

Information about the authors

Zykov Mikhail Valerevich, Laboratory of the Pathophysiology of Multifocal Atherosclerosis, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases; Address: 6, Sosnoviy Blvr., Kemerovo, Russian Federation 650002, «City Hospital №4»; Address: 1, Tuapsinskaya Str., Sochi, Russian Federation 354057; Phone: +7 (918) 3062959; e-mail: mvz83@mail.ru

Kashtalap Vasily Vasilievich, Laboratory of the Pathophysiology of Multifocal Atherosclerosis, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases; Kemerovo State Medical University; Address: 6, Sosnoviy Blvr., Kemerovo, Russian Federation 650002; Phone: +7 (905)9699631; e-mail: v_kash@mail.ru

Karetnikova Viktoriya Nikolaevna, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo State Medical University; Address: 6, Sosnoviy Blvr.,

Kemerovo, Russian Federation 650002; 6, Sosnoviy Blvr., Kemerovo 650002; Phone: +7 (904)3780407; e-mail: Tori1071@mail.ru

Makeeva Oksana Alekseevna, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases; Address: 6, Sosnoviy Blvr., Kemerovo, Russian Federation 650002; Phone: +7 (913)8593493; e-mail: oksana.makeeva@nebbiolo.tomsk.ru

Goncharova Irina Aleksandrovna, Research Institute of Medical Genetics, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases; Address: 6, Sosnoviy Blvr., Kemerovo, Russian Federation 650002; Phone: +7 (913)8593493; e-mail: irina.goncharova@medgenetics.ru

Barbarash Olga Leonidovna, Kemerovo State Medical University; Address: 6, Sosnoviy Blvr., Kemerovo, Russian Federation 650002; Phone: +7 (3842) 643308; e-mail: olb61@mail.ru

Поступила 14.12.2016 г.

Принята к печати 26.04.2017 г.

© ИВАНОВА А. А., МАКСИМОВ В. Н., МАЛЮТИНА С.К., НОВОСЕЛОВ В. П., САВЧЕНКО С. В., ВОЕВОДА М. И.

УДК 616.12-036.886:575.174.015.3

DOI: 10.20333/2500136-2017-2-29-34

ИССЛЕДОВАНИЕ АССОЦИИ С ВНЕЗАПНОЙ СЕРДЕЧНОЙ СМЕРТЬЮ НОВЫХ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ, ВЫЯВЛЕННЫХ В СОБСТВЕННОМ ПОЛНОГЕНОМНОМ АССОЦИАТИВНОМ ИССЛЕДОВАНИИ

А. А. Иванова¹, В. Н. Максимов^{1,3}, С.К. Малютин^{1,3}, В. П. Новоселов^{3,4}, С. В. Савченко^{3,4}, М. И. Воевода^{1,2}

¹Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины, Новосибирск 630089, Российская Федерация

²Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск 630090, Российская Федерация

³Новосибирский государственный медицинский университет, Новосибирск 630091, Российская Федерация

⁴Новосибирское областное клиническое бюро судебно-медицинской экспертизы, Новосибирск 630087, Российская Федерация

Цель исследования. Поиск и изучение ассоциации с внезапной сердечной смертью (ВСС) в популяции г. Новосибирска огнуклеотидных полиморфизмов rs13246896 гена HDAC9, rs35089892 гена SAMK2B, которые выявлены как ассоциированные с ВСС в собственном полногеномном ассоциативном исследовании, выполненном на пулированной ДНК.

Материал и методы. Группа ВСС сформирована с использованием критериев внезапной сердечной смерти Всемирной организации здравоохранения и Европейского общества кардиологов ($n = 391$, средний возраст $52,9 \pm 9,2$ лет, мужчины – 77,2%, женщины – 22,8%). Контрольная группа подобрана по полу и возрасту из банка ДНК международных проектов HAPIEE (Health, Alcohol and Psychosocial factors In Eastern Europe), MONICA (Multinational MONItoring of trends and determinants in CArdiovascular disease) ($n = 376$, средний возраст $52,4 \pm 8,8$ лет, мужчины – 62,3%, женщины – 37,7%). ДНК выделена методом фенол-хлороформной экстракции из ткани миокарда в группе ВСС, и венозной крови в контрольной группе. Генотипирование групп проведено методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов по собственным методикам.

Результаты. Не выявлено статистически значимых различий между группами по частотам аллелей и генотипов полиморфизма rs13246896 гена HDAC9. Генотип TT полиморфизма rs35089892 гена SAMK2B ассоциирован с протективным эффектом в отношении ВСС ($p=0,018$, ОШ=0,52, 95% ДИ 0,31-0,89).

Заключение. Полиморфизм rs35089892 гена SAMK2B ассоциирован с ВСС в исследуемой выборке внезапно умерших жителей г. Новосибирска.

Ключевые слова: внезапная сердечная смерть, огнуклеотидный полиморфизм, rs13246896, HDAC9, rs35089892, SAMK2B, GWAS.

Для цитирования: Иванова АА, Максимов ВН, Малютин СК, Новоселов ВП, Савченко СВ, Воевода МИ. Исследование ассоциации с внезапной сердечной смертью новых молекулярно-генетических маркеров, выявленных в собственном полногеномном ассоциативном исследовании. Сибирское медицинское обозрение. 2017;(2):29-34. DOI: 10.20333/2500136-2017-2-29-34

THE STUDY OF ASSOCIATION WITH SUDDEN CARDIAC DEATH OF NEW MOLECULAR-GENETIC MARKERS DETECTED IN OWN FULL GENOME ASSOCIATIVE RESEARCH

A. A. Ivanova¹, V. N. Maksimov^{1,3}, S. K. Malyutina¹, V. P. Novoselov⁴, S. V. Savchenko^{3,4}, M. I. Voevoda^{1,2}

¹Institution of Internal and Preventive Medicine, Novosibirsk 630089, Russian Federation

²Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk 630090, Russian Federation

³Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk 630091, Russian Federation

⁴Novosibirsk Regional Office of Forensic Medical Examination, Novosibirsk 630087, Russian Federation

The aim of the research. To search and study the association with sudden cardiac death (SCD) in the Novosibirsk population of single nucleotide polymorphisms rs13246896 of the gene HDAC9, rs35089892 of the gene CAMK2B, which are identified as associated with SCD in its own full genome associative study performed on pooled DNA.

Material and methods. The SCD group was formed using the criteria of sudden cardiac death of the World Health Organization and the European Society of Cardiology ($n = 391$, average age 52.9 ± 9.2 years, men - 77.2%, women - 22.8%). The control group was selected by sex and age from the DNA bank of international HAPIEE projects (Health, Alcohol and Psychosocial factors in Eastern Europe), MONICA (Multinational MONItoring of trends and determinants in CARDiovascular disease) ($n = 376$, average age $52.4 \pm 8, 8$ years, men - 62.3%, women - 37.7%).

DNA was picked out by phenol-chloroform extraction from myocardial tissue in the SCD group, and venous blood in the control group. Group genotyping was carried out by polymerase chain reaction method with subsequent analysis of restriction fragments length polymorphism according to the own methods.

Results. There were no statistically significant differences between the groups in allele frequencies and genotypes of polymorphism rs13246896 of the HDAC9 gene. The genotype TT polymorphism rs35089892 of the CAMK2B gene is associated with protective effect according to SCD ($p = 0.018$, OSh = 0.52, 95% DI 0.31-0.89).

Conclusion. The polymorphism rs35089892 of the CAMK2B gene is associated with SCD in the sample of the suddenly died residents of Novosibirsk.

Key words: sudden cardiac death, single nucleotide polymorphisms, rs13246896, HDAC9, rs35089892, CAMK2B, GWAS.

Citation: Ivanova AA, Maksimov VN, Malyutina SK, Novoselov VP, Savchenko SV, Voevoda MI. The study of association with sudden cardiac death of new molecular-genetic markers detected in own full genome associative research. Siberian Medical Review. 2017; (2):29-34. DOI: 10.20333/2500136-2017-2-29-34

Введение

Внезапная сердечная смерть (ВСС) – серьезная проблема современного здравоохранения. Россия занимает одну из лидирующих позиций по смертности населения от сердечно-сосудистых заболеваний. Около 50% всех случаев смерти произошедших по причине сердечно-сосудистых заболеваний составляет внезапная сердечная смерть. Большинство умерших ВСС – лица молодого и среднего возраста, часть из которых ранее не имели какого-либо сердечно-сосудистого заболевания, и их состояние здоровья оценивалось как стабильное и не вызывающее опасений [7]. Существующие клинические маркеры повышенного риска развития ВСС, такие как инфаркт миокарда, синкопальные состояния, нарушения ритма в анамнезе, отягощенный наследственный анамнез играют огромную роль в стратификации риска ВСС у лиц с уже известной ранее кардиальной патологией. Но роль таких маркеров в определении риска ВСС у пациентов без выявленной кардиальной патологии невысока. В данном случае актуальным является поиск молекулярно-генетических маркеров ВСС, которые помогут спрогнозировать риск ВСС у конкретного пациента и его родственников, даже при отсутствии клинических симптомов сердечно-сосудистого заболевания и провести грамотную профилактическую работу для предотвращения развития внезапного летального исхода. Выявленные молекулярно-генетические маркеры могут быть эффективно использованы и в судебной медицине [4]. Посмертное проведение молекулярно-генетического исследования лиц умерших внезапно по неизвестной причине в ряде случаев поможет выявить изменения в структуре ДНК, которое связано с развитием заболевания, лежащего в основе смертельного исхода. А проведение молекулярно-генетического исследования ближайших родственников умершего с использованием знаний о выявленном полиморфизме или мутации поможет предсказать и профилировать не только развитие заболевания, являющегося причиной ВСС, но и сам летальный исход.

В ходе проведения собственного полногеномного исследования был выявлен список кандидатных молекулярно-генетических маркеров ВСС. Исследование было проведено на

платформе Illumina Omni1S, имеющей 1,2 миллиона маркеров на планшете с применением технологии анализа пулированных выборок. Каждая когорта, включенная в исследование, включала около 200 человек. В когорту ВСС включено 200 мужчин (из используемой в дальнейшем исследовании «случай-контроль» группы численностью 391 человек). В качестве контрольной группы были взяты участники проекта HAPIEE (Health, Alcohol and Psychosocial factors In Eastern Europe). После проведения аллелотипирования был выявлен список молекулярно-генетических маркеров (однонуклеотидные полиморфизмы, делеции, дупликации), которые значимо отличались по частотам между группой ВСС и контрольной группой [1]. Выявленные таким способом, однонуклеотидные полиморфизмы (ОНП) генов требуют обязательной проверки в исследовании дизайна случай-контроль с применением рутинных молекулярно-генетических методик для подтверждения их ассоциации с внезапной сердечной смертью, поскольку существует вероятность выявления в ходе полногеномных ассоциативных исследований ложноположительных молекулярно-генетических маркеров. Но необходимо отметить, что проведение полногеномных ассоциативных исследований имеет большую научную ценность, поскольку помогает выявить новые молекулярно-генетические маркеры нозологии, ассоциация которых с ней ранее даже и не подозревалась. Таким образом, целью данного исследования является проверка ассоциации с ВСС в исследовании случай-контроль новых молекулярно-генетических маркеров ВСС, выявленных в собственном полногеномном ассоциативном исследовании.

Материал и методы

Группа внезапной сердечной смерти сформирована с использованием критериев внезапной сердечной смерти Всемирной организации здравоохранения и Европейского общества кардиологов [8]. В группу включено 391 внезапно умерших вне лечебно-профилактических учреждений жителя Октябрьского района г. Новосибирска (средний возраст $52,9 \pm 9,2$ лет, мужчины – 77,2%, женщины – 22,8%). По данным судебно-медицинского исследования, проведенного на базе ГБУЗ НСО

«НОКБСМЭ», смерть лиц включенных в группу ВСС была распценена, как смерть сердечного генеза. Основные патологоанатомические диагнозы протоколов судебно-медицинского исследования — острая коронарная недостаточность и острая недостаточность кровообращения. Из группы ВСС исключены лица с морфологическими изменениями ткани сердца характерными для острого инфаркта миокарда, лица, находящиеся в состоянии алкогольного или наркотического опьянения, лица с патологоанатомическим диагнозом гипертрофическая кардиомиопатия.

Контрольная группа сформирована из жителей того же района города, соответствующего пола и возраста ($n = 376$, средний возраст $52,4 \pm 8,8$ лет, мужчины — 62,3%, женщины — 37,7%). Лица, включенные в контрольную группу — участники международных исследований Multinational MONItoring of trends and determinants in CARdiovascular disease (MONICA) и Health, Alcohol and Psychosocial factors In Eastern Europe (НАPIEE). В ходе проведения исследований участниками было подписано информированное добровольное согласие, в том числе и на проведение молекулярно-генетического исследования.

Выделение ДНК осуществлялось методом фенол-хлороформной экстракции из ткани миокарда лиц, включенных в группу ВСС, и венозной крови лиц, включенных в контрольную группу.

Выбор ОНП из списка возможных новых молекулярно-генетических маркеров ВСС осуществлялся, учитывая локализацию ОНП в геноме, функциональную характеристику ОНП, литературные данные по связи других ОНП гена, в котором локализован выбранный для исследования ОНП, с ВСС, сердечно-сосудистой патологией или другой патологией, которая играет роль в патогенезе ВСС, частоту редкого аллеля выбранного ОНП в популяции.

Генотипирование групп по ОНП rs13246896 гена HDAC9, rs35089892 гена SAMK2B проводилось с использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов по собственным методикам.

Для генотипирования по rs35089892 гена SAMK2B использовали праймеры: 5'- ССТСТGGGTGCTGTCCACTT -3' (F) и 5'- AGGCACAGAGAGGAGCTCAA -3' (R). Смесь для ПЦР объемом 25 мкл включала: Трис-НСI (рН 9,0) 75 мМ, (NH₄)₂SO₄ 20мМ, Tween-20 0,01%, 2,5 мМ MgCl₂, по 0,4 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 950С 30 секунд, отжиг праймеров 560С 30 секунд и элонгацию 720С 30 секунд. Рестрикцию проводили с 10 единицами активности рестриктазы AspI («СибЭнзим», Новосибирск). Детекцию продуктов амплификации и рестрикции осуществляли методом электрофореза в 5% полиакриламидном геле с последующим окрашиванием бромистым этидием (EtBr). Размер продукта амплификации 146 п.н. После проведения рестрикции при генотипе ТТ детектировался продукт 114 п.н., при СС генотипе - продукты 57 п.н. и 89 п.н., при гетерозиготном генотипе СТ все перечисленные продукты: 146 п.н., 89 п.н., 57 п.н.

Для генотипирования по rs13246896 гена HDAC9 использовали праймеры: 5'- TAGGTTTCCCTGCTGAAGAGCA -3' (F) и 5'- TCTAGCTCTTTTCATCCTTTACTG -3' (R). Смесь для ПЦР объемом 11,5 мкл включала: 2,25 мкл 2,5 кратной смеси для

ПЦР-РВ №М-428 (производство ЗАО «Синтол»), по 0,4 мМ обоих праймеров. Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 35 циклов, включающих денатурацию 950С 30 секунд, отжиг праймеров 590С 30 секунд и элонгацию 720С 30 секунд. Рестрикцию проводили с 10 единицами активности рестриктазы EcoRV («СибЭнзим», Новосибирск). Детекцию продуктов амплификации и рестрикции осуществляли методом электрофореза в 5% полиакриламидном геле с последующим окрашиванием бромистым этидием (EtBr). Размер продукта амплификации 109 п.н. После проведения рестрикции при генотипе ТТ детектировались продукты 23 п.н. и 86 п.н., при АА генотипе - продукт 109 п.н., при гетерозиготном генотипе АТ все перечисленные продукты: 109 п.н., 86 п.н., и 23 п.н.

Полученные результаты генотипирования статистически обработаны с помощью пакета программ SPSS 16.0, определены частоты генотипов и аллелей, изучаемых ОНП в группе ВСС и в контрольной группе, с использованием критерия хи-квадрат оценено соответствие частот генотипов равновесию Харди-Вайнберга в контрольной группе. 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 принят $p < 0,05$.

В контрольной группе на предмет ассоциации с выбранными однонуклеотидными полиморфизмами рассмотрены антропометрические (систолическое, диастолическое, пульсовое артериальное давление, частота сердечных сокращений, индекс массы тела, окружность талии), биохимические параметры (концентрация липопротеинов низкой и высокой плотности, триглицеридов, общего холестерина, глюкозы), а в группе ВСС — данные морфологического исследования (масса сердца, толщина межжелудочковой перегородки, левого и правого желудочка), с целью более полного понимания причастности ОНП к развитию ВСС.

Нормальность распределения параметров исследована с использованием теста Колмогорова-Смирнова. При нормальном распределении дальнейшие расчеты проведены с использованием теста ANOVA и Т-теста для независимых выборок (тест Стьюдента), в остальных случаях — теста Крускала-Уоллиса. В качестве уровня значимости также принят $p < 0,05$.

Исследование выполнено с разрешения Локального этического комитета «НИИТПМ» (протокол №99 от 27.09.2016 г.).

Результаты и обсуждение

Наблюдаемые частоты генотипов ОНП rs13246896 гена HDAC9, rs35089892 гена SAMK2B в контрольной группе соответствуют ожидаемым частотам согласно равновесию Харди-Вайнберга ($\chi^2 = 2,32$, $\chi^2 = 0,31$, соответственно).

По частотам генотипов и аллелей полиморфизма rs13246896 гена HDAC9 не выявлено статистически значимых различий ($p > 0,05$) между группой ВСС и контрольной группой (табл. 1).

Однонуклеотидный полиморфизм rs13246896 локализован в интроне гена HDAC9 (с.2313 + 10619A>T), частота редкого аллеля Т около 0,2135. Полиморфизм rs13246896 гена ранее не был изучен в отношении какой-либо патологии.

Таблица 1
Частоты генотипов полиморфизма
rs13246896 гена HDAC9 в исследуемых группах

Генотип	BCC		Контрольная группа	
	n	%	n	%
AA	212	55,4	196	56,3
AT	138	36,0	123	35,3
TT	33	8,6	29	8,3
Итого:	383	100,0	348	100,0

Примечание: n – количество человек.

Ген HDAC9 (7p21.1) кодирует гистон деацетилазу 9 (histone deacetylase 9). Гистоны играют важную роль в регуляции транскрипции, клеточном цикле и развитии. Ацетилирование/деацетилирование гистона изменяет структуру хромосом и влияет на связывание транскрипционных факторов с ДНК [5]. HDAC9 связывается с транскрипционным фактором MEF26, подавляя его активность и с транскрипционным фактором TRIM29, изменяя его связь с p53 [10]. Ген экспрессируется в основном в сердце, головном мозге, а также Т-лимфоцитами, эндотелием, жировой тканью, макрофагами, гладкомышечными клетками сосудов. Повышенная экспрессия гена обнаружена в атеросклеротических бляшках, что позволяет предположить, что изменение экспрессии гена может быть связано с развитием атеросклероза [3]. Известные полиморфизмы гена связаны с ишемической болезнью сердца, ишемическим острым нарушением мозгового кровообращения (ОНМК). Так показано, что однонуклеотидные полиморфизмы rs2389995 и rs2240419 ассоциированы с ОНМК ишемического генеза в исследовании случай-контроль в Китае [13]. Носители аллеля А полиморфизма rs2240419 имеют больший риск острого коронарного синдрома, чем носители аллеля G [3]. Выявлено, что, пациенты с ишемической болезнью сердца (ИБС) имеют более высокие концентрации мРНК и самого протеина HDAC9 в крови по сравнению с группой контроля. Генотипы AG и AA полиморфизма rs2107595 гена ассоциированы с повышенным риском ИБС (нестабильной стенокардии напряжения, инфаркта миокарда с и без элевации сегмента ST). Кроме того показана связь полиморфизма с гиперлипидемией, уровнем триглицеридов у мужчин и уровнем общего холестерина у женщин, вероятностью развития атеросклероза [11, 14].

Несмотря на связь других полиморфизмов гена HDAC9 с сердечно-сосудистой патологией и патологией имеющей схожий патогенез с BCC, изучаемый полиморфизм rs13246896, выявленный по результатам полногеномного ассоциативного исследования, не подтвердил свою ассоциацию с BCC в исследуемой выборке внезапно умерших жителей Октябрьского района г. Новосибирска.

При анализе ассоциации полиморфизма rs13246896 гена HDAC9 с биохимическими параметрами в контрольной группе выявлена ассоциация ОНП с концентрацией липопротеинов низкой плотности ($p=0,027$) и общего холестерина ($p=0,049$) в крови (табл. 2). При дальнейшем использовании доминантной модели (AA vs. AT+TT) выявлено, что для носителей генотипов AT и TT характерны большие значения концентрации, как общего холестерина ($p=0,023$), так и липопротеинов низкой плотности ($p=0,013$) по сравнению с носителями генотипа AA полиморфизма rs13246896 гена HDAC9 (табл. 3). Полученные ассоциации могут свидетельствовать о роли полиморфизма в развитии изменений липидного обмена и атеросклероза, но для

того, чтобы сделать однозначный вывод о причастности полиморфизма rs13246896 гена HDAC9 к развитию липидных нарушений требуется проведение дополнительных исследований. Кроме того, необходимо отметить, что другие полиморфизмы гена HDAC9 уже были выявлены как ассоциированные с развитием атеросклероза и гиперлипидемии [11, 14].

Таблица 2
Концентрация липопротеинов низкой плотности и общего холестерина в зависимости от генотипа полиморфизма rs13246896 гена HDAC9 в контрольной группе

Показатель	Генотип	Среднее значение	Стандартное отклонение
Общий холестерин, мг/дл	AA	213,22	42,25
	AT	223,50	47,79
	TT	233,45	43,68
$p=0,049$			
Липопротеины низкой плотности, мг/дл	AA	113,35	39,78
	AT	124,06	43,64
	TT	133,82	46,03
$p=0,027$			

Таблица 3
Концентрация липопротеинов низкой плотности и общего холестерина в зависимости от генотипа полиморфизма rs13246896 гена HDAC9 в контрольной группе при использовании доминантной модели (AA vs. AT+TT)

Показатель	Генотип	Среднее значение	Стандартное отклонение
Общий холестерин, мг/дл	AA	213,22	42,25
	AT+TT	225,28	47,07
$p=0,023$			
Липопротеины низкой плотности, мг/дл	AA	113,35	39,78
	AT+TT	125,80	44,04
$p=0,013$			

По частотам генотипов полиморфизма rs35089892 гена SAMK2B выявлены статистически значимые различия между группами (табл. 4). В контрольной группе частота носителей генотипа TT значимо больше, чем в группе BCC (ОШ=0,52, 95%ДИ 0,31-0,89, $p=0,018$). При разделении групп по полу и возрасту выявленные различия сохраняются в группе старше 50 лет (ОШ=0,43, 95%ДИ 0,22-0,86, $p=0,020$) (табл. 5). Полученные результаты говорят о том, что генотип TT полиморфизма rs35089892 гена SAMK2B обладает протективным эффектом в отношении BCC, с наибольшим развитием эффекта в старшей возрастной группе (после 50 лет). Необходимо отметить, что исследуемый полиморфизм rs35089892 гена SAMK2B ранее не был изучен в отношении какой-либо патологии.

Таблица 4
Частоты генотипов полиморфизма rs35089892 гена SAMK2B в исследуемых группах

Генотип	BCC		Контрольная группа	
	n	%	n	%
TT*	23	5,9	40	10,6
TC	167	42,7	158	42,0
CC	201	51,4	178	47,3
Итого:	391	100,0	376	100,0

Примечание: n – количество человек, * указывает на статистически значимые различия.

Таблица 5
Частоты генотипов полиморфизма rs35089892 гена SAMK2B в группе старше 50 лет

Генотип	ВСС		Контрольная группа	
	n	%	n	%
ТТ*	13	5.6	27	11.9
ТС	96	41.0	85	37.6
СС	125	53.4	114	50.4
Итого:	234	100.0	226	100

Примечание: n – количество человек, * указывает на статистически значимые различия.

Однонуклеотидный полиморфизм rs35089892 локализован в интроне гена SAMK2B (с.161-6196С>Т), частота редкого аллеля А около 0,155.

Ген SAMK2B (calcium/calmodulin dependent protein kinase II beta, 7p13) кодирует бета субъединицу кальций/кальмодулин-зависимой протеинкиназы II, члена семейства серин/треонин-протеинкиназ и подсемейства Ca²⁺/кальмодулинзависимых протеинкиназ. В клетках млекопитающих данная протеинкиназа состоит из четырех цепей: альфа, бета, гамма, дельта. Ген SAMK2B кодирует бета цепь фермента. Различные изоформы бета цепи связывают с разной клеточной локализацией и различной степенью взаимодействия с кальмодулином [2]. Полиморфизмы гена SAMK2B, не были ранее изучены в отношении какой-либо сердечно-сосудистой патологии. Однако известно, что кальций/кальмодулинзависимая протеинкиназа II играет роль в развитии сердечно-сосудистых заболеваний, а именно фибрилляции предсердий, сердечной недостаточности [9, 12]. Связь протеинкиназы с сердечной патологией обусловлена тем, что ионы кальция играют роль основной сигнальной молекулы кардиомиоцитов, и модуляция их высвобождения посредством протеинкиназы неразрывно связана с риском аритмий и внезапной сердечной смерти. Ионы кальция вовлечены в процесс возбуждения/сокращения, в ходе которого электрический импульс трансформируется в мышечное сокращение. Ионы кальция имеют в первую очередь внеклеточное расположение, но также депонируются и в саркоплазматическом ретикулуме. Во время систолы электрическая деполяризация плазматической мембраны кардиомиоцита вызывает открытие потенциалзависимых кальциевых каналов (Cav1.2), что позволяет ионам кальция поступать в цитоплазму, вызывая высвобождение ионов кальция из саркоплазматического ретикулума посредством сердечных риаудиновых рецепторов (RyR2). Повышение уровня цитоплазматических ионов кальция позволяет произойти сердечному сокращению в момент систолы. Диастолическое уменьшение ионов кальция связано с их возвращением в саркоплазматический ретикулум посредством SERCA2a. Таким образом, изменение в динамике концентрации ионов кальция может привести к развитию нарушений ритма, в том числе и летальных. RyR2 – самый большой ионный канал человеческого организма, представляет собой макромолекулярный комплекс, состоящий прежде всего из FK506-связывающего протеина 12.6 (FKBP12.6), кальсеквестрина, кальмодулина. Дополнительно, RyR2 вовлечен в изменение ритма сердца посредством множества внутриклеточных сигнальных механизмов. Эти пути включают стимуляцию симпатической нервной системы (ведущую к фосфорилированию RyR2 протеинкиназой А) и внутриклеточную концентрацию ионов кальция (кальций/кальмодулинзависимая протеинкиназа II) [6].

Таким образом, кальций/кальмодулинзависимая протеинкиназа II играет значимую роль в нормальной работе сердца, а изменения в ее функционировании могут привести к разви-

тию сердечной патологии, в первую очередь нарушений ритма сердца. Полученные нами результаты свидетельствуют об ассоциации одного из полиморфизмов гена, кодирующего бета цепь кальций/кальмодулинзависимой протеинкиназы II, с ВСС.

Заключение

По результатам исследования «случай-контроль» не была подтверждена ассоциация полиморфизма rs13246896 гена HDAC9, выявленного как возможный новый молекулярно-генетический маркер ВСС в собственном полногеномном ассоциативном исследовании, с ВСС.

Тогда как полиморфизм rs35089892 гена SAMK2B, выявленный в том же полногеномном ассоциативном исследовании, подтвердил свою ассоциацию с ВСС. Генотип ТТ полиморфизма ассоциирован с протективным эффектом в отношении ВСС.

Исследование выполнено при поддержке стипендии Правительства Новосибирской области. Кроме того, работа частично поддержана бюджетными проектами № 0120.0 502961 и № 0324-2016-0002.

Литература

1. Бабенко ВН, Максимов ВН, Кулакова ЕВ, Сафронова НС, Воевода МИ, Рогаев ЕИ. Полногеномный анализ пулированных выборок ДНК когорт человека. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2014;18(4-2):847-55.
2. SAMK2B calcium/calmodulin dependent protein kinase II beta [Homo sapiens (human)] [Интернет]. Доступно: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/816>
3. Han Z, Dong X, Zhang C, Wu Y, Yuan Z, Wang X. Polymorphism of HDAC9 Gene Is Associated with Increased Risk of Acute Coronary Syndrome in Chinese Han Population. *BioMed Research International*. 2016;2016:3746276. DOI: 10.1155/2016/3746276.
4. Hertz CL, Christiansen SL, Ferrero-Miliani L, Fordyce SL, Dahl M, Holst AG, Ottesen GL, Frank-Hansen R, Bundgaard H, Morling N. Next-generation sequencing of 34 genes in sudden unexplained death victims in forensics and in patients with channelopathic cardiac diseases. *International Journal of Legal Medicine*. 2015;129(4):793-800. DOI:10.1007/s00414-014-1105-y.
5. HDAC9 histone deacetylase 9 [Homo sapiens (human)] [Интернет]. Доступно: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/9734>
6. McCauley MD, Wehrens XH. Ryanodine receptor phosphorylation, calcium/calmodulin-dependent protein kinase II, and life-threatening ventricular arrhythmias. *Trends Cardiovascular Medicine*. 2011;21(2):48-51. DOI: 10.1016/j.tcm.2012.02.004.
7. Morini E, Sangiulio F, Caporossi D, Novelli G, Amati F. Application of Next Generation Sequencing for personalized medicine for sudden cardiac death. *Frontiers in Genetics*. 2015;6:55. DOI: 10.3389/fgene.2015.00055.
8. Priori SG, Aliot E, Blomstrom-Lundqvist C, Blom N, Borggrefe M, Camm J, Elliott PM, Fitzsimons D, Hatala R, Hindricks G, Kirchhof P, Kjeldsen K, Kuck KH, Hernandez-Madrid A, Nikolaou N, Norekv I TM, Spaulding C, Van Veldhuisen DJ. 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). *Giornale Italiano di Cardiologia*. 2016;17(2):108-70. DOI: 10.1714/2174.23496.
9. Purohit A, Rokita AG, Guan X, Chen B, Koval OM, Voigt N, Neef S, Sowa T, Gao Z, Luczak ED, Stefansdottir H, Behunin AC, Li N, El-Accaoui RN, Yang B, Swaminathan PD, Weiss RM, Wehrens XH, Song LS, Dobrev D, Maier LS, Anderson ME. Oxidized Ca(2+)/calmodulin-dependent protein kinase II triggers atrial fibrillation. *Circulation*. 2013;128(16):1748-57. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.003313.
10. Smith JD. New role for histone deacetylase 9 in atherosclerosis and inflammation. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2014;34(9):1798-9. DOI: 10.1161/ATVBAHA.114.304295.

11. Su L, Shen T, Liang B, Xie J, Tan J, Chen Q, Wei Q, Jiang H, Gu L. Association of GWAS-supported loci rs2107595 in HDAC9 gene with ischemic stroke in southern Han Chinese. *Gene*. 2015;570(2):282-7. DOI: 10.1016/j.gene.2015.06.036
12. Toko H, Takahashi H, Kayama Y, Oka T, Minamino T, Okada S, Morimoto S, Zhan DY, Terasaki F, Anderson ME, Inoue M, Yao A, Nagai R, Kitaura Y, Sasaguri T, Komuro I. Ca²⁺/calmodulin-dependent kinase II δ causes heart failure by accumulation of p53 in dilated cardiomyopathy. *Circulation*. 2010;122(9):891-9. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.935296.
13. Qingxu G, Yan Z, Jiannan X, Yunlong L. Association Between the Gene Polymorphisms of HDAC9 and the Risk of Atherosclerosis and Ischemic Stroke. *Pathology Oncology Research*. 2016;22(1):103-7. DOI: 10.1007/s12253-015-9978-8.
14. Wang XB, Han YD, Sabina S, Cui NH, Zhang S, Liu ZJ, Li C, Zheng F. HDAC9 Variant Rs2107595 Modifies Susceptibility to Coronary Artery Disease and the Severity of Coronary Atherosclerosis in a Chinese Han Population. *PLoS One*. 2016;11(8):e0160449. DOI: 10.1371/journal.pone.0160449.

References

1. Babenko VN, Maximov VN, Kulakova EV, Safronova NS, Voevoda MI, Rogaev EI. Genome-wide SNP allelotyping of human cohorts by pooled DNA samples. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*. 2014;18(4-2):847-55.
2. CAMK2B calcium/calmodulin dependent protein kinase II beta [Homo sapiens (human)] [Internet]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/816>
3. Han Z, Dong X, Zhang C, Wu Y, Yuan Z, Wang X. Polymorphism of HDAC9 Gene Is Associated with Increased Risk of Acute Coronary Syndrome in Chinese Han Population. *BioMed Research International*. 2016;2016:3746276. DOI: 10.1155/2016/3746276.
4. Hertz CL, Christiansen SL, Ferrero-Miliani L, Fordyce SL, Dahl M, Holst AG, Ottesen GL, Frank-Hansen R, Bundgaard H, Morling N. Next-generation sequencing of 34 genes in sudden unexplained death victims in forensics and in patients with channelopathic cardiac diseases. *International Journal of Legal Medicine*. 2015;129(4):793-800. DOI:10.1007/s00414-014-1105-y.
5. HDAC9 histone deacetylase 9 [Homo sapiens (human)] [Internet]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/9734>
6. McCauley MD, Wehrens XH. Ryanodine receptor phosphorylation, calcium/calmodulin-dependent protein kinase II, and life-threatening ventricular arrhythmias. *Trends Cardiovascular Medicine*. 2011;21(2):48-51. DOI: 10.1016/j.tcm.2012.02.004.
7. Morini E, Sangiuolo F, Caporossi D, Novelli G, Amati F. Application of Next Generation Sequencing for personalized medicine for sudden cardiac death. *Frontiers in Genetics*. 2015;6:55. DOI: 10.3389/fgene.2015.00055.
8. Priori SG, Aliot E, Blomstrom-Lundqvist C, Blom N, Borggrefe M, Camm J, Elliott PM, Fitzsimons D, Hatala R, Hindricks G, Kirchhof P, Kjeldsen K, Kuck KH, Hernandez-Madrid A, Nikolaou N, Norekvål TM, Spaulding C, Van Veldhuisen DJ. 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). *Giornale Italiano di Cardiologia*. 2016;17(2):108-70. DOI: 10.1714/2174.23496.
9. Purohit A, Rokita AG, Guan X, Chen B, Koval OM, Voigt N, Neef S, Sowa T, Gao Z, Luczak ED, Stefansdottir H, Behunin AC, Li N, El-Accaoui RN, Yang B, Swaminathan PD, Weiss RM, Wehrens XH, Song LS, Dobrev D, Maier LS, Anderson ME. Oxidized Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II triggers atrial fibrillation. *Circulation*. 2013;128(16):1748-57. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.003313.
10. Smith JD. New role for histone deacetylase 9 in atherosclerosis and inflammation. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and*

Vascular Biology. 2014;34(9):1798-9. DOI: 10.1161/ATVBAHA.114.304295.

11. Su L, Shen T, Liang B, Xie J, Tan J, Chen Q, Wei Q, Jiang H, Gu L. Association of GWAS-supported loci rs2107595 in HDAC9 gene with ischemic stroke in southern Han Chinese. *Gene*. 2015;570(2):282-7. DOI: 10.1016/j.gene.2015.06.036
12. Toko H, Takahashi H, Kayama Y, Oka T, Minamino T, Okada S, Morimoto S, Zhan DY, Terasaki F, Anderson ME, Inoue M, Yao A, Nagai R, Kitaura Y, Sasaguri T, Komuro I. Ca²⁺/calmodulin-dependent kinase II δ causes heart failure by accumulation of p53 in dilated cardiomyopathy. *Circulation*. 2010;122(9):891-9. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.935296.
13. Qingxu G, Yan Z, Jiannan X, Yunlong L. Association Between the Gene Polymorphisms of HDAC9 and the Risk of Atherosclerosis and Ischemic Stroke. *Pathology Oncology Research*. 2016;22(1):103-7. DOI: 10.1007/s12253-015-9978-8.
14. Wang XB, Han YD, Sabina S, Cui NH, Zhang S, Liu ZJ, Li C, Zheng F. HDAC9 Variant Rs2107595 Modifies Susceptibility to Coronary Artery Disease and the Severity of Coronary Atherosclerosis in a Chinese Han Population. *PLoS One*. 2016;11(8):e0160449. DOI: 10.1371/journal.pone.0160449.

Сведения об авторах

Иванова Анастасия Андреевна, Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины; адрес: Российская Федерация, 630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1, тел.: +7(383)2642516; e-mail: ivanova_a_a@mail.ru

Максимов Владимир Николаевич, Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины, Новосибирский государственный медицинский университет; адрес: Российская Федерация, 630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1; 630091, г. Новосибирск, ул. Красный проспект, 52; Российская Федерация; тел.: +7(383)2642516; e-mail: medik11@mail.ru

Малютина Софья Константиновна, Новосибирский государственный медицинский университет, Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины; адрес: Российская Федерация, 630091, г. Новосибирск, ул. Красный проспект, 52; Российская Федерация, 630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1, e-mail: smalyutina@hotmail.com

Воевола Михаил Иванович, Новосибирское областное клиническое бюро судебно-медицинской экспертизы; адрес: Российская Федерация, 630087, г. Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, 134.

Савченко Сергей Владимирович, Новосибирский государственный медицинский университет, Новосибирское областное клиническое бюро судебно-медицинской экспертизы; адрес: Российская Федерация, 630091, г. Новосибирск, ул. Красный проспект, 52; Российская Федерация, 630087, г. Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, 134; e-mail: dr.serg62@yandex.ru

Воевола Михаил Иванович, Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины, Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук; адрес: Российская Федерация, 630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1; Российская Федерация, 630090, г. Новосибирск, пр. акад. Лаврентьева, 10; тел.: +7(383)3730981; e-mail: mvoevoda@yandex.ru

Information about the authors

Ivanova Anastasiya Andreevna, Research Institution of Internal and Preventive Medicine; Address: 175/1, B. Bogatkov Str., Novosibirsk, 630089, Russian Federation; Phone: +7(383)2642516; e-mail: ivanova_a_a@mail.ru

Maksimov Vladimir Nikolaevich, Novosibirsk State Medical University; Institution of Internal and Preventive Medicine; Address: 52, Krasnyi Prospect, Novosibirsk, 630091, Russian Federation; 175/1, B. Bogatkov Str., Novosibirsk, 630089, Russian Federation; Phone: +7(383)2642516; e-mail: medik11@mail.ru

Malyutina Sofia Konstantinovna, Novosibirsk State Medical University; Institution of Internal and Preventive Medicine; Address: 52, Krasnyi Prospect, Novosibirsk, 630091, Russian Federation; 175/1, B. Bogatkov Str., Novosibirsk, 630089, Russian Federation; e-mail: smalyutina@hotmail.com

Voesolov Vladimir Pavlovich, Novosibirsk Regional Office of Forensic Medical Examination; Address: 134, Nemirovich-Danchenko Str., 630087, Russian Federation

Savchenko Sergey Vladimirovich, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk Regional Office of Forensic Medical Examination; Address: 52, Krasnyi Prospect, Novosibirsk, 630091, Russian Federation; 134, Nemirovich-Danchenko Str., 630087, Russian Federation; e-mail: dr.serg62@yandex.ru

Voevoda Mikhail Ivanovich, Research Institution of Internal and Preventive Medicine, Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences; Address: 175/1 B. Bogatkov Str., Novosibirsk, 630089, Russian Federation; 10, Ac. Lavrent'ev Pr., 630090, Novosibirsk, Russian Federation; Phone: +7(383)3730981; e-mail: mvoevoda@yandex.ru

Поступила 15.03.2017 г.
Принята к печати 26.04.2017 г.