии включения пациентов в исследование:

1. Мужчины и женщины с манифестным тиреотоксикозом, обусловленным болезнью Грейвса.
2. Возраст от 18 до 80 лет.

Критерии невключения пациентов в исследование:

1. Субклинический тиреотоксикоз без периода манифестного тиреотоксикоза.
2. Наличие в анамнезе фибрилляции предсердий до дебюта тиреотоксикоза.
3. Гемодинамически значимые клапанные поражения и пороки сердца, кардиомиопатии не тиреотоксического генеза.
4. Тяжелые обструктивные заболевания легких, тяжелые заболевания крови, органические недостаточности тяжелой степени.
5. Хронические интоксикации (алкоголизм, наркомания, токсикомания).
6. Беременность во время тиреотоксикоза.

Исследуемые параметры:

- 1) Демографические данные: пол, возраст.
- 2) Характеристики тиреотоксикоза: уровни тиреотропного гормона и тиреоидных гормонов (свободные тетрайодтиронин и трийодтиронин), длительность тиреотоксикоза (для пациентов с ФП — до развития ФП, месяцы).
- 3) Кардиальный статус на фоне тиреотоксикоза: частота сердечных сокращений (ЧСС), наличие или отсутствие артериальной гипертензии, наджелудочковой экстрасистолии (НЖЭ), желудочковой экстрасистолии (ЖЭ) и сердечной недостаточности.
- 4) Параметры эхокардиографии: индекс массы миокарда левого желудочка (г/м^2), конечно-диастолический диаметр левого желудочка (мм), фракция выброса (Симпсон, %), характер ремоделирования левого желудочка (нормальная геометрия, концентрическое ремоделирование, концентрическая

гипертрофия, эксцентрическая гипертрофия), диаметр левого предсердия (мм), дилатация левого предсердия (наличие/отсутствие), дилатация правого предсердия (наличие/отсутствие), давление в легочной артерии (мм рт. ст.).

Методы оценки изучаемых параметров

Информация об изучаемых параметрах была получена с помощью:

- ретроспективного анализа медицинской документации;
- опроса пациентов посредством личного и телефонного контакта.

Диагноз манифестного тиреотоксикоза устанавливался на основании наличия данных о снижении тиреотропного гормона ниже референсного интервала и повышении трийодтиронина и/или тетрайодтиронина выше референсного интервала. В связи с различием референсных интервалов (так как анализы проводились в различных лабораториях и в разные временные промежутки) для тиреоидных гормонов было рассчитано превышение верхней границы референса (во сколько раз уровень гормона превышает верхнюю границу референсного интервала).

Наличие ТФП определялось присутствием этой патологии в диагнозе или наличием в медицинской документации электрокардиограммы (ЭКГ)/холтеровского мониторирования ЭКГ (ХМ ЭКГ) с впервые зафиксированной на фоне тиреотоксикоза фибрилляцией предсердий. Отсутствие возможности точно установить наличие/отсутствие ФП или факта ее появления на фоне тиреотоксикоза было причиной невключения пациентов в исследование. Пациенты с трепетанием предсердий также были классифицированы как пациенты с ФП. Таким образом, в исследовании под ФП подразумевается наличие фибрилляции и/или трепетания предсердий.

Диагноз болезни Грейвса во всех случаях был подтвержден наличием повышенного титра антител к рецепторам тиреотропного гормона. Длительность тиреотоксикоза устанавливалась в месяцах с момента первых клинических проявлений до достижения эутиреоза.

На фоне тиреотоксикоза оценивались ЧСС, наличие артериальной гипертензии, НЖЭ, ЖЭ и сердечной недостаточности. ЧСС оценивалась на момент наличия тиреотоксикоза. Фиксировалось среднее значение ЧСС, основанное по крайней мере на трех измерениях из медицинской документации. В анализ включались только значения, полученные до начала терапии препаратами, снижающими ЧСС. В случае отсутствия информации

о ЧСС без пульс-урежающей терапии, данные о ЧСС не включались в исследование. Артериальная гипертензия определялась наличием эссенциальной или вторичной артериальной гипертензии в диагнозе или в случае применения антигипертензивных препаратов или если систолическое артериальное давление ≥ 140 мм рт.ст. и/или диастолическое артериальное давление ≥ 90 мм рт.ст. были обнаружены по крайней мере дважды в медицинской документации. Участники были классифицированы как имеющие НЖЭ в случае ее регистрации при стандартной ЭКГ или наличии более 200 НЖЭ за сутки [18] или групповых (≥ 3 комплексов) НЖЭ при ХМ ЭКГ. Наличие ЖЭ подтверждалось также либо в случае регистрации на стандартной ЭКГ, либо при ХМ ЭКГ при наличии более 200 ЖЭ за сутки [18] или при любом количестве ЖЭ, если они были политопные, парные или ранние (R на T) [19]. Сердечная недостаточность до или на фоне ФП устанавливалась в случае наличия данной патологии в диагнозе.

Данные ЭХОКГ, выполненной на фоне тиреотоксикоза, были получены из медицинской документации. Индекс массы миокарда и относительная толщина стенок левого желудочка, необходимая для определения типа геометрии, рассчитывались по формулам, рекомендованным американским обществом эхокардиографии [20]. Для описания геометрии левого желудочка использовалась классификация G. Ganau [21]: нормальная геометрия, эксцентрическая гипертрофия, концентрическое ремоделирование, концентрическая гипертрофия. Дилатация ЛП устанавливалась при диаметре ЛП более 38 мм, гипертрофия ЛЖ — при индексе массы миокарда левого желудочка более 115 г/м² для мужчин и более 95 г/м² для женщин [20].

Генетическое обследование

Проводилось исследование наличия ассоциации однонуклеотидных полиморфных маркеров rs2200733 (C/T) и rs10033464 (G/T) в некодирующей части генома в локусе 4q2 с ТФП и другими проявлениями тиреотоксической кардиомиопатии.

Для этого проводилось изучение распределения аллелей и генотипов вышеперечисленных полиморфных маркеров у пациентов с ТФП (другими проявлениями тиреотоксической кардиомиопатии) и без нее (них). Для сравнения частот генотипов и аллелей, полученных в настоящем исследовании, с таковыми в общей популяции, использовались данные SNP database [22]: частота генотипов — 1000Genomes European, частота аллелей — TOPMED, 1000Genomes total и 1000Genomes European.

Для идентификации генотипов по изучаемым однонуклеотидным полиморфизмам использовалась венозная кровь пациентов, отобранная в пробирки с антикоагулянтом динатриевой солью этилендиаминтетраацетата (ЭДТА). Выделение ДНК проводилось из цельной крови с помощью коммерческих наборов производства «QIAGEN» по методике Бартлетт и Уайт [23]. Детекция полиморфизмов осуществлялась методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с автоматической детекцией результатов амплификации в режиме реального времени. Учет реакции проводился на амплификаторе Applied Biosystems 7500 Real Time PCR System. Использовались стандартные параметры термического цикла в соответствии с инструкциями производителя. Для амплификации полиморфизмов и распознавания аллелей использовались наборы праймер+зонд, содержащие: прямой и обратный праймеры, фланкирующие полиморфные участки определенных локусов и флуоресцентный зонд, содержащий разные красители для различения аллелей, а также реакционная смесь стандартного состава для проведения ПЦР в режиме реального времени фирмы «Синтол».

Статистический анализ

Для статистического анализа использовались программы SPSS Statistics v23.

За критический уровень статистической значимости принималось значение $p < 0.05$.

В тексте и в таблицах данные представлены в виде: медиана (1-й квартиль; 3-й квартиль) или процент от полной или части (в этом случае есть указание на группу, от которой рассчитывался процент) выборки (абсолютное число): % (n).

Проверка на нормальность распределения переменных проводилась с помощью критерия Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллиефорса. Распределение всех изучаемых переменных имело отклонение от нормального ($p < 0.05$ в тесте Колмогорова-Смирнова), поэтому для сравнения выборок использовались непараметрические тесты. Для сравнения двух независимых выборок с интервальной шкалой — критерий Манна-Уитни, для сравнения более двух независимых выборок с интервальной шкалой — тест Краскела-Уоллиса. Сравнение номинальных переменных проводилось с использованием таблиц сопряженности и рассчитанного по ним критерия χ^2 . В случае четырехпольных таблиц сравнения применяли точный двусторонний критерий Фишера.

Для оценки влияния изучаемых полиморфизмов на риск развития ТФП проводился логистический регрессионный анализ: как с принудительным

введением признаков, так и с пошаговыми алгоритмами включения и исключения предикторов. Статистическая достоверность регрессионного анализа оценивалась путем сравнения с «пустой» моделью, содержащей только константу. Для оценки качества и прогностической способности модели использовались: меры определенности Кокса & Шнела и Найджелкерка (R квадрат или псевдокоэффициент детерминации), показывающие, какую часть дисперсии зависимой переменной может объяснить модель логистической регрессии; критерий согласия Хосмера-Лемешова, позволяющий

установить, насколько модель согласуется с исходными данными. Также для переменных, включенных в логистический регрессионный анализ, рассчитывали показатель отношения шансов (ОШ) и его 95 % доверительный интервал (ДИ).

При статистической обработке результатов генотипирования был использован калькулятор проверки на равновесие Харди-Вайнберга с сайта Online Calculator of Hardy-Weinberg equilibrium (wpcalc.com).

При оценке результатов генотипирования первым этапом определяли частоты генотипов и ал-

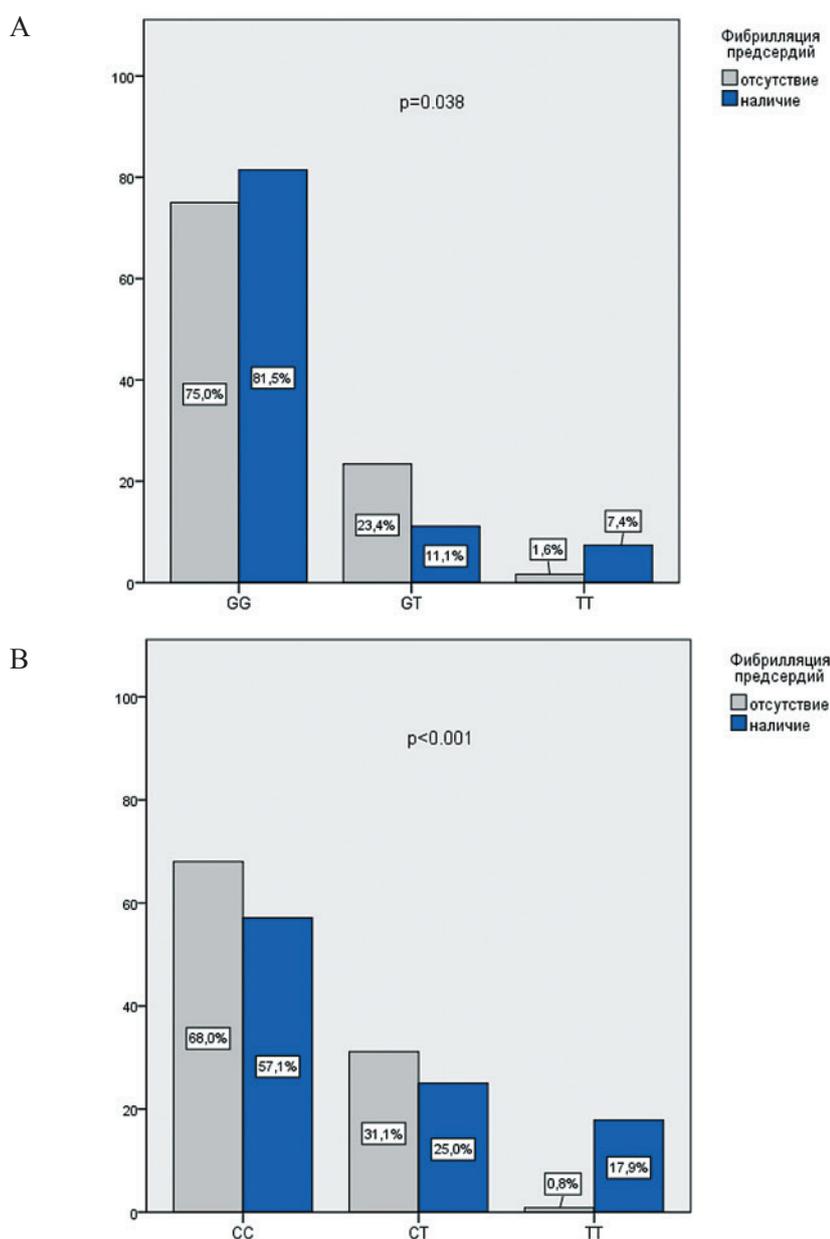


Рис. 1. Частота встречаемости генотипов полиморфизмов rs10033464 (А) и rs2200733 (В) в группах с тиреотоксической фибрилляцией предсердий и без нее

Fig. 1. The frequency of occurrence of rs10033464 (A) and rs2200733 (B) polymorphism genotypes in groups with and without thyrotoxic atrial fibrillation

лелей изучаемых однонуклеотидных полиморфизмов в исследуемой выборке. Затем оценивали соответствие частот генотипов равновесию Харди-Вайнберга, используя критерий χ^2 .

Результаты

Характеристика исследуемой группы представлена в таблице 1. Из 150 пациентов, включенных в исследование, мужчины составили 14 %, жен-

щины — 86 %. Медиана возраста — 42 года, ТФП имела место у 18.7 % пациентов. У всех пациентов в анамнезе имел место манифестный тиреотоксикоз, ассоциированный с болезнью Грейвса.

Результаты генотипирования по полиморфизмам rs10033464 и rs2200733

Частота встречаемости генотипов и аллелей, ее сравнение с данными SNP database [22], а также

Таблица 1. Характеристика пациентов

Table 1. Patient characteristics

Переменная (признак)	Медиана (1-й квартиль; 3-й квартиль) или % (n)	
Пол, % мужчин (n)	14 (21)	
Возраст, лет	42 (34.8; 48)	
Тетрайодтиронин свободный, раз выше ВГН	1.9 (1.5; 2.6)	
Трийодтиронин свободный, раз выше ВГН	1.9 (1.5; 2.9)	
Тиреотропный гормон, мМЕ/л	<0.01 (0.004; 0.03)	
Длительность тиреотоксикоза, месяцы	10.5 (6; 24.3)	
Кардиологический статус на фоне тиреотоксикоза:		
Частота сердечных сокращений, уд/мин	94 (85; 103.5)	
Синусовая тахикардия, % (n)	58.1 (79)	
Артериальная гипертензия, % (n)	42.7 (64)	
Наджелудочковая экстрасистолия, % (n)	47.2 (60)	
Желудочковая экстрасистолия, % (n)	6.9 (6)	
Фибрилляция предсердий, % (n)	18.7 (28)	
Сердечная недостаточность, % (n)	20.0 (18)	
Параметры эхокардиографии:		
Индекс массы миокарда ЛЖ, г/м ²	97 (82; 113)	Ж.: 96 (81; 109)
		М.: 111 (89; 147)
Конечно-диастолический диаметр ЛЖ, мм	50 (47; 52)	
Фракция выброса (Симпсон), %	59 (56; 63)	
Тип геометрии левого желудочка:		
нормальная геометрия, %	69.9	
эксцентрическая гипертрофия, %	18.5	
концентрическая гипертрофия, %	4.8	
концентрическое ремоделирование, %	6.8	
Диаметр левого предсердия, мм	39 (36; 43)	
Наличие дилатации левого предсердия, %	42	
Давление в легочной артерии, мм рт. ст.	32 (27; 37)	

ВГН — верхняя граница нормы. ТТ — тиреотоксикоз. ТТГ — тиреотропный гормон. ЛЖ — левый желудочек. Ж. — женщины. М. — мужчины.

результаты теста на соответствие равновесию Харди-Вайнберга представлены в таблице 2. По обоим полиморфизмам распределение генотипов соответствовало равновесию Харди-Вайнберга и значительно не отличалось от данных SNP database.

Ассоциация полиморфизмов rs10033464 и rs2200733 с тиреотоксической фибрилляцией предсердий

Анализ частоты развития ТФП в зависимости от различных генотипов показал, что полиморфизмы rs10033464 и rs2200733 статистически достоверно ассоциированы с ТФП: $p=0.038$ и $p<0.001$, соответственно (рис. 1). Частота генотипа ТТ в группе пациентов с ТФП по сравнению с группой без нее: 7.4 % vs 1.6 % для rs10033464, 17.9 % vs 0.8 % для rs2200733. Однако эти различия были достоверными только при сравнении всех трех генотипов между собой тестом Краскела-Уоллиса. При анализе, сравнивающем гомозиготы с частым аллелем с группой, объединяющей гетерозиготы и гомозиготы с редким аллелем, значимых различий по частоте развития ТФП не было. Объединение гомозигот по частому аллелю с гетерозиготами нецелесообразно в связи со значимой разницей в объеме сравниваемых групп: 146 пациентов с генотипами GG/GT vs 4 пациента ТТ (rs10033464); 144 пациента CC/CT vs 6 пациентов ТТ (rs2200733).

Для уточнения влияния изучаемых полиморфизмов на риск развития ТФП был проведен логистический регрессионный анализ. Зависимой переменной был признак отсутствие/наличие ТФП. Переменные, представляющие собой данные о генотипе по полиморфизмам, были переведены в бинарные за счет того, что минорные гомозиготы и гетерозиготы учитывались в совокупности: для rs10033464 генотипы — GT и TT вместе, для rs2200733 — CT и TT вместе. С целью предотвращения значимого уменьшения объема выборки в анализ были включены только те признаки, данные о которых имелись для большинства пациентов. При проведении регрессионного анализа с последовательным включением или исключением мало значимых признаков в итоговую модель полиморфизмы не попадали. Поэтому проводился анализ с принудительным включением признаков. В результате оптимальным сочетанием включенных признаков были: rs2200733, пол, возраст и длительность тиреотоксикоза. Индикаторы качества этой модели с четырьмя признаками представлены в таблице 3. Включение каких-либо других признаков уменьшало качество модели или уменьшало объем выборки до размера, при котором нецелесообразно проводить анализ. Включение полиморфизма rs10033464 также уменьшало качество модели.

Таблица 2. Частота встречаемости генотипов и аллелей полиморфизмов rs10033464 и rs2200733 в исследуемой группе и по данным SNP database*, результаты теста на соответствие равновесию Харди-Вайнберга

Table 2. The frequency of occurrence of genotypes and alleles of polymorphisms rs10033464 and rs2200733 in the study group and according to the SNP database*, the results of the test for compliance with the Hardy-Weinberg equilibrium

Полиморфизм и генотипы	Частота генотипов, %		Частота аллелей		Соответствие равновесию Харди-Вайнберга: χ^2 , значение p	
	Исследуемая группа	Данные dbSNP	Исследуемая группа	Данные dbSNP		
rs10033464	GG	76.7	82.3	G=0.87 T=0.13	C=0.86; 0.82; 0.90 T=0.14; 0.18; 0.10	0.1309, 0.7175
	GT	21.3	15.9			
	TT	2.0	1.8			
rs2200733	CC	66.0	78.7	C=0.81 T=0.19	G=0.80; 0.75; 0.85 T=0.20; 0.25; 0.15	0.0642, 0.7999
	CT	30.0	19.5			
	TT	4.0	1.8			

* Частота генотипов и аллелей представлена по данным SNP database: частота генотипов — 1000Genomes European, частота аллелей — TOPMED; 1000Genomes total; 1000Genomes European (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>)

Кроме того, в таблице 4 приведены регрессионные коэффициенты и показатели отношения шансов предикторов для модели с принудительным включением обоих полиморфизмов. Данная таблица показывает, что полиморфизмы вносят крайне низкий вклад в прогноз ТФП.

Ассоциация полиморфизмов rs10033464 и rs2200733 с другими проявлениями тиреотоксической кардиомиопатии

Проводилась оценка наличия ассоциации изучаемых полиморфизмов со следующими прояв-

лениями тиреотоксической кардиомиопатии: синусовая тахикардия, артериальная гипертензия, НЖЭ, ЖЭ и сердечная недостаточность на фоне тиреотоксикоза. По данным анализа была выявлена ассоциация ЖЭ на фоне тиреотоксикоза с полиморфизмом rs2200733, но только при сравнении всех трех генотипов между собой (табл. 5). Других статистически значимых различий обнаружено не было.

При сравнении параметров ЭХОКГ у пациентов с различными генотипами по обоим полиморфизмам значимых различий выявлено не было.

Таблица 3. Индикаторы качества наилучшей модели логистической регрессии с включением результатов генотипирования по полиморфизму rs2200733

Table 3. Quality indicators of the best logistic regression model with the inclusion of genotyping results for the rs2200733 polymorphism

Коэффициент Кокса&Шнелла	0.216
Коэффициент Найджелкерка	0.350
Критерий Хосмера-Лемешева: χ^2 ; p	5.728; 0.678
Правильно предсказанные наблюдения, %	78
Чувствительность, %	75
Специфичность, %	78.7
ROC-анализ:	
Число пациентов, включенных в анализ	150
Площадь под ROC-кривой \pm ст. ошибка	0.859 \pm 0.032
p	<0.001
95% доверительный интервал	0.797-0.921

Таблица 4. Результаты логистического регрессионного анализа с принудительным включением полиморфизмов rs10033464 и rs2200733: коэффициенты регрессии и отношения шансов

Table 4. Results of logistic regression analysis with forced inclusion of polymorphisms rs10033464 and rs2200733: regression coefficients and odds ratios

Переменные	Коэффициент регрессии В	Тест Вальда	P	Отношение шансов (95 % ДИ)
rs2200733	0.74	1.93	0.164	2.09 (0.79; 5.91)
rs10033464	-0.42	0.38	0.538	0.66 (0.17; 2.51)
Пол	2.08	10.76	0.001	8.01 (2.31; 27.77)
Возраст	1.04	3.81	0.051	2.83 (0.99; 8.05)
Длительность ТТ	0.04	18.49	0.000	1.04 (1.02; 1.06)
Константа	-7.08	23.76	0.000	

ДИ — доверительный интервал. ТТ — тиреотоксикоз.

Обсуждение

В исследовании оценивалось влияние двух полиморфизмов в локусе 4q25 (rs10033464 и rs2200733) на риск развития ТФП. Ассоциация ТФП была выявлена с обоими полиморфизмами. Частота генотипов статистически значимо различалась в группах с ТФП и без нее: при ТФП чаще встречался генотип ТТ по обоим полиморфизмам (рис. 1), что согласуется с литературными данными [9-15].

Однако проведенный регрессионный анализ не показал значимого влияния этих генетических маркеров на прогноз ТФП. При построении регрессионных моделей эти переменные оказывались наименее значимыми для прогноза, а модель предикции ТФП, построенная с принудительным включением в нее полиморфизмов, имела низкое качество прогноза. Таким образом, рутинное определение генотипа по полиморфизмам rs10033464 и rs2200733 для оценки риска ТФП у пациентов с тиреотоксикозом нецелесообразно, так как это не увеличивает точность предсказания ТФП при увеличении сложности и стоимости обследования пациента.

Кроме того, в нашем исследовании генотип ТТ полиморфного варианта rs2200733 был ассоциирован с ЖЭ при тиреотоксикозе; ни у одного пациента без ЖЭ генотипа ТТ не было. При анализе литературы было обнаружено только одно

исследование ассоциации данного генетического маркера с желудочковыми нарушениями ритма. В этой работе было показано, что полиморфизм rs2200733 не повышает риск желудочковых нарушений ритма у пациентов, перенесших инфаркт миокарда [24]. Несовпадения в результатах могут быть связаны с различным патогенезом развития желудочковых нарушений ритма при тиреотоксикозе и инфаркте миокарда.

Также в настоящем исследовании ни один из изучаемых параметров ЭХОКГ на фоне тиреотоксикоза не был ассоциирован с полиморфизмами rs10033464 и rs2200733. Эти результаты согласуются с данными одного исследования, где не было выявлено связи полиморфизма rs2200733 с объемом левого предсердия среди пациентов с ФП [25].

Ограничения исследования

Стоит отметить, что ограничением настоящего исследования является размер исследуемой выборки, который был меньше оптимального для подобных генетических исследований. Кроме того, участники исследования были набраны только из двух организаций здравоохранения, что снижает репрезентативность выборки. Таким образом, необходимо проведение дальнейших исследований для подтверждения данных, полученных в ходе настоящей работы.

Таблица 5. Частота встречаемости генотипов полиморфизма rs2200733 в зависимости от наличия различных проявлений тиреотоксической кардиомиопатии

Table 5. The frequency of occurrence of rs2200733 polymorphism genotypes depending on the presence of various manifestations of thyrotoxic cardiomyopathy

Проявления тиреотоксической кардиомиопатии:		Частота генотипов, %			P
		СС	СТ	ТТ	
Артериальная гипертензия	есть	68.8	23.4	7.8	0.055
	нет	64	34.9	1.2	
Синусовая тахикардия	есть	64.6	31.6	3.8	0.968
	нет	66.7	29.8	3.5	
Наджелудочковая экстрасистолия	есть	60	33.3	6.7	0.087
	нет	68.7	31.3	0	
Желудочковая экстрасистолия	есть	50	33.3	16.7	0.001
	нет	66.7	33.3	0	
Сердечная недостаточность	есть	77.8	22.2	0	0.425
	нет	62.5	34.7	2.8	

Заключение

Генотип ТТ полиморфных вариантов rs10033464 и rs2200733 локуса 4q25 ассоциирован с более частым развитием ТФП. Кроме того, генотип ТТ полиморфизма rs2200733 встречался достоверно чаще у пациентов с желудочковой экстрасистолией, $p=0.001$. Однако проведенный регрессионный анализ показал, что изучаемые полиморфизмы вносят крайне низкий вклад в прогноз ТФП. Таким образом, можно сделать вывод, что включение полиморфных маркеров rs10033464 и rs2200733 в модели расчета риска ТФП значительно не улучшает качество предикции.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциально-го конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Благодарности / Acknowledgments

Исследование выполнено при финансовой поддержке следующего источника: государственное задание №26, регистрационный номер АААА-А18-118042390142-5.

Список литературы / References

1. Razvi S, Jabbar A, Pingitore A et al. Thyroid Hormones and Cardiovascular Function and Diseases. *J Am Coll Cardiol*. 2018; 71(16):1781-1796. DOI: 10.1016/j.jacc.2018.02.045.
2. Osman F, Franklyn JA, Holder RL et al. Cardiovascular manifestations of hyperthyroidism before and after antithyroid therapy: a matched case-control study. *J Am Coll Cardiol*. 2007; 49(1):71-81. DOI: 10.1016/j.jacc.2006.08.042.
3. Frost L, Vestergaard P, Mosekilde L. Hyperthyroidism and risk of atrial fibrillation or flutter: a population-based study. *Arch Intern Med*. 2004;164(15):1675-1678. DOI: 10.1001/archinte.164.15.1675.
4. Pérez-Serra A, Campuzano O, Brugada R. Update about atrial fibrillation genetics. *Curr Opin Cardiol*. 2017; 32(3):246-252. DOI: 10.1097/HCO.0000000000000387.
5. Hucker WJ, Saini H, Lubitz SA et al. Atrial Fibrillation Genetics: Is There a Practical Clinical Value Now or in the Future? *Can J Cardiol*. 2016; 32(11):1300-1305. DOI: 10.1016/j.cjca.2016.02.032.
6. Podzolkov VI, Tarzimanova AI. Personalized Medicine in the Treatment of Atrial Fibrillation: Myth or Reality? *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2019;15(1):90-94. In Russian [Подзолков В.И., Тарзимова А.И. Персонализированная медицина в лечении фибрилляции предсердий: миф или ре-

альность? *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2019; 15(1):90-94]. DOI: 10.20996/1819-6446-2019-15-1-90-94

7. Shul'man VA, Nikulina SYu, Isachenko OO et al. Genetic aspects of atrial fibrillation. *Journal of Arrhythmology*. 2006; 46:57-60. In Russian [Шульман В.А., Никулина С.Ю., Исаченко О.О. и др. Генетические аспекты фибрилляции предсердий. *Вестник аритмологии*. 2006; 46:57-60].

8. Gudbjartsson DF, Arnar DO, Helgadottir A et al. Variants conferring risk of atrial fibrillation on chromosome 4q25. *Nature*. 2007; 448(7151):353-357. DOI: 10.1038/nature06007.

9. Viviani Anselmi C, Novelli V, Roncarati R et al. Association of rs2200733 at 4q25 with atrial flutter/fibrillation diseases in an Italian population. *Heart*. 2008; 94(11):1394-1396. DOI: 10.1136/hrt.2008.148544.

10. Lubitz SA, Sinner MF, Lunetta KL et al. Independent susceptibility markers for atrial fibrillation on chromosome 4q25. *Circulation*. 2010; 122(10):976-984. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.886440

11. Kääb S, Darbar D, van Noord C et al. Large scale replication and meta-analysis of variants on chromosome 4q25 associated with atrial fibrillation. *Eur Heart J*. 2009; 30(7):813-819. DOI: 10.1093/eurheartj/ehn578

12. Olesen MS, Holst AG, Jabbari J et al. Genetic loci on chromosomes 4q25, 7p31, and 12p12 are associated with onset of lone atrial fibrillation before the age of 40 years. *Can J Cardiol*. 2012; 28(2):191-195. DOI: 10.1016/j.cjca.2011.11.016.

13. Ferrán A, Alegret JM, Subirana I et al. Association between rs2200733 and rs7193343 genetic variants and atrial fibrillation in a Spanish population, and meta-analysis of previous studies. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2014; 67(10):822-829. DOI: 10.1016/j.rec.2013.12.019

14. Shulman VA, Aksyutina NV, Aldanova EE et al. Assessment of Association of rs2200733 SNP on Chromosome 4q25 with the Risk of the Development of Atrial Fibrillation in the Russian Population. *International Journal of Biomedicine*. 2018; 8(4):280-283. DOI: 10.21103/Article8(4)_OAI

15. Golukhova EZ, Zholbaeva AZ, Arakelyan MG et al. Genetic Aspects of Lone Atrial Fibrillation in Patients Without Structural Heart Disease. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2019;74(4):245-252. In Russian [Голухова Е.З., Жолбаева А.З., Аракелян М.Г. и др. Генетические аспекты развития идиопатической фибрилляции предсердий у больных без структурных сердечных аномалий. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2019; 74(4):245-252] DOI: 10.15690/vramn1120

16. Syeda F, Kirchhof P, Fabritz L. PITX2-dependent gene regulation in atrial fibrillation and

rhythm control. *J Physiol.* 2017; 595(12):4019-4026. DOI: 10.1113/JP273123

17. Aguirre LA, Alonso ME, Badia-Careaga C et al. Long-range regulatory interactions at the 4q25 atrial fibrillation risk locus involve PITX2c and ENPEP. *BMC Biol.* 2015; 13:26. DOI: 10.1186/s12915-015-0138-0

18. Lusov VA, Molchanov SN. Supraventricular and ventricular cardiac arrhythmias. *Russian Journal of Cardiology.* 2008; 6:41-60. In Russian [Лусов В.А., Молчанов С.Н. Наджелудочковые и желудочковые нарушения ритма сердца. *Российский кардиологический журнал.* 2008; 6:41-61].

19. Bockeria OL, Akhobekov AA. Ventricular premature complexes. *Annaly aritmologii.* 2015; 12(1):16-24. In Russian [Бокерия О.Л., Ахобекков А.А. Желудочковая экстрасистолия. *Анналы аритмологии.* 2015; 12(1):16-24]. DOI:10.15275/annaritmol.2015.1.3

20. Lang RM, Bierig M, Devereux RB et al. Recommendations for chamber quantification. *Eur J Echocardiogr.* 2006; 7(2):79-108. DOI: 10.1016/j.euje.2005.12.014

21. Ganau A, Devereux RB, Roman MJ et al. Patterns of left ventricular hypertrophy and geometric remodeling in essential hypertension. *J Am Coll Cardiol.* 1992; 19(7):1550-1558. DOI: 10.1016/0735-1097(92)90617-v

22. National Center for Biotechnology Information: Single Nucleotide Polymorphism Database (1998). PMID 21097890. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/> [database].

23. Bartlett JM, White A. Extraction of DNA from whole blood. *Methods Mol Biol.* 2003; 226:29-32. DOI: 10.1385/1-59259-384-4:29

24. Foddha H, Bouzidi N, Foddha A et al. Single nucleotide polymorphisms of SCN5A and SCN10A genes increase the risk of ventricular arrhythmias during myocardial infarction. *Adv Clin Exp Med.* 2020; 29(4):423-429. DOI: 10.17219/acem/116750

25. Mints Y, Yarmohammadi H, Khurram IM et al. Association of common variations on chromosome 4q25 and left atrial volume in patients with atrial fibrillation. *Clin Med Insights Cardiol.* 2015; 9:39-45. DOI: 10.4137/CMC.S21712

Информация об авторах:

Пономарцева Дарья Александровна, врач-эндокринолог, эндокринологическое отделение, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Хушкина Анастасия Юрьевна, врач-кардиолог, кардиологическое отделение с палатой реанимации и интенсивной терапии для больных с острым коронарным синдромом, региональный сосудистый центр ОБУЗ «КОМКБ»;

Костарева Анна Александровна, д.м.н., доцент кафедры внутренних болезней Института медицинского образования, директор Института молекулярной биологии и генетики, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Бабенко Алина Юрьевна, д.м.н., профессор кафедры внутренних болезней Института медицинского образования, главный научный сотрудник научно-исследовательской лабораторией диabetологии, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России; руководитель научно-исследовательского отдела генетических рисков и персонализированной профилактики, Научный центр мирового уровня «Центр персонализированной медицины».

Author information:

Daria A. Ponomartseva, endocrinologist of endocrine department, Almazov National Medical Research Centre;

Anastasiya Yu. Hushkina, cardiologist of the cardiology department with intensive care unit for patients with acute coronary syndrome, regional vascular center, Kursk Regional Multidisciplinary Clinical Hospital;

Anna A. Kostareva, MD, PhD, assistant professor, institute of medical education, director of the Institute of Molecular Biology and Genetics, Almazov National Medical Research Centre;

Alina Yu. Babenko, Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Internal Diseases of the Institute, Head of the Research Laboratory of Prediabetes and Metabolic Disorders, Head of the Research Laboratory of Diabetology, Almazov National Medical Research Centre; Head of the Research Department of Genetic Risks and Personalized Prevention, World-Class Scientific Center "Center for Personalized Medicine".