

## АССОЦИАЦИЯ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ RS62116755 ГЕНА *GACAT3*, RS12170546 ГЕНА *PARVB*, RS16994849 ГЕНА *PLCB1*, RS78143315 ГЕНА *PDCD6IP* С ВНЕЗАПНОЙ СЕРДЕЧНОЙ СМЕРТЬЮ

Иванова А. А.<sup>1</sup>, Максимов В. Н.<sup>1,2</sup>, Малютина С. К.<sup>1,2</sup>, Новоселов В. П.<sup>2,3</sup>, Савченко С. В.<sup>2,3</sup>, Воевода М. И.<sup>1</sup>

**Цель.** Проверка ассоциации с внезапной сердечной смертью (ВСС) однонуклеотидных полиморфизмов rs62116755 гена *GACAT3*, rs12170546 гена *PARVB*, rs16994849 гена *PLCB1*, rs78143315 гена *PDCD6IP*, которые были выявлены в собственном полногеномном ассоциативном исследовании как молекулярно-генетические маркеры ВСС.

**Материал и методы.** Группа ВСС (n=388, средний возраст 52,9±9,2 лет, мужчины — 77,2%, женщины — 22,8%) сформирована с использованием критериев ВСС Всемирной Организации Здравоохранения и Европейского общества кардиологов. Группа контроля (n=387, средний возраст 52,4±8,8 лет, мужчины — 62,3%, женщины — 37,7%) подобрана по полу и возрасту из банка ДНК международных исследований MONICA, HAPIEE. ДНК выделена методом фенол-хлороформной экстракции. Генотипирование выполнено методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов.

**Результаты.** Не выявлено ассоциации с ВСС однонуклеотидных полиморфизмов rs62116755 гена *GACAT3*, rs78143315 гена *PDCD6IP*. В группе ВСС доля носителей генотипа ТТ полиморфизма rs12170546 гена *PARVB* статистически значимо больше, а генотипа ТС значимо меньше, чем в контрольной группе (ОШ =1,66, 95% ДИ 1,25-2,21, p=0,001; ОШ =0,67, 95% ДИ 0,50-0,90, p=0,009, соответственно). В группе младше 50 лет частота носителей генотипа GG полиморфизма rs16994849 гена *PLCB1* статистически значимо больше, а генотипа AA меньше по сравнению с контрольной группой (ОШ =4,92, 95% ДИ 1,01-23,20, p=0,032; ОШ =0,54, 95% ДИ 0,31-0,93, p=0,029, соответственно). В группе мужчин старше 50 лет доля носителей генотипа GG полиморфизма rs16994849 гена *PLCB1* значимо меньше, чем в контрольной группе (ОШ =0,11, 95% ДИ 0,01-0,91, p=0,024).

**Заключение.** Однонуклеотидные полиморфизмы rs62116755 гена *GACAT3*, rs78143315 гена *PDCD6IP* не связаны с ВСС. Генотип ТТ полиморфизма rs12170546 гена *PARVB* является генотипом риска ВСС, а генотип ТС обладает протективным эффектом в ее отношении. Генотип GG полиморфизма rs16994849 гена *PLCB1* является генотипом риска ВСС для лиц младше 50 лет и обладает протективным эффектом в группе старше 50 лет. Генотип AA полиморфизма rs16994849 гена *PLCB1* обладает протективным эффектом в отношении ВСС для лиц младше 50 лет.

**Ключевые слова:** внезапная сердечная смерть, GWAS, *GACAT3*, *PARVB*, *PLCB1*, *PDCD6IP*.

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины — филиал ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск; <sup>2</sup>ГБОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Новосибирск; <sup>3</sup>Новосибирское областное клиническое бюро судебно-медицинской экспертизы, Новосибирск, Россия.

Иванова А. А.\* — к.м.н., м.н.с. лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, Максимов В. Н. — д.м.н., доцент, зав. лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, профессор кафедры медицинской генетики и биологии медико-профилактического факультета, Малютина С. К. — д.м.н., профессор, профессор кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки врачей, зав. лабораторией этиопатогенеза и клиники внутренних заболеваний, Новоселов В. П. — д.м.н., профессор, начальник, Савченко С. В. — д.м.н., профессор, профессор кафедры судебной медицины лечебного факультета, Воевода М. И. — д.м.н., профессор, академик РАН, директор.

\*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):  
ivanova\_a\_a@mail.ru

HAPIEE — Health, Alcohol and Psychosocial factors In Eastern Europe, MONICA — Multinational MONItoring of trends and determinants in Cardiovascular disease, ВСС — внезапная сердечная смерть, ЛПВП — липопротеины высокой плотности, ЛПНП — липопротеины низкой плотности, ОНП — однонуклеотидный полиморфизм.

Рукопись получена 12.05.2017  
Рецензия получена 04.06.2017  
Принята к публикации 13.06.2017

Российский кардиологический журнал 2017, 10 (150): 23–28

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-23-28>

## ASSOCIATION OF THE MONONUCLEOTIDE POLYMORPHISMS RS62116755 OF GENE *GACAT3*, RS12170546 OF GENE *PARVB*, RS16994849 OF GENE *PLCB1*, RS78143315 OF GENE *PDCD6IP* WITH SUDDEN CARDIAC DEATH

Ivanova A. A.<sup>1</sup>, Maksimov V. N.<sup>1,2</sup>, Malyutina S. K.<sup>1,2</sup>, Novoselov V. P.<sup>2,3</sup>, Savchenko S. V.<sup>2,3</sup>, Voevoda M. I.<sup>1</sup>

**Aim.** To check the association of sudden cardiac death (SCD) with mononucleotide polymorphisms rs62116755 gene *GACAT3*, rs12170546 gene *PARVB*, rs16994849 gene *PLCB1*, rs78143315 gene *PDCD6IP*, that were set as genetic markers of SCD in previous full-genome associative original study.

**Material and methods.** Group of SCD (n=388, mean age 52,9±9,2 y.o., males — 77,2%, females — 22,8%) was formed by the SCD criteria of World Health Organization and European Society of Cardiology. Controls matched by sex and age (n=387, mean age 52,4±8,8 y.o., males — 62,3%, females — 37,7%) from the DNA banks of international studies MONICA, HAPIEE. Separation of DNA was done with the phenol-chloroform extraction. Genotyping was done by polymerase chain reaction with further polymorphism analysis of the lengths of restriction fragments.

**Results.** There was no association with SCD of the mononucleotide polymorphisms rs62116755 gene *GACAT3*, rs78143315 gene *PDCD6IP*. In SCD group the number

of TT carriers rs12170546 gene *PARVB* was significantly lower than in controls (OR =1,66, 95% CI 1,25-2,21, p=0,001; OR =0,67, 95% CI 0,50-0,90, p=0,009, respectively). In the group younger than 50 y.o. the number of GG carriers rs16994849 gene *PLCB1* was significantly higher, and of genotype AA — lower, comparing to the controls (OR =4,92, 95% CI 1,01-23,20, p=0,032; OR =0,54, 95% CI 0,31-0,93, p=0,029, respectively). In males older than 50 the part of GG carriers rs16994849 gene *PLCB1* was significantly lower than in control group (OR =0,11, 95% CI 0,01-0,91, p=0,024).

**Conclusion.** Mononucleotide polymorphisms rs62116755 gene *GACAT3*, rs78143315 gene *PDCD6IP* were not related to SCD. Genotype TT of polymorphism rs12170546 gene *PARVB* is a genotype of risk of SCD, and genotype TC is protective. Genotype GG of polymorphism rs16994849 gene *PLCB1* is the genotype of risk for SCD for those younger than 50 y.o. and is protective in those older than

50. Genotype AA of polymorphism rs16994849 gene *PLCB1* is protective against SCD in those younger 50 y.o.

**Russ J Cardiol** 2017, 10 (150): 23–28

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-23-28>

**Key words:** sudden cardiac death, GWAS, *GACAT3*, *PARVB*, *PLCB1*, *PDCD6IP*.

В ходе проведения собственного полногеномного ассоциативного исследования внезапной сердечной смерти (ВСС) был получен список возможных новых молекулярно-генетических маркеров ВСС. Исследование проведено в центре “Биоинженерия” РАН на платформе Illumina Omni1S-8v1H12, содержащей 1,2 млн маркеров. Для анализа на чипе использовали хранимую ДНК группы ВСС (200 мужчин) и контрольной группы (200 мужчин, участников проекта HAPIEE). Исследование проводилось в двух репликах. После попарного сравнения выборок по частотам полиморфизмов получен список возможных новых молекулярно-генетических маркеров ВСС [1]. Выявленные новыми высокотехнологичными методами молекулярно-генетические маркеры требуют обязательной проверки в исследованиях дизайна “случай-контроль” для исключения ложноположительных результатов. Таким образом, целью данного исследования является проверка ассоциации с ВСС некоторых однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП), выявленных в качестве молекулярно-генетических маркеров ВСС в собственном полногеномном ассоциативном исследовании.

### Материал и методы

Дизайн исследования — “случай-контроль”.

Группа ВСС (n=388, средний возраст 52,9±9,2 лет, мужчины — 77,2%, женщины — 22,8%) сформирована с использованием критериев Всемирной Организации Здравоохранения и Европейского общества кардиологов. Согласно критериям, ВСС определяется как ненасильственная, неожиданная смерть, наступившая вследствие сердечной патологии, характеризующаяся развитием летального исхода в течение одного часа с момента возникновения острых симптомов. При отсутствии свидетелей смерти необходимо, чтобы состояние здоровья умершего оценивалось окружающими как стабильное и не вызывающее опасений в срок до 24 часов с установленного времени смерти [1]. В группу ВСС включены лица, умершие вне лечебно-профилактических учреждений на территории Октябрьского района г. Новосибирска, после проведения судебно-медицинского исследования причиной смерти которых была признана сердечная патология. Основные патологоанатомические диагнозы лиц, включенных в группу ВСС: острая коронарная недостаточность и острая недостаточность кровообращения, которые удовлет-

<sup>1</sup>SRI of Therapy and Prevention Medicine — branch of FSBSI Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of SD RAS, Novosibirsk; <sup>2</sup>Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk; <sup>3</sup>Novosibirsk Oblast Clinical Bureau of Forensic Expertise, Novosibirsk, Russia.

воряют критериям ВСС Всемирной Организации Здравоохранения и Европейского общества кардиологов [2]. Из группы исключены лица, находившиеся в состоянии алкогольного и наркотического опьянения, которое могло спровоцировать развитие летального исхода. Также исключены лица с патологоанатомическими диагнозами гипертрофическая кардиомиопатия, острый инфаркт миокарда. В ходе проведения аутопсии у умерших забиралась ткань миокарда массой 5-10 г, которая хранилась в дальнейшем при температуре -20° С до этапа выделения ДНК.

Группа контроля (n=387, средний возраст 52,4±8,8 лет, мужчины — 62,3%, женщины — 37,7%) подобрана по полу и возрасту из банка ДНК международных исследований Multinational MONItoring of trends and determinants in CARDiovascular disease (MONICA) и Health, Alcohol and Psychosocial factors In Eastern Europe (HAPIEE). В ходе проведения исследований у участников была забрана венозная кровь в пробирки с ЭДТА, которая хранилась в дальнейшем при температуре -20° С до этапа выделения ДНК.

Выделение ДНК выполнено методом фенол-хлороформной экстракции из ткани миокарда и венозной крови [3].

Выбор ОНП из списка возможных новых молекулярно-генетических маркеров ВСС осуществлялся, учитывая локализацию, функциональную характеристику ОНП, частоту редкого аллеля в популяции, литературные данные по связи других ОНП гена, в котором локализован исследуемый ОНП, с ВСС, сердечно-сосудистой патологией или другой патологией, которая играет роль в патогенезе ВСС. Таким образом, выбраны четыре полиморфизма: rs62116755 гена *GACAT3*, rs12170546 гена *PARVB*, rs16994849 гена *PLCB1*, rs78143315 гена *PDCD6IP*.

Генотипирование по выбранным ОНП выполнено методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов. Детекцию продуктов амплификации и рестрикции осуществляли методом электрофореза в 5% полиакриламидном геле с последующим окрашиванием бромистым этидием (EtBr).

Для генотипирования по rs62116755 гена *GACAT3* использовали праймеры: 5'-GGAGTGACACTGGAACATCAGT -3'(F) и 5'-CAGGAAAAGTTGCTGAGTTGТАСТА -3'(R). Смесь для ПЦР объемом 25 мкл включала: Трис-НСI (рН 9,0) 75 мМ, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 20мМ, Tween-20,01%, 2,5 мМ

MgCl<sub>2</sub>, по 0,3 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единицу активности Таq-ДНК-полимеразы (“СибЭнзим”, Новосибирск). Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 33 цикла, включающих денатурацию 95° С 30 сек, отжиг праймеров 56° С 30 сек и элонгацию 72° С 30 сек. Рестрикцию проводили с 10 единицами активности рестриктазы HaeIII (“СибЭнзим”, Новосибирск). Размер продукта амплификации 167 п.н. После проведения рестрикции при генотипе TT определялся продукт 167 п.н., при CC генотипе — продукты 89 п.н. и 78 п.н., при гетерозиготном генотипе СТ все перечисленные продукты: 167 п.н., 89 п.н., 78 п.н.

Для генотипирования по rs12170546 гена *PARVB* использовали праймеры: 5'-GGTGCCTGGCAAACAGA -3'(F) и 5'-TTCCACTTCCCAGGAGAC -3'(R). Смесь для ПЦР объемом 25 мкл включала: Трис-НСI (рН 9,0) 75 мМ, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 20мМ, Tween-20,01%, 2,5 мМ MgCl<sub>2</sub>, по 0,4 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единицу активности Таq-ДНК-полимеразы (“СибЭнзим”, Новосибирск). Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 33 цикла, включающих денатурацию 95° С 30 сек, отжиг праймеров 58° С 30 сек и элонгацию 72° С 30 сек. Рестрикцию проводили с 10 единицами активности рестриктазы BamH I (“СибЭнзим”, Новосибирск). Размер продукта амплификации 115 п.н. После проведения рестрикции при генотипе TT определялся продукт 115 п.н., при CC генотипе — продукты 79 п.н. и 36 п.н., при гетерозиготном генотипе TC все перечисленные продукты: 115 п.н., 79 п.н., 36 п.н.

Для генотипирования по rs16994849 гена *PLCB1*, использовали праймеры: 5'-ACTGATAATTTAGTGAATAAAGTGTGCG -3'(F) и 5'-AAGAAAAAGATCAGAGTTATCCTAAAA -3'(R). Смесь для ПЦР объемом 25 мкл включала: Трис-НСI (рН 9,0) 75 мМ, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 20мМ, Tween-20,01%, 3,0 мМ MgCl<sub>2</sub>, по 0,8 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единицу активности Таq-ДНК-полимеразы (“СибЭнзим”, Новосибирск). Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 33 цикла, включающих денатурацию 95° С 30 сек, отжиг праймеров 58° С 30 сек и элонгацию 72° С 30 сек. Рестрикцию проводили с 10 единицами активности рестриктазы TaqI (“СибЭнзим”, Новосибирск). Размер продукта амплификации 189 п.н. После проведения рестрикции при генотипе GG определялся продукт 189 п.н., при AA генотипе — продукты 162 п.н. и 27 п.н., при гетерозиготном генотипе AG все перечисленные продукты: 189 п.н., 162 п.н., 27 п.н.

Для генотипирования по rs78143315 гена *PDCD6IP* использовали праймеры: 5'-CCTGGGGAATGGAGGTTGGGGATCTTAACAATCATG -3'(F) и 5'-TGAGCCCAATTAACSTCCACAGAAGCG -3'(R).

Смесь для ПЦР объемом 25 мкл включала: 10 мкл 2,5-кратной смеси для ПЦР-РВ №М-428 (ЗАО “Синтол”), 3,5 мМ MgCl<sub>2</sub>, по 0,6 мМ каждого праймера. Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 33 цикла, включающих денатурацию 95° С 30 сек, отжиг праймеров 60° С 30 сек и элонгацию 72° С 30 сек. Рестрикцию проводили с 10 единицами активности рестриктазы AsplI (“СибЭнзим”, Новосибирск). Размер продукта амплификации 216 п.н. После проведения рестрикции при генотипе AA определялся продукт 216 п.н., при GG генотипе — продукты 192 п.н. и 24 п.н., при гетерозиготном генотипе GA все перечисленные продукты: 216 п.н., 192 п.н., 24 п.н.

Полученные результаты статистически обработаны с помощью пакета программ SPSS 16.0, определены частоты генотипов и аллелей, изучаемых ОНП в группе ВСС и в контрольной группе, в контрольной группе с использованием критерия хи-квадрат оценено соответствие частот генотипов равновесию Харди-Вайнберга. Сравнение групп по частотам генотипов и аллелей выполнено с помощью таблиц сопряженности с использованием критерия хи-квадрат по Пирсону. В случае четырёхпольных таблиц применен точный двусторонний критерий Фишера с поправкой Йетса на непрерывность. Относительный риск ВСС по конкретному аллелю или генотипу вычислен как отношение шансов (ОШ) с использованием точного двухстороннего критерия Фишера и критерия хи-квадрат по Пирсону. В качестве уровня значимости использовали  $p < 0,05$ .

С целью более полного понимания причастности ОНП к развитию ВСС в контрольной группе на предмет ассоциации с выбранными ОНП рассмотрены антропометрические (систолическое, диастолическое, пульсовое артериальное давление, частота сердечных сокращений, индекс массы тела, окружность талии), биохимические параметры (концентрация липопротеинов низкой (ЛПНП) и высокой плотности (ЛПВП), триглицеридов, общего холестерина, глюкозы), а в группе ВСС — данные морфологического исследования (масса сердца, толщина межжелудочковой перегородки, левого и правого желудочка). Нормальность распределения параметров исследована с использованием теста Колмогорова-Смирнова. При нормальном распределении дальнейшие расчеты проведены с использованием теста ANOVA, при отклонении от нормального распределения использован тест Крускалла-Уоллиса. В качестве уровня значимости также использовали  $p < 0,05$ .

### Результаты

В контрольной группе наблюдаемые частоты генотипов ОНП rs62116755 гена *GACAT3*, rs12170546 гена *PARVB*, rs16994849 гена *PLCB1*, rs78143315 гена *PDCD6IP* соответствуют ожидаемым частотам

Таблица 1

**Частоты генотипов и аллелей полиморфизмов rs62116755 гена GACAT3, rs78143315 гена PDCD6IP в группе ВСС и контрольной группе**

ОНП	rs62116755 гена GACAT3				rs78143315 гена PDCD6IP				
	Группа ВСС		Контрольная группа		Генотип/аллель	Группа ВСС		Контрольная группа	
	n	%	n	%		n	%	n	%
ТТ	18	4,6	14	3,8	AA	1	0,3	1	0,3
СТ	109	28,2	103	27,7	GA	38	9,8	32	8,4
СС	260	67,2	255	68,5	GG	349	89,9	347	91,3
Достоверность различий (p)	0,81				Достоверность различий (p)	0,80			
Аллель Т	0,19		0,18		Аллель А	0,05		0,04	
Аллель С	0,81		0,82		Аллель G	0,95		0,96	

Таблица 2

**Частоты генотипов и аллелей полиморфизма rs12170546 гена PARVB в группе ВСС и контрольной группе**

Генотип/аллель	Группа ВСС		Контрольная группа	
	n	%	n	%
ТТ*	239	62,1	192	49,6
ТС*	123	31,9	159	41,1
СС	23	6,0	36	9,3
Достоверность различий (p)	0,002			
Аллель Т	0,78		0,7	
Аллель С	0,22		0,3	

Примечание: \* — указывает на статистически значимые различия.

Таблица 4

**Частоты генотипов и аллелей полиморфизма rs16994849 гена PLCB1 в группе младше 50 лет**

Генотип/аллель	Группа ВСС		Контрольная группа	
	n	%	n	%
GG*	9	6,6	2	1,4
AG	35	25,7	27	19,1
AA*	92	67,6	112	79,5
Достоверность различий (p)	0,025			
Аллель G	0,19		0,11	
Аллель А	0,81		0,89	

Примечание: \* — указывает на статистически значимые различия.

Таблица 3

**Частоты генотипов и аллелей полиморфизма rs12170546 гена PARVB в группе мужчин**

Генотип/аллель	Группа ВСС		Контрольная группа	
	n	%	n	%
ТТ*	181	65,6	119	49,4
ТС*	80	29,0	99	41,1
СС	15	5,4	23	9,5
Достоверность различий (p)	0,001			
Аллель Т	0,8		0,7	
Аллель С	0,2		0,3	

Примечание: \* — указывает на статистически значимые различия.

Таблица 5

**Частоты генотипов и аллелей полиморфизма rs16994849 гена PLCB1 в группе мужчин старше 50 лет**

Генотип/аллель	Группа ВСС		Контрольная группа	
	n	%	n	%
GG*	1	0,6	7	5,3
AG	50	30,5	40	30,1
AA	113	68,9	86	64,7
Достоверность различий (p)	0,047			
Аллель G	0,16		0,2	
Аллель А	0,84		0,8	

Примечание: \* — указывает на статистически значимые различия.

согласно равновесию Харди-Вайнберга ( $\chi^2=0,78$ ; 0,14; 1,54; 0,08, соответственно).

По частотам генотипов и аллелей полиморфизмов rs62116755 гена GACAT3, rs78143315 гена PDCD6IP не выявлено статистически значимых различий между группами (табл. 1).

В группе ВСС доля носителей генотипа ТТ полиморфизма rs12170546 гена PARVB статистически значимо больше, а генотипа ТС значимо меньше, чем в контрольной группе (ОШ =1,66, 95% ДИ 1,25-2,21, p=0,001; ОШ =0,67, 95% ДИ 0,50-0,90, p=0,009, соответственно) (табл. 2). При разделении групп по полу и возрасту данные различия сохраняются только в группе мужчин (табл. 3). В группе мужчин для генотипа ТТ отношение шансов составляет 1,95 (95% ДИ

1,37-2,78, p=0,0002), а для генотипа ТС — 0,59 (95% ДИ 0,41-0,84, p=0,004).

В возрастной категории до 50 лет в группе ВСС частота носителей генотипа GG полиморфизма rs16994849 гена PLCB1 статистически значимо выше, а генотипа AA ниже по сравнению с контрольной группой (ОШ =4,92, 95% ДИ 1,01-23,20, p=0,032; ОШ =0,54, 95% ДИ 0,31-0,93, p=0,029, соответственно) (табл. 4). В группе мужчин старше 50 лет, умерших ВСС, доля носителей генотипа GG полиморфизма rs16994849 гена PLCB1 значимо меньше, чем в контрольной группе соответствующего пола и возраста (ОШ =0,11, 95% ДИ 0,01-0,91, p=0,024) (табл. 5).

В контрольной группе выявлена ассоциация генотипов полиморфизма rs62116755 гена GACAT3 с кон-

Таблица 6

Концентрация липопротеинов высокой плотности в зависимости от генотипа полиморфизма rs62116755 гена *GACAT3* в контрольной группе

Генотип	Концентрация липопротеинов высокой плотности Me (Q25-Q75), мг/дл	Достоверность различий (p)
ТТ	62,0 (53,0-69,5)	0,005
СТ	60,0 (52,0-72,25)	
СС	54,0 (46,25-66,0)	

Примечание: Me — медиана, Q25 — 25-й процентиль, Q75 — 75-й процентиль.

центрацией ЛПВП ( $p=0,005$ ) (табл. 6). У носителей генотипа СС уровень ЛПВП значимо меньше, чем у носителей генотипов ТТ и ТС ( $p=0,001$ ) (табл. 7). Также в контрольной группе выявлена ассоциация генотипов полиморфизма rs78143315 гена *PDCD61P* с концентрацией ЛПНП ( $p=0,036$ ). У носителей генотипа GA концентрация ЛПНП ниже ( $101,57 \pm 35,33$  мг/дл), чем у носителей генотипов AA и GG ( $121,61 \pm 42,83$  мг/дл) ( $p=0,019$ ). Кроме того, в группе ВСС у носителей генотипа GA толщина левого желудочка значимо больше, чем у носителей генотипов GG и AA ( $p=0,005$ ) (табл. 8).

### Обсуждение

Однонуклеотидные полиморфизмы rs62116755 гена *GACAT3*, rs12170546 гена *PARVB*, rs16994849 гена *PLCB1*, rs78143315 гена *PDCD61P*, согласно данным литературы, ранее не были включены ни в одно исследование.

Однонуклеотидный полиморфизм rs62116755 (g.16071334C>T) локализован в интроне гена *GACAT3*. Частота редкого аллеля Т в европейской популяции составляет около 12%. Ген *GACAT3* (gastric cancer associated transcript 3, 2p24.3) не является протеинкодирующим геном, его продуктом является транскрипт, ассоциированный с раком желудка [4]. Длинные некодирующие РНК играют важную роль в возникновении и развитии онкологических заболеваний. Длина таких транскриптов составляет более 200 нуклеотидов, они регулируют экспрессию генов на разных уровнях [5]. Показана связь транскрипта, кодируемого геном *GACAT3*, с размером опухоли, метастазированием и стадией по классификации TNM у пациентов с раком желудка. Однако роль *GACAT3* в патогенезе данной нозологии пока остается не известной [6]. Согласно полученным нами результатам, полиморфизм rs62116755 гена *GACAT3* не ассоциирован с ВСС. Однако выявлена связь полиморфизма с концентрацией ЛПВП. Носители генотипа СС имеют уровень ЛПВП значимо меньший, чем носители генотипов ТТ и ТС. Таким образом, возможно, полиморфизм rs62116755 гена *GACAT3* имеет отношение к нарушениям липидного обмена, но дан-

Таблица 7

Концентрация липопротеинов высокой плотности в зависимости от генотипа полиморфизма rs62116755 гена *GACAT3* в контрольной группе при использовании доминантной модели

Генотип	Концентрация липопротеинов высокой плотности Me (Q25-Q75), мг/дл	Достоверность различий (p)
ТТ+СТ	60,0 (52,25-72,0)	0,001
СС	54,0 (46,25-66,0)	

Примечание: Me — медиана, Q25 — 25-й процентиль, Q75 — 75-й процентиль.

Таблица 8

Толщина левого желудочка в зависимости от генотипа полиморфизма rs78143315 гена *PDCD61P* в группе ВСС

Генотип	Толщина левого желудочка Me (Q25-Q75), см	Достоверность различий (p)
GG+AA	1,5 (1,4-1,7)	0,005
GA	1,75 (1,6-1,98)	

Примечание: Me — медиана, Q25 — 25-й процентиль, Q75 — 75-й процентиль.

ное предположение требует дополнительного исследования в фокусной группе.

Однонуклеотидный полиморфизм rs12170546 локализован в интроне гена *PARVB* (с.112+2002T>C), частота редкого аллеля С в популяции составляет около 35%. Ген *PARVB* (parvin beta, 22q13.31) кодирует  $\beta$ -парвин, который является частью актинсвязывающих протеинов, которые играют роль в организации цитоскелета и клеточной адгезии [7]. Белок *PARVB* состоит из 364 аминокислот. Альтернативный сплайсинг гена *PARVB* приводит к синтезу двух протеинов, состоящих из 350 и 313 аминокислот [8]. В отличие от  $\alpha$ -парвина и  $\gamma$ -парвина,  $\beta$ -парвин экспрессируется преимущественно в сердце и скелетной мускулатуре [9]. В селезенке и тромбоцитах экспрессируются в основном короткие формы  $\beta$ -парвина [8]. Изменения в гене играют роль в развитии рестеноза после проведения чрескожного коронарного вмешательства. Показана ассоциация с рестенозом для ряда полиморфизмов гена *PARVB*, наиболее статистически значимая ассоциация выявлена для полиморфизма rs139107 ( $p<0,001$ ). Экстраклеточное ремоделирование, миграция и пролиферация гладкомышечных клеток сосудов считаются ключевыми процессами в развитии рестеноза. А  $\beta$ -парвин является модулятором клеточной выживаемости и играет важную роль в ангиогенезе [9]. Белок *PARVB* также имеет отношение к опухолевой супрессии [7]. Полученные нами результаты позволяют сделать вывод, что генотип ТТ полиморфизма rs12170546 гена *PARVB* является генотипом риска ВСС, а генотип ТС обладает протективным эффектом в ее отношении. При этом при разделении групп по полу и возрасту различия сохраня-

ются в группе мужчин, что говорит о наибольшем развитии эффекта генотипов полиморфизма в отношении ВСС именно в группе мужчин.

Однонуклеотидный полиморфизм rs16994849 локализован в интроне гена *PLCB1* (с.247-118080A>G), частота редкого аллеля G в европейской популяции составляет около 14%. Ген *PLCB1* (phospholipase C beta 1, 20p12.3) кодирует одну из четырех изоформ фермента фосфолипазы бета, которая катализирует образование инозитол 1,4,5-трифосфата и диацилглицерола из фосфатидинозитол 4,5-бисфосфата. Эта реакция играет важную роль во внутриклеточной передаче многих внеклеточных сигналов [10]. Гиперэкспрессия гена вызывает развитие гипертрофии кардиомиоцитов. В ряде крупных исследований показана связь вариантов гена *PLCB1* с уровнем аполипотеина В, холестерина, ЛПВП крови, индексом массы тела и инсультом. Варианты в гене *PLCB1* связывают с предрасположенностью к образованию аневризм коронарных артерий у пациентов с синдромом Кавасаки [11]. Согласно результатам нашего исследования, генотип GG полиморфизма rs16994849 гена *PLCB1* является генотипом риска, а генотип AA обладает протективным эффектом в отношении ВСС для лиц младше 50 лет. В группе старше 50 лет генотип GG полиморфизма связан с протективным эффектом в отношении ВСС. Таким образом, полученные нами данные об ассоциации генотипа GG полиморфизма с ВСС являются довольно противоречивыми, что может быть связано с недостаточно большими по численности возрастными группами. Чтобы сделать однозначные выводы об ассоциации полиморфизма rs16994849 гена *PLCB1* с ВСС, необходимо провести дополнительное исследование с увеличением численности групп.

Однонуклеотидный полиморфизм rs78143315 локализован в интроне гена *PDCD6IP* (с.209+3156G>A). Частота редкого аллеля A в европейской популяции составляет около 4%. Ген *PDCD6IP* (programmed cell death 6 interacting protein, 3p22.3) кодирует протеин,

который играет роль в цитокинезе, формировании внутриполостных эндосом. Гиперэкспрессия гена может блокировать апоптоз [12]. Ген *PDCD6IP* относят к генам онкологической предрасположенности [13]. По результатам проведенного исследования не выявлено ассоциации с ВСС полиморфизма rs78143315 гена *PDCD6IP*. Однако показана ассоциация полиморфизма с концентрацией ЛПНП в группе контроля и толщиной левого желудочка в группе ВСС, что может говорить о связи ОНП с липидным обменом и гипертрофией миокарда, но полученные результаты требуют обязательной проверки в целевых группах по данным нарушениям.

### Заключение

Генотип ТТ полиморфизма rs12170546 гена *PARVB* является генотипом риска ВСС, а генотип ТС обладает протективным эффектом в ее отношении, с большим развитием эффекта в группе мужчин. Генотип GG полиморфизма rs16994849 гена *PLCB1* является генотипом риска ВСС для лиц младше 50 лет и обладает протективным эффектом в группе старше 50 лет. В связи с неоднозначностью полученных результатов требуется дополнительное исследование на больших по размеру группах. Генотип AA полиморфизма rs16994849 гена *PLCB1* обладает протективным эффектом в отношении ВСС для лиц младше 50 лет.

Не выявлено ассоциации с ВСС однонуклеотидных полиморфизмов rs78143315 гена *PDCD6IP* и rs62116755 гена *GACAT3*. Показана ассоциация полиморфизма rs78143315 гена *PDCD6IP* с уровнем ЛПНП и толщиной левого желудочка, а полиморфизма rs62116755 гена *GACAT3* с уровнем ЛПВП.

**Благодарности.** Исследование выполнено при поддержке стипендии Правительства Новосибирской области. Кроме того, работа частично поддержана бюджетными проектами № 0324-2016-0002 и № 0120.0502961.

### Литература

- Babenko VN, Maximov VN, Kulakova EV, et al. Genome analysis of pull DNA in human cohort. *Vavilovsky zhurnal genetiki i selektsii*, 2014; 18 (4-2): 847-55. (In Russ.) Бабенко В.Н., Максимов В.Н., Кулакова Е.В. и др. Полногеномный анализ пулированных выборок ДНК когорт человека. *Вавиловский журнал генетики и селекции*, 2014; 18 (4-2): 847-55.
- Priori SG, Aliot E, Blomstrom-Lundqvist C, et al. The Task Force for the Management of Patients with Ventricular Arrhythmias and the Prevention of Sudden Cardiac Death of the European Society of Cardiology (ESC). *Europace* 2015; 17 (11): 1601-87.
- Sambrook J, Russell DW. Purification of nucleic acids by extraction with phenol: chloroform. *CSH Protoc*. 2006; 2006 (1).
- GACAT3 gastric cancer associated transcript 3 (non-protein coding) [Homo sapiens (human)]. Database Gene. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/104797537> (20 April 2017)
- Sun W, Yang Y, Xu C, et al. Roles of long noncoding RNAs in gastric cancer and their clinical applications. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2016; 142 (11): 2231-7.
- Shen W, Yuan Y, Zhao M, et al. Novel long non-coding RNA GACAT3 promotes gastric cancer cell proliferation through the IL-6/STAT3 signaling pathway. *Tumour Biol*. 2016; 37 (11): 14895-902.
- PARVB parvin beta [Homo sapiens (human)]. Database Gene. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/29780> (20 April 2017)
- Sepulveda JL, Wu C. The parvins. *Cell Mol Life Sci*. 2006; 63 (1): 25-35.
- Verschuren JJ, Trompet S, Sampietro ML, et al. Pathway analysis using genome-wide association study data for coronary restenosis — a potential role for the PARVB gene. *PLoS One*. 2013; 8 (8): e70676.
- PLCB1 phospholipase C beta 1 [Homo sapiens (human)]. Database Gene. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/23236> (20 April 2017)
- Lin YJ, Chang JS, Liu X, et al. Genetic variants in PLCB4/PLCB1 as susceptibility loci for coronary artery aneurysm formation in Kawasaki disease in Han Chinese in Taiwan. *Sci Rep*. 2015; 5: 14762.
- PDCD6IP programmed cell death 6 interacting protein [Homo sapiens (human)]. Database Gene. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/10015> (20 April 2017)
- Yu Q, Zhou C, Wang J, et al. A functional insertion/deletion polymorphism in the promoter of PDCD6IP is associated with the susceptibility of hepatocellular carcinoma in a Chinese population. *DNA Cell Biol*. 2013; 32 (8): 451-7.