

Однонуклеотидные варианты rs6582147, rs10010305, rs2136810, rs17797829 как новые молекулярно-генетические маркеры внезапной сердечной смерти

Иванова А. А.¹, Максимов В. Н.^{1,2}, Моисеева Д. И.², Малютина С. К.^{1,2}, Новоселов В. П.³, Воевода М. И.¹

Цель. Подтверждение ассоциации с внезапной сердечной смертью (ВСС) однонуклеотидных полиморфизмов rs6582147, rs10010305, rs2136810, rs17797829, выявленных как наиболее вероятные кандидатные маркеры в собственном полногеномном ассоциативном исследовании.

Материал и методы. Группа ВСС (n=360, средний возраст 53,0±9,2 лет, мужчины — 76,9%, женщины — 23,1%) сформирована с использованием критериев ВСС Европейского общества кардиологов. Контрольная группа (n=402, средний возраст 52,9±9,1 лет, мужчины — 69,7%, женщины — 30,3%) 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 рестриционных фрагментов.

Результаты. Генотип GT rs6582147 ассоциирован с протективным эффектом в отношении ВСС (ОШ =0,671, 95% ДИ 0,496-0,909, p=0,011), а генотип GG — с повышенным риском ВСС (ОШ =1,598, 95% ДИ 1,195-2,135, p=0,002), с наибольшим развитием эффекта в группе мужчин старше 50 лет (p<0,05). Генотип СТ полиморфизма rs10010305 ассоциирован с ВСС в группе мужчин (ОШ =1,773, 95% ДИ 1,085-2,897, p=0,027), в группе мужчин старше 50 лет (p<0,05) и в группе лиц старше 50 лет без разделения по полу (ОШ =1,719, 95% ДИ 1,038-2,847, p=0,041). Генотип GG rs2136810 ассоциирован с повышенным риском ВСС (ОШ =1,372, 95% ДИ 1,005-1,871, p=0,049), в группе лиц старше 50 лет генотип GA rs2136810 ассоциирован с протективным эффектом в отношении ВСС (ОШ =0,642, 95% ДИ 0,422-0,976, p=0,045). В группе женщин генотип GG rs17797829 является протективным в отношении ВСС (ОШ =0,392, 95% ДИ 0,203-0,760, p=0,007), в группе женщин старше 50 лет кроме генотипа GG с ВСС ассоциирован генотип AA этого же полиморфизма (ОШ =2,739, 95% ДИ 2,176-3,448, p=0,020).

Заключение. Однонуклеотидные полиморфизмы rs6582147, rs10010305, rs2136810, rs17797829, выявленные в собственном полногеномном ассоциативном исследовании, подтвердили ассоциацию с ВСС по результатам реплицирующего исследования.

Российский кардиологический журнал. 2018;23(10):64–69
http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2018-10-64-69

Ключевые слова: внезапная сердечная смерть, GWAS, rs6582147, rs10010305, rs2136810, rs17797829.

Финансирование. Исследование выполнено при поддержке стипендии Президента Российской Федерации для молодых ученых и аспирантов, осуществ-

ляющих перспективные научные исследования и разработки по приоритетным направлениям модернизации российской экономики (СП-625.2018.4).

Конфликт интересов: не заявлен.

Благодарности. Авторы выражают глубокую признательность академику РАН Юрию Петровичу Никитину за предоставленную возможность сформировать контрольную группу на материале когорт HAPIEE и MONICA.

¹НИИ терапии и профилактической медицины — филиал ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск; ²ФГБОУ ВО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Новосибирск; ³Новосибирское областное клиническое бюро судебно-медицинской экспертизы, Новосибирск, Россия.

Иванова А. А.* — к.м.н., м.н.с. лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, ORCID: 0000-0002-9460-6294, Максимов В. Н. — д.м.н., профессор, зав. лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, профессор кафедры медицинской генетики и биологии медико-профилактического факультета, ORCID: 0000-0002-7165-4496, Моисеева Д. И. — ординатор, ORCID: 0000-0002-9814-2159, 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, ORCID: 0000-0001-6539-0466, Новоселов В. П. — д.м.н., профессор, начальник, ORCID: 0000-0002-6312-5543, Воевода М. И. — д.м.н., профессор, академик РАН, директор, ORCID: 0000-0001-9425-413X.

*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.

Рукопись получена 10.07.2018

Рецензия получена 05.09.2018

Принята к публикации 12.09.2018

Single nucleotide variants rs6582147, rs10010305, rs2136810, rs17797829 as new molecular genetic markers of sudden cardiac death

Ivanova A. A.¹, Maksimov V. N.^{1,2}, Moiseeva D. I.², Malyutina S. K.^{1,2}, Novoselov V. P.³, Voevoda M. I.¹

Aim. To confirm association between sudden cardiac death (SCD) and single nucleotide polymorphisms rs6582147, rs10010305, rs2136810, rs17797829, identified as the most likely candidate markers.

Material and methods. The SCD group (n=360, mean age 53,0±9,2 years, men — 76,9%, women — 23,1%) was formed using the SCD criteria of the European Society of Cardiology. The control group (n=402, mean age 52,9±9,1 years, men — 69,7%, women — 30,3%) was selected by gender and age from the DNA bank of international studies MONICA, HAPIEE. DNA is separated by phenol-chloroform extraction. Genotyping was performed by polymerase chain reaction followed by analysis of restriction fragment length polymorphism.

Results. The GT rs6582147 genotype is associated with a protective effect on SCD (OR=0,671, 95% CI 0,496-0,909, p=0,011), and the GG genotype with an increased

risk of SCD (OR=1,598, 95% CI 1,195-2,135, p=0,002). The greatest effect was in the group of men over 50 years old (p<0,05). The CT rs10010305 genotype is associated with SCD in the group of men (OR=1,773, 95% CI 1,085-2,897, p=0,027), in the group of men over 50 years old (p<0,05) and in the group of people over 50 years old without separation according to sex (OR=1,719, 95% CI 1,038-2,847, p=0,041). The GG rs2136810 genotype is associated with an increased risk of SCD (OR=1,372, 95% CI 1,005-1,871, p=0,049); in the group of people over 50, the GA rs2136810 genotype is associated with a protective effect against SCD (OR=0,642, 95% CI 0,422-0,976, p=0,045). In the group of women, the GG rs17797829 genotype is protective for SCD (OR=0,392, 95% CI 0,203-0,760, p=0,007), in the group of women over 50, except for the GG genotype, the AA genotype of the same polymorphism is associated (OR=2,739, 95% CI 2,176-3,448, p=0,020).

Conclusion. According to the results of study, single nucleotide polymorphisms rs6582147, rs10010305, rs2136810, rs17797829 confirmed the association with SCD.

Russian Journal of Cardiology. 2018;23(10):64–69

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2018-10-64-69>

Key words: sudden cardiac death, GWAS, rs6582147, rs10010305, rs2136810, rs17797829.

Funding. The study was carried out with the support of a scholarship of RF President for young scientists and postgraduates realizing advanced research and development works in priority areas for the modernization of the Russian economy (SP-625.2018.4).

Conflicts of Interest: nothing to declare.

Согласно критериям Европейского общества кардиологов, внезапная сердечная смерть (ВСС) определяется, как нетравматический, неожиданный летальный исход, наступивший в течение 1 часа со времени манифестации симптомов у вероятно здорового индивида. При отсутствии свидетелей временной интервал увеличивается до 24 часов, с момента, когда умершего видели последний раз живым и в стабильном состоянии. Причиной ВСС может быть врожденное или приобретенное потенциально фатальное заболевание сердца, известное при жизни умершего; сердечная или сосудистая аномалия, выявленная в ходе аутопсии, и, вероятно, приведшая к летальному исходу. В случае если причина внезапной смерти не установлена после проведения качественного судебно-медицинского исследования, наиболее вероятной причиной ВСС считают аритмию [1]. Частота ВСС в США достигает уровня 250–300 тыс. смертей в год, средняя ежегодная частота ВСС в индустриально развитых странах рассчитана как 50–100 на 100 тыс. человек. Таким образом, эпидемиологические данные делают ВСС крупной проблемой современного здравоохранения [2]. Кроме того, проблема ВСС имеет и социальный аспект, поскольку среди молодых людей частота ВСС составляет 1,3–8,5 случаев на 100 тыс. молодых людей [3]. Причинами ВСС в возрасте до 35 лет являются миокардиты, заболевания клапанов сердца, врожденные аномалии коронарных артерий, кардиомиопатии, наследственные каналопатии [2, 4]. До 30% ВСС у молодых наступают из-за наследственных аритмий (синдром удлиненного, укороченного интервала QT, синдром Бругада, катехоламинергическая полиморфная желудочковая тахикардия). В старшем возрасте на первый план выходит ишемическая болезнь сердца. Выживаемость лиц с ВСС по-прежнему остается невысокой, даже при нахождении в лечебно-профилактическом учреждении [2].

С целью модернизации системы диагностики и профилактики ВСС активно изучаются молекулярно-генетические маркеры данной нозологии.

Acknowledgments. The authors express their deep gratitude to RAS academician Yuri P. Nikitin for the opportunity to form a control group based on the material of the HAPIEE and MONICA cohorts.

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

Ivanova A. A. ORCID: 0000-0002-9460-6294, Maksimov V. N. ORCID: 0000-0002-7165-4496, Moiseeva D. I. ORCID: 0000-0002-9814-2159, Maljutina S. K. ORCID: 0000-0001-6539-0466, Novoselov V. P. ORCID: 0000-0002-6312-5543, Voevoda M. I. ORCID: 0000-0001-9425-413X.

Received: 10.07.2018 **Revision Received:** 05.09.2018 **Accepted:** 12.09.2018

Современные исследования проводятся высокотехнологичными новейшими методами молекулярно-генетического анализа, что позволяет получить большее количество новой информации в кратчайшие сроки. Однако полученные такими методами результаты сопряжены с необходимостью обязательной дальнейшей проверки с целью подтверждения полученных ассоциаций и связей.

По результатам собственного полногеномного ассоциативного исследования ВСС был получен перечень вероятных кандидатных полиморфизмов ВСС. Исследование проведено в центре “Биоинженерия” РАН на платформе Illumina Omni1S-8v1H12, содержащей 1,2 млн маркеров с использованием пулированной ДНК 200 мужчин умерших ВСС и пулированной ДНК 200 мужчин — участников проекта Health, Alcohol and Psychosocial factors In Eastern Europe (HAPIEE) по схеме “случай–контроль” [5]. Полученные в ходе полногеномных ассоциативных исследований результаты требуют обязательной валидации в исследованиях дизайна “случай–контроль” с использованием рутинных методов молекулярно-генетического анализа для исключения ложноположительного включения в перечень кандидатных маркеров нозологии. Целью данного исследования является подтверждение ассоциации с ВСС однонуклеотидных полиморфизмов rs6582147, rs10010305, rs2136810, rs17797829, включенных в перечень наиболее вероятных кандидатных маркеров ВСС по результатам собственного полногеномного ассоциативного исследования.

Материал и методы

Дизайн исследования построен по принципу “случай–контроль”.

Группа ВСС (n=360, средний возраст 53,0±9,2 лет, мужчины — 76,9%, женщины — 23,1%) сформирована с использованием критериев Европейского общества кардиологов [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 удовлетворяют критериям ВСС Европейского общества кардиологов. Из группы исключены лица, находящиеся в состоянии алкогольного и наркотического опьянения, которое могло спровоцировать развитие летального исхода. Также исключены лица с патологоанатомическими диагнозами гипертрофическая кардиомиопатия, острый инфаркт миокарда. Поскольку инфаркт миокарда не относится к ВСС по МКБ-10, а ВСС, развившаяся по причине кардиомиопатии, является отдельной этиологической группой ВСС со своими кандидатными маркерами. В ходе проведения аутопсии у умерших забиралась ткань миокарда массой 5-10 г, которая хранилась в дальнейшем при температуре -20°C до этапа выделения ДНК.

Контрольная группа ($n=402$, средний возраст $52,9\pm 9,1$ лет, мужчины — 69,7%, женщины — 30,3%) подобрана по полу и возрасту из банка ДНК международных исследовательских проектов 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 забиралась венозная кровь в пробирки с ЭДТА, которая хранилась в дальнейшем при температуре -20°C до этапа выделения ДНК.

Выделение ДНК выполняли методом фенол-хлороформной экстракции из ткани миокарда и венозной крови [6].

Генотипирование по исследуемым однонуклеотидным полиморфизмам выполняли 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 rs6582147 использовали праймеры: $5'$ -ATCCTAATAACCTTGGAAATC- $3'$ (F) и $5'$ -TGGCCTGAATTCTTATAAA- $3'$ (R). Смесь для ПЦР объемом 25 мкл включала: Трис-НСI (рН 9,0) 75 мМ, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 20 мМ, Tween-20 0,01%, 3,0 мМ MgCl_2 , по 0,8 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единицу активности Taq-ДНК-полимеразы ("СибЭнзим", Новосибирск). Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 33 цикла, включающих денатурацию 95°C 30 сек, отжиг праймеров 46°C 30 сек и элонгацию 72°C 30 сек. Рестрикцию проводили с 10 единицами активности рестриктазы TaqI ("СибЭнзим", Новосибирск). Размер продукта амплификации 97 п.н. После проведения рестрикции при генотипе ТТ детектировался продукт 97 п.н., при GG генотипе — продукты

78 п.н. и 19 п.н., при гетерозиготном генотипе TG все перечисленные продукты: 97 п.н., 78 п.н., 19 п.н.

Для генотипирования по rs10010305 использовали праймеры: $5'$ -ATTGTGTGTAATGTAGAGTA- $3'$ (F) и $5'$ -ATTCCCATCAACAGA- $3'$ (R). Смесь для ПЦР объемом 25 мкл включала: 10 мкл 2,5 кратной смеси для ПЦР-РВ №М-428 (ЗАО "Синтол"), 3,0 мМ MgCl_2 , по 0,8 мМ каждого праймера. Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 35 цикла, включающих денатурацию 95°C 30 сек, отжиг праймеров 58°C 30 сек и элонгацию 72°C 30 сек. Рестрикцию проводили с 10 единицами активности рестриктазы RsaI ("СибЭнзим", Новосибирск). Размер продукта амплификации 93 п.н. После проведения рестрикции при генотипе ТТ детектировался продукт 93 п.н., при CC генотипе — продукты 74 п.н. и 19 п.н., при гетерозиготном генотипе TC все перечисленные продукты: 93 п.н., 74 п.н., 19 п.н.

Для генотипирования по rs2136810 использовали праймеры: $5'$ -CACAAGTTTCSTTAAAATCG- $3'$ (F) и $5'$ -CTTCTCTCCTTCTCTCT- $3'$ (R). Смесь для ПЦР объемом 25 мкл включала: 10 мкл БиоМастер HS-Taq ПЦР-Color (2x) (ООО БИОЛАБМИКС, Новосибирск), 1,0 мМ MgCl_2 , по 0,6 мМ каждого праймера. Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 35 цикла, включающих денатурацию 95°C 30 сек, отжиг праймеров 50°C 30 сек и элонгацию 72°C 20 сек. Рестрикцию проводили с 10 единицами активности рестриктазы TaqI ("СибЭнзим", Новосибирск). Размер продукта амплификации 96 п.н. После проведения рестрикции при генотипе GG детектировался продукт 96 п.н., при AA генотипе — продукты 78 п.н. и 18 п.н., при гетерозиготном генотипе AG все перечисленные продукты: 96 п.н., 78 п.н., 18 п.н.

Для генотипирования по rs17797829 использовали праймеры: $5'$ -CCCGCTTCAGAGGGAGTGTAAC- $3'$ (F) и $5'$ -TGGGAGGCCCAAGCTCTGAAT- $3'$ (R). Смесь для ПЦР объемом 25 мкл включала: Трис-НСI (рН 9,0) 75 мМ, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 20 мМ, Tween-20 0,01%, 3,5 мМ MgCl_2 , по 0,8 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единицу активности Taq-ДНК-полимеразы ("СибЭнзим", Новосибирск). Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 33 цикла, включающих денатурацию 95°C 30 сек, отжиг праймеров 48°C 30 сек и элонгацию 72°C 30 сек. Рестрикцию проводили с 10 единицами активности рестриктазы HinfI ("СибЭнзим", Новосибирск). Размер продукта амплификации 135 п.н. После проведения рестрикции при генотипе AA детектировался продукт 135 п.н., при GG генотипе — продукты 117 п.н. и 18 п.н., при гетерозиготном генотипе GA все перечисленные продукты: 135 п.н., 117 п.н., 18 п.н.

Полученные результаты статистически обработаны с помощью пакета программ SPSS 16.0, опреде-

Таблица 1

Частоты генотипов rs6582147, rs2136810, rs10010305, rs17797829 в группе ВСС и контрольной группе

	Генотип	Группа ВСС		Контрольная группа	
		n	%	n	%
rs6582147	ТТ	29	8,2	43	10,7
	GT*	106	29,9	156	38,8
	GG*	220	62,0	203	50,5
rs2136810	GG*	255	70,8	239	63,9
	GA	90	25,0	118	31,6
	AA	15	4,2	17	4,5
rs10010305	ТТ	1	0,3	6	1,5
	CT*	68	19,1	56	14,4
	CC	287	80,6	326	84,0
rs17797829	AA	12	3,4	11	2,8
	GA	87	24,9	79	20,2
	GG	251	71,7	302	77,0

Примечание: n — число индивидов, * — указывает на статистически значимые различия.

лены частоты генотипов, изучаемых однонуклеотидных полиморфизмов в группе ВСС и контрольной группе, в контрольной группе с использованием критерия хи-квадрат оценено соответствие частот генотипов равновесию Харди-Вайнберга. Сравнение групп по частотам генотипов 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 оценки вклада однонуклеотидных полиморфизмов в развитие ВСС в контрольной группе изучена ассоциация с выбранными полиморфизмами ряда антропометрических (систолическое, диастолическое, пульсовое артериальное давление, частота сердечных сокращений, индекс массы тела, окружность талии) и биохимических параметров (концентрация липопротеинов низкой (ЛПНП) и высокой плотности (ЛПВП), триглицеридов, общего холестерина, глюкозы). В группе ВСС проверена ассоциация полиморфизмов с данными морфологического исследования (масса сердца, толщина межжелудочковой перегородки, левого и правого желудочка). Нормальность распределения параметров проверена с помощью теста Колмогорова-Смирнова. При нормальном распределении дальнейшие расчеты проведены с использованием теста ANOVA, при отклонении от нормального распределения использован тест Крускала-Уоллиса. В качестве уровня значимости также использовали $p < 0,05$.

Таблица 2

Толщина межжелудочковой перегородки в группе ВСС в зависимости от генотипа rs6582147

Генотип	Толщина межжелудочковой перегородки Me (Q25-Q75), см
GT	1,5 (1,2-1,875)
ТТ + GG	1,25 (1,1-1,475)

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

Таблица 3

Индекс массы тела в контрольной группе в зависимости от генотипа rs2136810

Генотип	Индекс массы тела, Me (Q25-Q75), кг/м ²
AA	30,02 (28,26-32,40)
GG+GA	26,42 (23,74-29,91)

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

До начала исследований участниками проектов (MONICA, HAPIEE) были подписаны информированные согласия, в том числе, на молекулярно-генетическое исследование. Исследование выполнено с разрешения Локального Этического Комитета.

Результаты

В контрольной группе эмпирическое распределение частот генотипов однонуклеотидных полиморфизмов rs6582147 и rs2136810 соответствуют ожидаемому согласно равновесию Харди-Вайнберга ($\chi^2 = 2,43$; 0,25, соответственно, $p > 0,05$). Критерий хи-квадрат для однонуклеотидных полиморфизмов rs10010305, rs17797829 выходит за границы уровня статистической значимости ($\chi^2 = 3,68$; 4,09, соответственно, $p < 0,05$).

По частотам генотипов однонуклеотидного полиморфизма rs6582147 обнаружены статистически значимые различия между группой ВСС и контрольной группой (табл. 1). Доля носителей генотипа GT однонуклеотидного полиморфизма rs6582147 значимо меньше в группе ВСС по сравнению с контрольной группой (ОШ = 0,671, 95% ДИ 0,496-0,909, $p = 0,011$), а доля носителей генотипа GG полиморфизма значимо больше в группе ВСС по сравнению с контрольной группой (ОШ = 1,598, 95% ДИ 1,195-2,135, $p = 0,002$). Статистическая значимость полученных результатов сохраняется в старшей возрастной группе (старше 50 лет) (GT vs GG+ТТ: ОШ = 0,598, 95% ДИ 0,405-0,883, $p = 0,011$; GG vs GT+ТТ: ОШ = 1,732, 95% ДИ 1,193-2,513, $p = 0,005$), группе мужчин (GT vs GG+ТТ: ОШ = 0,632, 95% ДИ 0,439-0,909, $p = 0,013$; GG vs GT+ТТ: ОШ = 1,918, 95% ДИ 1,289-2,565, $p = 0,001$), группе мужчин старше 50 лет (GT vs GG+ТТ: ОШ = 0,550, 95% ДИ 0,344-0,880, $p = 0,014$;

GG vs GT+TT: ОШ =1,925, 95% ДИ 1,231-3,008, $p=0,005$).

Кроме того, в группе ВСС найдена ассоциация полиморфизма rs6582147 с толщиной межжелудочковой перегородки ($p=0,013$) (табл. 2). У носителей генотипа GT толщина межжелудочковой перегородки больше, чем у носителей генотипа TT и GG ($p=0,004$).

Частота генотипа GG однонуклеотидного полиморфизма rs2136810 выше в группе ВСС по сравнению с контрольной группой (ОШ =1,372, 95% ДИ 1,005-1,871, $p=0,049$) (табл. 1), у лиц старше 50 лет частота генотипа GA в группе ВСС значимо ниже, чем в контрольной группе (ОШ =0,642, 95% ДИ 0,422-0,976, $p=0,045$).

У носителей генотипа AA полиморфизма rs2136810 в группе контроля индекс массы тела больше, чем у носителей генотипа GG и GA ($p=0,011$) (табл. 3).

Носители генотипа CT однонуклеотидного полиморфизма rs10010305 статистически чаще встречаются в группе ВСС по сравнению с контрольной группой (ОШ =1,773, 95% ДИ 1,085-2,897, $p=0,027$) (табл. 1). Данная закономерность также значима в группе лиц старшего возраста (ОШ =1,719, 95% ДИ 1,038-2,847, $p=0,041$) и в группе мужчин старше 50 лет (ОШ =2,169, 95% ДИ 1,114-4,224, $p=0,023$).

В группе женщин вероятность встретить носительниц генотипа GG однонуклеотидного полиморфизма rs17797829 меньше в группе ВСС по сравнению с контрольной группой (ОШ =0,392, 95% ДИ 0,203-0,760, $p=0,007$). В группе женщин старше 50 лет кроме статистической значимости по частотам генотипа GG зафиксировано статистически значимое различие по частотам генотипа AA (ОШ =2,739, 95% ДИ 2,176-3,448, $p=0,020$).

В группе ВСС отмечено статистически значимое различие между носителями разных генотипов полиморфизма rs17797829 по величине значения массы сердца ($p=0,042$). У носителей генотипа AA масса сердца значимо меньше ($299,2\pm 31,79$ г) по сравнению с носителями генотипов GA и GG ($420,25\pm 105,95$ г).

Обсуждение

Однонуклеотидные полиморфизмы rs6582147, rs10010305, rs2136810, rs17797829 являются новыми молекулярно-генетическими маркерами ВСС, которые были выявлены при проведении собственного полногеномного ассоциативного исследования.

Согласно результатам проведенного подтверждающего исследования “случай-контроль”, генотип GT однонуклеотидного полиморфизма rs6582147 связан с протективным эффектом в отношении ВСС, а генотип GG полиморфизма ассоциирован с повышенным риском ВСС. При этом полученная ассоциация при разделении групп по полу и возрасту сохраняется в группе старше 50 лет, группе мужчин и группе мужчин старше 50 лет. Кроме того, в группе ВСС найдена

ассоциация генотипа GT полиморфизма rs6582147 с большей толщиной межжелудочковой перегородки по сравнению с носителями генотипов TT и GG. Толщина межжелудочковой перегородки не является единственным и строго специфичным критерием какого-либо патологоанатомического диагноза, поэтому делать вывод об ассоциации полиморфизма rs6582147 с гипертрофической кардиомиопатией или гипертрофией миокарда другого генеза пока преждевременно, тем более, учитывая факт, что лица с патологоанатомическим диагнозом “гипертрофическая кардиомиопатия” были исключены из группы ВСС.

Генотип CT однонуклеотидного полиморфизма rs10010305 выявлен как генотип риска ВСС в группе мужчин, группе лиц старшего возраста и группе мужчин старше 50 лет.

Генотип GG однонуклеотидного полиморфизма rs2136810 ассоциирован с повышенным риском ВСС, генотип GA полиморфизма ассоциирован с протективным эффектом в отношении ВСС в группе лиц старше 50 лет. Генотип AA полиморфизма rs2136810 в группе контроля ассоциирован с более высоким индексом массы тела, чем у носителей генотипа GG и GA.

В группе женщин генотип GG однонуклеотидного полиморфизма rs17797829 является протективным в отношении ВСС. В группе женщин старше 50 лет кроме генотипа GG с ВСС ассоциирован генотип AA полиморфизма, который является генотипом риска ВСС. У носителей генотипа AA полиморфизма rs17797829 масса сердца значимо меньше по сравнению с носителями генотипов GA и GG. Группа женщин, включенная в исследование, является малочисленной, поэтому ассоциация варианта rs17797829 с ВСС, полученная исключительно в женской группе, требует дополнительных исследований на выборках большей численности.

Изученные однонуклеотидные полиморфизмы rs6582147 (g.73760514T>G), rs10010305 (g.12047294C>T), rs17797829 (g.6896606G>A) локализованы в межгенных пространствах 4 (rs10010305, rs17797829) и 12 (rs6582147) хромосом. Многочисленные мировые исследования показали, что генетические варианты в РНК-некодирующих регионах ассоциированы с заболеваниями человека. Однако до сих пор определить точный механизм вклада интронных и межгенных однонуклеотидных полиморфизмов в развитие заболеваний не представляется возможным. Уровень экспрессии некодирующих РНК транскриптов во многих исследованиях показал тканевую и временную специфичность, что подтверждает существование строгой регуляции экспрессии данных участков. Доказано, что аномальная экспрессия некоторых РНК-некодирующих регионов тесно коррелирует с формированием злокачественных новообразова-

ний, метастатической активностью. Кроме того, многие межгенные и интронные однонуклеотидные полиморфизмы локализованы рядом или непосредственно в регуляторных регионах. То есть, такие полиморфизмы могут быть связаны с регуляторными элементами и влиять на патогенез заболеваний [7].

Однонуклеотидный полиморфизм rs2136810 (g.36007345A>G) локализован в гене *ARAP2* (4p14). Ген *ARAP2* (ArfGAP with RhoGAP domain, ankyrin repeat and PH domain 2, 4p14) кодирует протеин centaurin-delta-1, который играет роль в локальной адгезии и регуляции динамики местной адгезии [8].

С точки зрения полученной ассоциации параметров судебно-медицинского исследования (масса сердца, толщина межжелудочковой перегородки), антропометрических параметров (индекс массы тела) с изучаемыми однонуклеотидными полиморфизмами необходимо продолжить исследование в отношении связи полиморфизмов с нозологиями, имеющими отношение к данным параметрам. Поскольку на данный момент полученные ассоциации, вероятнее всего, не имеют отношения к ВСС, а являются случайной находкой. Например, гипертрофия миокарда является фактором риска ВСС [9], но согласно полученным данным, генотип GT однонуклеотидного полиморфизма rs6582147 является одновременно и протективным в отношении ВСС, и ассоциирован с большей толщиной межжелудочковой перегородки.

Так как изучаемые нами однонуклеотидные полиморфизмы ранее не были включены по данным научной литературы в какие-либо научно-исследовательские проекты, можно сделать вывод, что впервые

изучена ассоциация rs6582147, rs10010305, rs2136810, rs17797829 с ВСС и показано, что исследуемые однонуклеотидные полиморфизмы действительно являются молекулярно-генетическими маркерами ВСС.

Заключение

Однонуклеотидные полиморфизмы rs6582147, rs10010305, rs2136810, rs17797829, выявленные как наиболее вероятные кандидатные полиморфизмы в собственном полногеномном ассоциативном исследовании, подтвердили ассоциацию с ВСС по результатам проведенного исследования “случай-контроль”.

Найдена ассоциация однонуклеотидного полиморфизма rs6582147 с толщиной межжелудочковой перегородки в группе ВСС, rs2136810 — с индексом массы тела в контрольной группе, rs17797829 — с массой сердца в группе ВСС.

Благодарности. Авторы выражают глубокую признательность академику РАН Юрию Петровичу Никитину за предоставленную возможность сформировать контрольную группу на материале когорт НАPIEE и MONICA.

Финансирование. Исследование выполнено при поддержке стипендии Президента Российской Федерации для молодых ученых и аспирантов, осуществляющих перспективные научные исследования и разработки по приоритетным направлениям модернизации российской экономики (СП-625.2018.4).

Конфликт интересов: все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Литература/References

- 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. Doi:10.1093/europace/euv319.
- Garcia-Elias A, Benito B. Ion Channel Disorders and Sudden Cardiac Death. *Int J Mol Sci*. 2018;19(3). Pii:E692. Doi:10.3390/ijms19030692.
- White JL, Chang AM, Cesar S, et al. Can sudden cardiac death in the young be predicted and prevented? Lessons from autopsy for the emergency physician. *Emergencias*. 2018;30(3):194-200.
- Razuin R, Nurquin F, Shahidan MN, et al. Sudden cardiac death with triple pathologies: A case report. *Egypt Heart J*. 2017;69(2):157-60. Doi:10.1016/j.ehj.2017.02.001.
- Babenko VN, Maksimov VN, Kulakova EV, et al. Genome-wide snp allelotyping of human cohorts by pooled DNA samples. *Vavilovskij zhurnal genetiki i selekcii*. 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.
- Sambrook J, Russell DW. Purification of nucleic acids by extraction with phenol:chloroform. *CSH Protoc*. 2006;2006(1). Pii:pdb.prot4455. doi:10.1101/pdb.prot4455.
- Márki S, Göblös A, Szlávic E, et al. The rs13388259 Intergenic Polymorphism in the Genomic Context of the BCYRN1 Gene Is Associated with Parkinson's Disease in the Hungarian Population. *Parkinsons Dis*. 2018;2018:9351598. Doi:10.1155/2018/9351598. eCollection 2018. Doi:10.1155/2018/9351598.
- Chaudhari A, Håversen L, Mobini R, et al. ARAP2 promotes GLUT1-mediated basal glucose uptake through regulation of sphingolipid metabolism. *Biochim Biophys Acta*. 2016;1861(11):1643-51. Doi:10.1016/j.bbaplp.2016.07.009.
- Shijahto EV, Arutjunov GP, Belenkov JuN, et al. Recommendations for risk assessment and prevention of sudden cardiac death *Archive of internal medicine*. 2013;(4):5-15. (In Russ.) Шляhto Е.В., Арутюнов Г.П., Беленков Ю.Н. и др. Национальные Рекомендации по определению риска и профилактике внезапной сердечной смерти. *Архив внутренней медицины*. 2013;(4):5-15.