

Исследование ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов rs7164665, rs71461059, rs74765750, rs6762529 с внезапной сердечной смертью

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

Цель. Подтверждение ассоциации с внезапной сердечной смертью (ВСС) однонуклеотидных полиморфизмов rs7164665, rs71461059, rs74765750, rs6762529, выявленных в собственном полногеномном ассоциативном исследовании в качестве новых молекулярно-генетических маркеров ВСС.

Материал и методы. Дизайн исследования "случай-контроль". Группа ВСС сформирована с использованием критериев ВСС Европейского общества кардиологов (n=438, средний возраст — 53,2±9,1 лет, доля мужчин — 72,7%, женщин — 28,3%). Контрольная группа (n=435, средний возраст 53,2±8,9 года, мужчины — 70,0%, женщины — 30,0%) подобрана по полу и возрасту к группе ВСС из банка ДНК международных проектов MONICA и HAPIEE. ДНК выделена методом фенол-хлороформной экстракции из ткани миокарда в группе ВСС и венозной крови в контрольной группе. Генотипирование выполнено методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом полиморфизма длин рестриционных фрагментов. Полученные результаты статистически обработаны с помощью пакета программ SPSS 16.0.

Результаты. В группе ВСС и контрольной группе не найдено носителей редкого аллеля А однонуклеотидного полиморфизма rs74765750. Не выявлено статистически значимых различий между группой ВСС и контрольной группой по частотам генотипов и аллелей однонуклеотидных полиморфизмов rs7164665 и rs71461059. В возрастной группе старше 50 лет доля носителей гетерозиготного генотипа СТ однонуклеотидного полиморфизма rs6762529 в группе ВСС статистически значимо меньше по сравнению с контрольной группой (СТ vs CC+TT: ОШ=0,686, 95% ДИ 0,483-0,967, p=0,035).

Заключение. Генотип СТ однонуклеотидного полиморфизма rs6762529 ассоциирован с протективным эффектом в отношении ВСС для лиц старше 50 лет. Не подтверждена ассоциация с ВСС однонуклеотидных полиморфизмов rs7164665, rs71461059, rs74765750.

Ключевые слова: внезапная сердечная смерть, GWAS, однонуклеотидный полиморфизм, rs7164665, rs71461059, rs74765750, rs6762529.

Конфликт интересов: не заявлен.

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).

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

Association of single nucleotide polymorphisms rs7164665, rs71461059, rs74765750, rs6762529 with sudden cardiac death

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

Aim. To confirm the association between sudden cardiac death (SCD) and single nucleotide polymorphisms rs7164665, rs71461059, rs74765750, rs6762529, identified in own genome-wide associative study as new molecular genetic markers of SCD.

Material and methods. As design we used case-control study. The SCD group was formed using the SCD criteria of the European Society of Cardiology (n=438,

¹Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины — филиал ФГБНУ Федеральный исследовательский центр ИЦиГ СО РАН, Новосибирск; ²ФГБОУ ВО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Новосибирск; ³ГБУЗ Новосибирской области, Новосибирское 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, 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, г.н.с. лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, ORCID: 0000-0001-9425-413X.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
ivanova_a_a@mail.ru

ВСС — внезапная сердечная смерть.

Рукопись получена 01.06.2019

Рецензия получена 05.07.2019

Принята к публикации 12.07.2019



Для цитирования: Иванова А. А., Максимов В. Н., Малютина С. К., Новоселов В. П., Воевода М. И. Исследование ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов rs7164665, rs71461059, rs74765750, rs6762529 с внезапной сердечной смертью. *Российский кардиологический журнал*. 2019;24(10):35–41 doi:10.15829/1560-4071-2019-10-35-41

average age 53,2±9,1 years, male — 72,7%, women — 28,3%). The control group (n=435, average age 53,2±8,9 years, men — 70,0%, women — 30,0%) was selected by gender and age for the SCD group from the DNA bank of the international projects MONICA and HAPIEE. DNA was isolated by phenol-chloroform extraction from myocardial tissue in the SCD group and venous blood in the control group. Genotyping was performed by polymerase chain reaction followed by analysis of

restriction fragment length polymorphism. The results are statistically processed using the SPSS 16.0 software package.

Results. No carriers of the rare allele A of the single nucleotide polymorphism rs74765750 were found in the SCD group and the control group. No statistically significant differences were found between the SCD group and the control group relating to frequencies of genotypes and alleles of single nucleotide polymorphisms rs7164665 and rs71461059. In the age group older than 50 years, the proportion of carriers of the heterozygous CT genotype of the single nucleotide polymorphism rs6762529 in the SCD group is statistically significantly lower compared to the control group (CT vs CC+TT: OR=0,686, 95% CI 0,483-0,967, p=0,035).

Conclusion. The CT genotype of the single nucleotide polymorphism rs6762529 is associated with a protective effect on SCD for people over 50 years of age. The association with single nucleotide polymorphisms rs7164665, rs71461059, rs74765750 with SCD has not been confirmed.

Key words: sudden cardiac death, GWAS, single nucleotide polymorphism, rs7164665, rs71461059, rs74765750, rs6762529.

Conflicts of interest: nothing to declare.

Funding. The study was supported by a scholarship of the President of the Russian Federation for young scientists and graduate students engaged in advanced research and development in priority areas of modernization of the Russian economy (SP-625.2018.4).

Внезапная сердечная смерть (ВСС) — внезапная, неожиданная смерть, причиной которой является известное или не диагностированное ранее сердечно-сосудистое заболевание. Считается, что в мире ежегодно около 17 млн человек умирают по причине сердечно-сосудистой патологии, смерть 25% из них внезапна. Риск ВСС выше у мужчин по сравнению с женщинами и увеличивается с возрастом согласно росту заболеваемости ишемической болезнью сердца, которая является основной причиной развития ВСС. Однако около 50% умерших ВСС не имеют выявленного ранее заболевания сердца [1]. Стратификация риска ВСС с использованием различных рискометров и шкал на основе основных факторов риска ВСС на данный момент может быть эффективно использована только для пациентов с известной кардиальной патологией, тогда как для пациентов с асимптомным течением потенциально фатальных сердечно-сосудистых заболеваний применяемая система является малоэффективной. Поэтому изучение молекулярно-генетических маркеров ВСС является неотъемлемой частью процесса модернизации существующих методов оценки предрасположенности к ВСС.

В ходе проведения собственного полногеномного ассоциативного исследования (GWAS) получен список новых возможных молекулярно-генетических маркеров ВСС [2]. Полученные современными высокотехнологичными методами молекулярно-генетического исследования результаты требуют обязательной верификации в исследованиях с использованием рутинных методов с целью исключения ложноположительных результатов.

Acknowledgments. The authors are deeply grateful to Academician of the Russian Academy of Sciences Yuri Petrovich Nikitin for the opportunity to form a control group based on HAPIEE and MONICA cohorts.

¹Scientific Research Institute of Therapy and Preventive Medicine — branch of Federal Research Center of ICG, Novosibirsk; ²Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk; ³Novosibirsk Regional Office of the Chief Medical Examiner, Novosibirsk, Russia.

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

Received: 01.06.2019 **Revision Received:** 05.07.2019 **Accepted:** 12.07.2019

For citation: Ivanova A. A., Maksimov V. N., Malyutina S. K., Novoselov V. P., Voevoda M. I. Association of single nucleotide polymorphisms rs7164665, rs71461059, rs74765750, rs6762529 with sudden cardiac death. *Russian Journal of Cardiology*. 2019;24(10):35–41
doi:10.15829/1560-4071-2019-10-35-41

Таким образом, целью исследования является подтверждение ассоциации с ВСС однонуклеотидных полиморфизмов rs7164665, rs71461059, rs74765750, rs6762529, выявленных в собственном полногеномном ассоциативном исследовании в качестве новых молекулярно-генетических маркеров ВСС.

Материал и методы

Дизайн исследования построен по принципу “случай-контроль”. Группа ВСС сформирована с использованием критериев ВСС Европейского общества кардиологов [1]. Группа включает 438 внезапно умерших жителей Октябрьского района города Новосибирска (средний возраст — 53,2±9,1 лет, доля мужчин — 72,7%, женщин — 28,3%), стандартное судебно-медицинское исследование которых было проведено на базе ГБУЗ НСО “Новосибирское областное клиническое бюро судебно-медицинской экспертизы”. Основные патологоанатомические диагнозы лиц, включенных в группу ВСС: острая коронарная недостаточность и острая недостаточность кровообращения. Из группы исключались лица с содержанием алкоголя или наркотических веществ в крови. Также из группы были исключены умершие с морфологическими изменениями ткани сердца характерными для инфаркта миокарда и кардиомиопатий, так как ВСС, развившаяся на фоне кардиомиопатии, является отдельной крупной этиологической разновидностью ВСС, а ВСС на фоне инфаркта миокарда не относится к ВСС (I46.1) по МКБ-10.

Контрольная группа (n=435, средний возраст 53,2±8,9 года, мужчины — 70,0%, женщины — 30,0%) подобрана по полу и возрасту к группе ВСС (условно

по принципу 1:1) из банка ДНК живых на момент проведения исследования участников международных проектов Multinational MONItoring of trends and determinants in CARdiovascular disease (MONICA) и Health, Alcohol and Psychosocial factors In Eastern Europe (НАPIEE).

ДНК выделена методом фенол-хлороформной экстракции из ткани миокарда в группе ВСС и венозной крови в контрольной группе.

Генотипирование проведено методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов.

Для генотипирования по rs7164665 использовали праймеры: 5'-TGTCTGGCCAGAAAGCTGTACA-3'(F) и 5'-ATCCGCCCAACAAGGATC-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 Таq-ДНК-полимеразы ("СибЭнзим", Новосибирск). Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 35 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 ТаqI ("СибЭнзим", Новосибирск). Размер продукта амплификации 103 п.н. После проведения рестрикции при генотипе ТТ детектировался продукт 103 п.н., при СС генотипе — продукты 85 п.н. и 18 п.н., при гетерозиготном генотипе СТ все перечисленные продукты: 103 п.н., 85 п.н., 18 п.н.

Для генотипирования по rs71461059 использовали праймеры: 5'-CACCAGATGCAGCAGCAATT-3'(F) и 5'-GTAAACTTTCCCAAAGTCACAGCG-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 Таq-ДНК-полимеразы ("СибЭнзим", Новосибирск). Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 35 цикла, включающих денатурацию 95° С 30 сек, отжиг праймеров 48° С 30 сек и элонгацию 72° С 30 сек. Рестрикцию проводили с 10 единицами активности рестриктазы АspI ("СибЭнзим", Новосибирск). Размер продукта амплификации 129 п.н. После проведения рестрикции при генотипе АА детектировался продукт 129 п.н., при GG генотипе — продукты 104 п.н. и 25 п.н., при гетерозиготном генотипе GA все перечисленные продукты: 129 п.н., 104 п.н., 25 п.н.

Для генотипирования по rs74765750 использовали праймеры: 5'-AAAGACSTACCCCATGATCAAT-3'(F) и 5'-СТААСТTCGGAAGCTGATACCTGTA-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%, 2,5 мМ MgCl_2 , по 0,8 мМ каждого праймера,

0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единицу активности SynTaq ДНК-полимеразы с ингибирующими активностью фермента антителами ("Синтол", Москва). Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 35 циклов, 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 RsaI ("СибЭнзим", Новосибирск). Размер продукта амплификации 277 п.н. После проведения рестрикции при генотипе АА детектировался продукт 277 п.н., при GG генотипе — продукты 253 п.н. и 24 п.н., при гетерозиготном генотипе GA все перечисленные продукты: 277 п.н., 253 п.н., 24 п.н.

Для генотипирования по rs6762529 использовали праймеры: 5'-GTTACACAGGATGGATAAGAAAAGGC-3'(F) и 5'-CGCTACATGCCCAATGAAA-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 Таq-ДНК-полимеразы ("СибЭнзим", Новосибирск). Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 35 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 HaeIII ("СибЭнзим", Новосибирск). Размер продукта амплификации 258 п.н. После проведения рестрикции при генотипе ТТ детектировался продукт 258 п.н., при СС генотипе — продукты 234 п.н. и 24 п.н., при гетерозиготном генотипе СТ все перечисленные продукты: 258 п.н., 234 п.н., 24 п.н.

С целью оценки механизма, посредством которого может осуществляться вклад выбранных однонуклеотидных полиморфизмов генов в развитие ВСС, в исследование включены некоторые данные судебно-медицинского исследования лиц, умерших ВСС и результаты антропометрического, клинического и лабораторного исследований лиц, включенных в контрольную группу, характеризующие анатомо-функциональное состояние сердечно-сосудистой системы и ряд факторов риска ВСС. Для лиц умерших ВСС в исследование включены такие параметры, как количество и размер атеросклеротических бляшек коронарных сосудов и аорты, степень сужения просвета коронарных артерий атеросклеротическими бляшками, масса сердца, толщина межжелудочковой перегородки, стенки правого и левого желудочка, для лиц из контрольной группы — концентрация холестерина, холестерина липопротеинов высокой и низкой плотности, триглицеридов в крови, индекс атерогенности, систолическое и диастолическое артериальное давление, пульсовое давление, индекс массы тела, окружность талии, глюкоза плазмы крови натощак, частота сердечных сокращений.

Таблица 1

Частоты генотипов и аллелей однонуклеотидных полиморфизмов rs71461059, rs7164665, rs6762529 в группе ВСС и контрольной группе

Однонуклеотидный полиморфизм	Генотип/ аллель	Группа ВСС		Контрольная группа	
		n	%	n	%
rs71461059	AA	3	0,7	4	0,9
	GA	74	16,9	76	18,0
	GG	361	82,4	343	81,1
	Частота аллеля А	0,09		0,1	
	Частота аллеля G	0,91		0,9	
rs7164665	TT	327	78,0	331	76,1
	TC	77	18,4	95	21,8
	CC	15	3,6	9	2,1
	Частота аллеля Т	0,87		0,87	
	Частота аллеля С	0,13		0,13	
rs6762529	TT	38	9,1	37	8,9
	CT	165	39,6	186	44,5
	CC	214	51,3	195	46,7
	Частота аллеля Т	0,29		0,31	
	Частота аллеля С	0,71		0,69	

Примечание: n — количество человек.

Полученные результаты статистически обработаны с помощью пакета программ SPSS 16.0: определены частоты генотипов и аллелей изучаемых однонуклеотидных полиморфизмов в группе ВСС и контрольной группе, с использованием критерия хи-квадрат оценено соответствие наблюдаемых частот генотипов равновесию Харди-Вайнберга в контрольной группе. Сравнение групп по частотам генотипов и аллелей выполнялось с помощью таблиц сопряженности с использованием критерия хи-квадрат по Пирсону. В случае четырехпольных таблиц применяли точный двусторонний критерий Фишера с поправкой Йетса на непрерывность. Относительный риск ВСС вычисляли как отношение шансов с использованием точного двухстороннего критерия Фишера и критерия хи-квадрат по Пирсону. В качестве уровня значимости использовали $p < 0,05$.

Нормальность распределения параметров судебно-медицинского, клинического, антропометрического, лабораторных исследований проверяли с использованием теста Колмогорова-Смирнова. При нормальном распределении расчеты производились с использованием теста ANOVA. Для оценки корректности выбранного метода расчета использовали тест Левена на гомогенность дисперсий. В случае отклонения от нормального распределения использовали тест Крускалла-Уоллиса и тест Манна-Уитни. В случае номинальной и порядковой шкалы данных использовались таблицы сопряженности и тест хи-квадрат по Пирсону с поправкой на правдоподобие. В качестве уровня значимости также использовали $p < 0,05$.

До начала исследований участниками проектов (MONICA, НАРИЕЕ) были подписаны информированные согласия, в том числе и на молекулярно-генетическое исследование. Исследование выполнено с разрешения Локального Этического Комитета НИИТПМ — филиал ИЦиГ СО РАН.

Результаты

В контрольной группе частоты генотипов однонуклеотидных полиморфизмов rs7164665, rs71461059, rs6762529 соответствуют ожидаемым частотам согласно равновесию Харди-Вайнберга ($\chi^2 = 0,01; 0,5; 0,61$, соответственно).

В группе ВСС и контрольной группе не найдено носителей редкого аллеля А однонуклеотидного полиморфизма rs74765750.

Не выявлено статистически значимых различий между группой ВСС и контрольной группой по частотам генотипов и аллелей однонуклеотидных полиморфизмов rs7164665 и rs71461059, в т.ч. и при разделении групп по полу и возрасту ($p > 0,05$) (табл. 1).

По частотам генотипов и аллелей однонуклеотидного полиморфизма rs6762529 не найдено статистически значимых различий между группой ВСС и контрольной группой ($p > 0,05$) (табл. 1). Статистически значимые различия по частотам генотипов полиморфизма обнаружены при разделении групп по возрасту: в возрастной группе старше 50 лет доля носителей гетерозиготного генотипа СТ однонуклеотидного полиморфизма rs6762529 в группе ВСС статистически значимо меньше по сравнению с контрольной группой (СТ vs CC+TT: ОШ=0,686, 95% ДИ 0,483-0,967, $p = 0,035$) (табл. 2).

Таблица 2

Частоты генотипов и аллелей однонуклеотидного полиморфизма rs6762529 в возрастной группе старше 50 лет

Генотип/ аллель	Группа ВСС		Контрольная группа	
	п	%	п	%
ТТ	28	11,0	25	9,1
СТ*	96	37,8	129	47,1
СС	130	51,2	120	43,8
Частота аллеля Т	0,3		0,33	
Частота аллеля С	0,7		0,67	

Примечание: п — количество человек, * — указывает на статистически значимые различия.

Таблица 4

Уровень пульсового артериального давления в контрольной группе в зависимости от генотипа однонуклеотидного полиморфизма rs7164665

Генотип	Уровень пульсового артериального давления Ме (Q25-Q75), мм рт.ст.
СС	70,0 (66,3-90,0)
ТТ + ТС	46,0 (39,7-58,3)

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

В контрольной группе выявлена статистически значимая ассоциация однонуклеотидного полиморфизма rs7164665 с уровнем систолического артериального давления ($p=0,011$) (табл. 3), и однонуклеотидных полиморфизмов rs7164665 и rs71461059 с пульсовым артериальным давлением ($p=0,015$; $0,014$, соответственно) (табл. 4, 5). Найдены отличия по значению индекса атерогенности в контрольной группе в зависимости от генотипа однонуклеотидного полиморфизма rs6762529 ($p=0,006$) (табл. 6). У носителей гетерозиготного генотипа СТ индекс атерогенности значимо ниже по сравнению с носителями гомозиготных генотипов СС и ТТ. Выявленная ассоциация уровня атерогенности с генотипом полиморфизма rs6762529 сохраняется и в группе старше 50 лет ($p=0,016$).

Обсуждение

Однонуклеотидные полиморфизмы rs7164665, rs71461059, rs74765750, rs6762529, согласно данным доступной научной литературы, не упоминаются ни в одном из мировых исследований. Согласно результатам собственного полногеномного ассоциативного исследования однонуклеотидные полиморфизмы rs7164665, rs71461059, rs74765750, rs6762529 входят в перечень новых возможных молекулярно-генетических маркеров ВСС.

Однонуклеотидный полиморфизм rs74765750 (с.1499-1838G>A) локализован в интроне кодирую-

Таблица 3

Уровень систолического артериального давления в контрольной группе в зависимости от генотипа однонуклеотидного полиморфизма rs7164665

Генотип	Уровень систолического артериального давления Ме (Q25-Q75), мм рт.ст.
СС	168,8 (152,9-189,8)
ТТ + ТС	132,0 (120,2-151,8)

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

Таблица 5

Уровень пульсового артериального давления в контрольной группе в зависимости от генотипа однонуклеотидного полиморфизма rs71461059

Генотип	Уровень пульсового артериального давления Ме (Q25-Q75), мм рт.ст.
GG	48,0 (40,7-61,0)
GA + AA	42,7 (38,3-52,8)

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

Таблица 6

Индекс атерогенности в контрольной группе в зависимости от генотипа однонуклеотидного полиморфизма rs6762529

Генотип	Индекс атерогенности Ме (Q25-Q75)
ТТ+СС	3,06 (2,24-3,87)
СТ	2,60 (2,04-3,32)

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

щего белок гена *TBC1D30* (TBC1 domain family member 30, 12q14.3). Ген *TBC1D30* и его генетический полиморфизм являются мало изученными: известно, что один из полиморфизмов (rs150781447) гена *TBC1D30* с низкой частотой встречаемости редкого аллеля в популяции ассоциирован с уровнем проинсулина натощак [3]. По результатам проведенного подтверждающего молекулярно-генетического исследования однонуклеотидный полиморфизм rs74765750 гена *TBC1D30* не ассоциирован с ВСС, более того, не было выявлено носителей редкого аллеля А полиморфизма ни в группе ВСС, ни в контрольной группе. Полученные результаты являются закономерными, поскольку частота встречаемости редкого аллеля полиморфизма довольно низкая, и составляет для европейской популяции около 0,003 [4]. Таким образом, гипотеза, что исследуемый полиморфизм rs74765750, несмотря на низкую частоту редкого аллеля в популяции, является новым молекулярно-генетическим маркером ВСС подтверждена не была.

Также по результатам проведенного исследования не была верифицирована ассоциация с ВСС однонуклеотидных полиморфизмов rs7164665 и rs71461059.

Однонуклеотидный полиморфизм rs7164665 (g.78661577T>C) локализован на 15 хромосоме, принадлежит к одному из интронов некодирующего РНК локуса *LOC112268142*. Частота редкого аллеля С для европейской популяции варьирует от 0,09 до 0,15 [5]. Однонуклеотидный полиморфизм rs71461059 (g.17768216G>A) локализован на 12 хромосоме. Частота редкого аллеля А полиморфизма для европейской популяции составляет около 0,1 [6]. В контрольной группе показана ассоциация уровня систолического артериального давления с однонуклеотидным полиморфизмом rs7164665, и пульсового артериального давления с однонуклеотидными полиморфизмами rs7164665 и rs71461059. Полученные результаты позволяют предположить, что вероятно изучаемые полиморфизмы rs7164665 и rs71461059 вовлечены в патогенез заболеваний, характеризующихся изменениями артериального давления, но не имеют отношения к ВСС у жителей г. Новосибирска.

Однонуклеотидный полиморфизм rs6762529 (c.1654-29892T>C) локализован в интроне кодирующего белок гена *NAALADL2* (N-acetylated alpha-linked acidic dipeptidase like 2, 3q26.31). Частота редкого аллеля Т полиморфизма для европейской популяции составляет около 0,28 [7]. Ген *NAALADL2* включает в себя 29 экзонов, размер гена насчитывает около 1,37 Мб. Показано, что в пределах гена находится точка разрыва для транслокации, ассоциированной с развитием синдрома Корнелии де Ланге — редкого синдрома нарушения развития [8]. Редкий аллель полиморфизма rs3914501 гена связан с развитием синдрома Корнелии де Ланге и болезни Кавасаки [9]. С болезнью Кавасаки также связан однонуклеотидный полиморфизм rs17531088 гена *NAALADL2* [10]. Интересно, что в состав фенотипических характеристик синдрома Корнелии де Ланге входят и пороки сердца (дефекты перегородок, стеноз легочной артерии, коарктация аорты) [11]. Тогда как синдром (болезнь) Кавасаки представляет собой системный васкулит новорожденных и детей [9]. Кроме того, однонуклеотидный полиморфизм rs3914501 гена *NAALADL2* по данным GWAS ассоциирован с поражением кишечника при болезни Бехчета. При этом снижение экспрессии гена *NAALADL2* при исследованиях как *in vitro*, так и *in vivo* вызывало усиление воспалительной реакции в кишечнике. В Японии полиморфизм rs62285902 гена *NAALADL2* найден как маркер болезни Крона по данным полногеномного ассоциативного исследования [12]. Обнаружено, что гиперэкспрессия гена *NAALADL2* при раке толстой кишки и простаты играет значимую роль в развитии и прогрессировании онкологического процесса [13]. Полиморфизм rs78943174 выявлен как ассоциированный с агрессивностью рака простаты, учитывавшийся по шкале Глисона [14]. По результатам полногеномного ассоциативного исследования на Тайване

полиморфизмы rs3914502 и rs2222447 гена *NAALADL2* выявлены как новые молекулярно-генетические маркеры расстройств аутистического спектра [15]. Уникальная делеция 3q26.31 размером 0,65 Мб, затрагивающая ген *NAALADL2*, была идентифицирована в семейном случае фенотипического синдрома делеции 22q11.2, но при отсутствии цитогенетического дефекта 22 хромосомы. Синдром делеции локуса 22q11.2 включает в себя разнообразные клинические проявления, включая синдром Ди Джорджи и велокардиофациальный синдром. Ключевые фенотипические характеристики синдрома включают поражение сердца, лицевые дизморфии (необычная форма ушей, длинная спинка носа с широкой верхней частью, микрогнатия, монголоидный разрез глаз), небо-глоточную недостаточность, расщелину неба. У лиц с наиболее распространенным фенотипом наблюдается Т-клеточный иммунодефицит и персистирующая гипокальциемия. Психиатрические нарушения более характерны для взрослого возраста. У пробанда с делецией 3q26.31 при фенотипической картине синдрома делеции 22q11.2 была выявлена микрогнатия, короткая глазная щель, трудности в обучении и задержка развития. Такой же цитогенетический дефект был выявлен у сибсов пробанда (сестра с двусторонней расщелиной верхней губы и неба, брат с врожденным пороком сердца) [16]. Таким образом, однонуклеотидные полиморфизмы гена *NAALADL2* и мутации затрагивающие ген по данным зарубежных исследований ассоциированы с различными патологиями, в том числе с дефектами сердца и кровеносных сосудов (синдром Корнелии де Ланге, синдром Кавасаки, делеция 3q26.31). Согласно результатам проведенного исследования, однонуклеотидный полиморфизм rs6762529 гена *NAALADL2* подтвердил свою ассоциацию с ВСС. Генотип СТ полиморфизма является протективным в отношении ВСС для лиц старше 50 лет. В контрольной группе выявлена ассоциация индекса атерогенности с однонуклеотидным полиморфизмом rs6762529: у носителей гетерозиготного генотипа СТ значение индекса атерогенности значимо ниже по сравнению с носителями двух других генотипов. Выявленная закономерность сохраняется и в группе старше 50 лет, где по результатам проведенного исследования генотип СТ выявлен как протективный в отношении ВСС. Таким образом, возможно, патогенетический механизм вклада однонуклеотидного полиморфизма rs6762529 в развитие ВСС обусловлен изменениями липидного обмена, но для подтверждения данной гипотезы необходимо провести дополнительные исследования.

Заключение

Однонуклеотидный полиморфизм rs6762529, выявленный в собственном полногеномном ассоци-

ативном исследовании, подтвердил свою ассоциацию с ВСС: генотип СТ полиморфизма rs6762529 ассоциирован с протективным эффектом в отношении ВСС для лиц старше 50 лет. Не подтверждена ассоциация с внезапной сердечной смертью однонуклеотидных полиморфизмов rs7164665, rs71461059, rs74765750.

Благодарность. Авторы выражают глубокую признательность академику РАН Юрию Петровичу Никитину за предоставленную возможность сформировать контрольную группу на материале когорт НАРИЕЕ 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

1. Priori SG, Blomström-Lundqvist C, Mazzanti A, 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). *G Ital Cardiol.* 2016;17(2):108-70. doi:10.1714/2174.23496.
2. 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., Сафронова Н. С., Воевода М. И., Рогов Е. И. Полногеномный анализ пулированных выборок ДНК когорт человека. *Вавиловский журнал генетики и селекции.* 2014;18(4-2):847-55.
3. Huyghe JR, Jackson AU, Fogarty MP, et al. Exome array analysis identifies new loci and low-frequency variants influencing insulin processing and secretion. *Nat Genet.* 2013;45(2):197-201. doi:10.1038/ng.2507.
4. rs74765750. dbSNP. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?do_not_redirect&rs=rs74765750 (26 May 2019).
5. rs7164665. dbSNP. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?do_not_redirect&rs=rs7164665 (26 May 2019).
6. rs71461059. dbSNP. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?do_not_redirect&rs=rs71461059 (26 May 2019).
7. rs6762529. dbSNP. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?do_not_redirect&rs=rs6762529 (26 May 2019).
8. Tonkin ET, Smith M, Eichhorn P, et al. A giant novel gene undergoing extensive alternative splicing is severed by a Cornelia de Lange-associated translocation breakpoint at 3q26.3. *Hum Genet.* 2004;115(2):139-48.
9. Kim SW, Jung YS, Ahn JB, et al. Identification of genetic susceptibility loci for intestinal Behçet's disease. *Sci Rep.* 2017;7:39850. doi:10.1038/srep39850.
10. Burgner D, Davila S, Breunis WB, et al. A genome-wide association study identifies novel and functionally related susceptibility Loci for Kawasaki disease. *PLoS Genet.* 2009;5(1):e1000319. doi:10.1371/journal.pgen.1000319.
11. Ayerza Casas A, Puisac Uriol B, Teresa Rodrigo ME, et al. Cornelia de Lange syndrome: Congenital heart disease in 149 patients. *Med Clin (Barc).* 2017;149(7):300-2. doi:10.1016/j.medcli.2017.03.051.
12. Kim JJ, Yun SW, Yu JJ, et al. Identification of SAMD9L as a susceptibility locus for intravenous immunoglobulin resistance in Kawasaki disease by genome-wide association analysis. *Pharmacogenomics J.* 2019. doi:10.1038/s41397-019-0085-1
13. Jin HJ, Jung S, DebRoy AR, et al. Identification and validation of regulatory SNPs that modulate transcription factor chromatin binding and gene expression in prostate cancer. *Oncotarget.* 2016;7(34):54616-26. doi:10.18632/oncotarget.10520.
14. Berndt SI, Wang Z, Yeager M, Alavanja MC, et al. Two susceptibility loci identified for prostate cancer aggressiveness. *Nat Commun.* 2015;6:6889. doi:10.1038/ncomms7889.
15. Kuo PH, Chuang LC, Su MH, et al. Genome-Wide Association Study for Autism Spectrum Disorder in Taiwanese Han Population. *PLoS One.* 2015;10(9):e0138695. doi:10.1371/journal.pone.0138695.
16. Koczkowska M, Wierzbza J, Śmigiel R, et al. Genomic findings in patients with clinical suspicion of 22q11.2 deletion syndrome. *J Appl Genet.* 2017;58(1):93-8. doi:10.1007/s13353-016-0366-1.