

Нестерец Алина Михайловна

**АССОЦИАЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ С ДЛИТЕЛЬНОСТЬЮ
ИНТЕРВАЛА QT У МУЖЧИН**

3.1.20. Кардиология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»

Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Максимов Владимир Николаевич

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, доцент

Кашталап Василий Васильевич

(Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», заведующий отделом клинической кардиологии)

доктор медицинских наук, доцент

Лифшиц Галина Израилевна

(Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук», заведующая лабораторией персонализированной медицины)

Ведущая организация: Научно-исследовательский институт кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (НИИ кардиологии Томского НИМЦ) (г. Томск)

Защита диссертации состоится «18» ноября 2022 года в 14-00 на заседании диссертационного совета 24.1.239.02 созданного на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» по адресу: 630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, д. 175/1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН (630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, д. 175/1, <https://iimed.ru>)

Автореферат разослан «_____» _____ 2022 года

Ученый секретарь Диссертационного Совета

доктор медицинских наук

С. В. Мустафина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность избранной темы.

Интервал QT является неотъемлемой частью интерпретации электрокардиограммы (ЭКГ), удлинение или укорочение которого повышает риск развития жизнеугрожающих аритмий, а также внезапной сердечной смерти (ВСС).

В западных странах ВСС составляет 20 % общей летальности и 50 % летальности, связанной с сердечно-сосудистыми заболеваниями [Zaman S. et al., 2019; Wong C. X. et al., 2019]. Около 4 % всех случаев ВСС в возрасте до 35 лет, по данным Skinner J.R. et al., обусловлены наличием ионных каналопатий [Skinner J. R. et al., 2019]. Изучение генетически опосредованных аритмогенных предикторов ВСС представляет особый интерес в кардиологической практике.

Синдром удлиненного интервала QT (LQTS) является одним из основных факторов риска ВСС молодых людей. Частота встречаемости LQTS составляет 1:2000, в то время как синдром укороченного интервала QT (SQTS) встречается крайне редко, на сегодняшний день зарегистрировано около 100 случаев в мире [Skinner J. R. et al., 2019; Campuzano O. et al., 2019].

Продолжительность интервала QT зависит от влияния ряда факторов, включая пол, возраст, частоту сердечных сокращений (ЧСС), курение, ожирение, гормональный дисбаланс, электролитные нарушения, наличие морфофункциональных изменений, полиморфизмы или мутации в генах, отвечающих за функцию сердечных ионных каналов, а также прием некоторых лекарственных препаратов.

Современные методы молекулярно-генетической диагностики позволили определить 17 подтипов LQTS и 8 подтипов SQTS, связанных с мутациями в генах *KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*, *ANKB*, *KCNE1*, *KCNE2*, *KCNJ2*, *CACNA1C*, *CAV3*, *SCN4B*, *AKAP9*, *SNTA1*, *KCNJ5*, *CALM1*, *CALM2*, *CACNB2b*, *CACNA2D1*, *SLC4A3* [Campuzano O. et al., 2019; Garcia-Elias A. et al., 2018; Dewi I. P. et al., 2020; Wallace E. et al., 2019]. Однако примерно в 25 % случаев LQTS не удаётся найти причинную мутацию, что связывают с полигенным типом наследования данного признака [Lahrouchi N. et al., 2020].

Таким образом, изучение новых вариантов нуклеотидной последовательности (ВНП) и оценка их ассоциации с длительностью интервала QT остается актуальной проблемой в настоящее время.

Степень разработанности темы

Появление первых описаний синдрома удлиненного интервала QT в работах Л. Вольфа в 1950 году, А. Джервелла и Ф. Ланге – Нильсена в 1957 году являлось предпосылкой для изучения модифицируемых и немодифицируемых факторов, влияющих на длительность интервала QT [Castiglione A. et al., 2020].

Проведение популяционных исследований позволило обнаружить отличительные особенности выборок, определить наиболее значимые факторы риска. Так, в исследовании китайской популяции удлинение интервала QT не было достоверно связано с наличием женского пола, общего

ожирения, гипокальциемии, гипомагниемии, в то время как другие факторы (возраст, абдоминальное ожирение, гипертония, сахарный диабет, гипокалиемия и лекарственные воздействия) были ассоциированы с удлинением интервала QT, а высокая физическая активность снижала риск удлинения скорректированного интервала QT (QTc) на 70,2 % [Ma Q. et al., 2019]. В 2005 году в популяции США такими факторами являлись возраст, женский пол, гипокальциемия у мужчин, гипокалиемия у женщин, заболевания щитовидной железы и наличие в анамнезе инфаркта миокарда у мужчин. Прием препаратов, удлиняющих интервал QT, был связан с более чем двукратным увеличением вероятности удлинения интервала QT как у мужчин, так и у женщин [Benoit S. R. et al., 2005]. В 2016 году по результатам систематического обзора публикаций в базах данных Medline и Embase получены убедительные доказательства влияния гипокалиемии, диуретиков, антиаритмических препаратов и препаратов, удлиняющих QTc. Сомнительные результаты получены относительно гиперлипидемии, дигоксина, статинов, неврологических расстройств, сахарного диабета, почечной недостаточности, депрессии, злоупотребления алкоголем, частоты сердечных сокращений, легочных заболеваний, заместительной гормональной терапии, гипомагниемии [Vandael E. et al., 2017].

Генетические исследования, включая исследования «случай-контроль» с применением метода ПЦР, исследования с помощью методов секвенирования нового поколения, GWAS, позволяют идентифицировать и изучить большое количество популяционно-специфических вариантов нуклеотидной последовательности, влияющих на продолжительность интервала QT, что подтверждает необходимость проведения собственных исследований. Известно более 600 мутаций в 17 генах LQTS. Чаще всего при LQTS обнаруживаются мутации в генах *KCNQ1*, *KCNH2* и *SCN5A* [Baracaldo-Santamaría D. et al., 2021].

Ген *SCN5A* кодирует α -субъединицу натриевого ионного канала кардиомиоцитов. Более 300 мутаций в данном гене ассоциируют с развитием 3-го подтипа LQTS [Wallace E. et al., 2019]. Скрининг в индийской когорте лиц с подтвержденным LQTS и их родственников первой линии с помощью методов ПЦР/SSCP обнаружил 5 полиморфизмов гена *SCN5A*, связанных с LQTS [Qureshi S. F. et al., 2015]. Вариант rs1805124 (H558R) является генетическим предиктором не только LQTS [Qureshi S. F. et al., 2015; Mazzaccara C. et al., 2018; Gouas L. et al., 2005], но и идиопатических нарушений атриовентрикулярной и внутрижелудочковой проводимости [Matsumura H. et al., 2017; Nikulina S. Y. et al., 2015], идиопатического синдрома слабости синусового узла [Mazzaccara C. et al., 2018; Чурнова А. А. и соавт., 2013], синдрома Бругада [Mazzaccara C. et al., 2018; Nikulina S. Y. et al., 2015], фибрилляции предсердий [Mazzaccara C. et al., 2018; Nikulina S. Y. et al., 2015; Chen L. et al., 2011; Liu J. et al., 2021], желудочковой тахикардии [Rangaraju A. et al., 2018], семейной дилатационной кардиомиопатии [Mazzaccara C. et al., 2018], ВСС [Qureshi S. F. et al., 2015; Wang J. et al., 2018]. H558R является модификатором, который может либо ослаблять, либо усиливать эффекты конкретных мутаций гена *SCN5A* [Wilders R., 2018]. Некоторые популяционные исследования, включающие изучение данного полиморфизма гена *SCN5A*, показали противоположные результаты. Так, в работе Ивановой А.А. и соавторов не подтвердилась ассоциация H558R с ВСС у жителей города

Новосибирска, но отмечена связь с общим холестерином (ОХС), индексом атерогенности [Иванова А. А. и соавт., 2017].

Вариант rs11720524 гена *SCN5A* в европейской популяции показал значимую связь с внезапной аритмической смертью [Albert C. M. et al., 2010]. В исследовании случай-контроль, проведенном в Корее, частота аллеля С rs11720524, минорного в данной популяции, была вдвое выше в группе ВСС, чем в контрольной группе, однако, данная связь оказалась статистически незначимой, в том числе при разделении по полу [Son M. K. et al., 2013]. Не получено статистически значимых различий и при анализе частот генотипов между группой ВСС и контрольной группой у мужчин г. Новосибирска [Максимов В. Н. и соавт., 2018], в то время как в датском исследовании GEVAMI отмечена значимая ассоциация генотипа СС rs11720524 с фибрилляцией желудочков вследствие инфаркта миокарда с элевацией сегмента ST [Jabbari R. et al., 2017]. Учитывая функцию гена *SCN5A*, rs11720524 требует дальнейшего изучения с целью определения роли в развитии фибрилляции желудочков и ВСС, которые, вероятно, связаны с изменениями интервала QT, RR или QRS при наличии неравновесного сцепления с соседними однонуклеотидными полиморфизмами (ОНП).

Ген *KCNQ1* кодирует α – субъединицу калиевого канала $K_{V7.1}$. Мета-анализ данных трех полногеномных ассоциативных исследований (Framingham Heart Study, Rotterdam Study и Cardiovascular Health Study) определил два варианта гена *KCNQ1*, которые были связаны с продолжительностью интервала QT. Одним из них являлся rs12576239, минорный аллель которого связан с удлинением интервала QT [Newton-Cheh C. et al., 2009]. Подобные результаты были получены Noseworthy P. A. et al. (2011) [Noseworthy P. A. et al., 2011] и Kolder I. C. R. M. et al. (2015) у лиц со 2 подтипом LQTS, связанным с мутациями в гене *KCNH2* [Kolder I. C. R. M. et al., 2015]. Однако известны и противоположные результаты.

Ген *NOS1AP*, расположенный на длинном плече 1-й хромосомы (1q23.3), кодирует цитозольный белок, который связывается с сигнальной молекулой и способствует взаимодействию нейрональной синтазы оксида азота (nNOS) с внутриклеточными эффекторами. ОНП гена *NOS1AP* вызывают дисфункцию NOS1, усиливают входящие кальциевые и натриевые токи, что пролонгирует потенциал действия кардиомиоцитов, влияя на продолжительность интервала QT, облегчая развитие аритмий. Известен ряд ОНП данного гена, связанных с LQTS и ВСС, включая rs10494366, rs12143842, rs10918594, rs4657139, rs16847548 и др. [Castiglione A. et al., 2020; Aarnoudse A-J. L. H. J. et al., 2007; Crotti L. et al., 2009; Winbo A. et al., 2017]. В 2014 году в мета-анализе Arking D. et al. идентифицировали 35 распространенных вариантов, которые в совокупности объясняют около 8–10 % вариабельности интервала QT, показана ассоциация аллеля Т rs12143842 с пролонгацией интервала QT [Arking D. E. et al., 2014], что в дальнейшем нашло свое подтверждение в исследованиях случай – контроль финской [Mitchell R. N. et al., 2019], китайской [Lu J. et al., 2010], афроамериканской популяциях [Avery C. L. et al., 2012]. Кроме того, в 2018 году Орлов П. С. и соавторы подтвердили ассоциацию rs12143842 с ВСС у лиц, проживающих в г. Новосибирске [Орлов П. С. и соавт., 2018].

Вариант rs4657139 гена *NOS1AP* в работе Crotti L. et al. на популяции Южной Африки показал связь с возникновением симптомов и клинической тяжестью LQTS, у носителей мутации A341V в

гене *KCNQ1* [Crotti L. et al., 2009]. В исследовании Tomás M. et al. минорный аллель T был ассоциирован с удлинением интервала QTc на 7 мс [Tomás M. et al., 2010], однако в 2017 году в шведской популяции были получены обратные результаты, rs4657139 не показал значимой связи [Winbo A. et al., 2017].

В рамках исследования QTGEN минорный аллель ОНП rs11756438 (C > A), расположенный на длинном плече 6 хромосомы (6q22.31), в интронной области гена *CEP85L* вблизи генов *SLC35F1* и *PLN*, также был ассоциирован с более длинным интервалом QT. Ген *PLN* кодирует белок фосфоламбан, ингибитор Ca²⁺-аденозинтрифосфатазы сердечного саркоплазматического ретикулула, который играет роль в передаче сигналов кальция в кардиомиоцитах [Newton-Cheh C. et al., 2009]. В дополнение к вышесказанному, имеются данные о связи этого локуса с большей ЧСС и с меньшим конечным диастолическим размером левого желудочка [Vasan R. S., et al., 2009].

Цель исследования

Изучить ассоциацию молекулярно-генетических маркеров с длительностью интервала QT у мужчин в возрасте 25–69 лет из популяционной выборки жителей г. Новосибирска.

Задачи исследования

1. Проверить ассоциацию длительности интервала QT с рядом молекулярно-генетических маркёров путём сравнения частот генотипов и аллелей в отобранных контрастных по длительности интервала QT группах.

2. Изучить в мультивариантных моделях влияние некоторых однонуклеотидных вариантов и традиционных сердечно-сосудистых факторов риска на длительность интервала QT.

3. Оценить результаты секвенирования панели генов у 30 мужчин с самыми длинными интервалами QT с целью поиска возможных мутаций и полиморфизмов, влияющих на продолжительность интервала QT.

Научная новизна

Впервые в России в случайной выборке мужчин (1353 человека) из сибирской городской популяции в широком возрастном диапазоне (25–69 лет) проведено измерение длительности интервала QT с последующей оценкой его ассоциации с молекулярно-генетическими маркерами в гене *SCN5A* (rs1805124, rs11720524), гене *KCNQ1* (rs12576239), гене *NOS1AP* (rs12143842, rs4657139), гене *CEP85L* (rs11756438). Выполнено сравнение полученных результатов с зарубежными данными, полученными в других этнических группах.

При логистическом регрессионном анализе учтено влияние дополнительных факторов (систолическое (САД) и диастолическое артериальное давление (ДАД), ЧСС, индекс массы тела (ИМТ), окружность талии (ОТ), соотношение окружности талии к окружности бедер (ОТ/ОБ), показатели липидного профиля, уровень глюкозы плазмы натощак (ГПН), наличие курения в анамнезе). ОНП rs11720524 гена *SCN5A*, rs11756438 гена *CEP85L*, rs12143842 и rs4657139 гена *NOS1AP* сохранили независимое влияние на длительность интервала QT. Отношение шансов попадания в группу длинного интервала QT значительно выше у мужчин-носителей гомозиготного генотипа ТТ rs4657139 и у носителей генотипа ТТ rs12143842 гена *NOS1AP* в возрасте 50 лет и

старше (ОШ = 2,66; 95 % ДИ 1,33–5,31; $p = 0,006$ и ОШ = 4,04; 95 % ДИ 1,35–12,03; $p = 0,012$). Носители гетерозиготного генотипа CG rs11720524 гена *SCN5A* чаще имели короткий интервал QT в возрасте до 50 лет ($p = 0,016$), а гомозиготный генотип AA rs11756438 гена *CEP85L* значительно реже встречался в группе мужчин с коротким интервалом QT ($p = 0,031$), по сравнению с группой со средним интервалом QT. Не обнаружена ассоциация rs1805124 гена *SCN5A* и rs12576239 гена *KCNQ1* с продолжительностью интервала QT.

Анализ результатов секвенирования позволил определить 3 вероятно причинных варианта нуклеотидной последовательности (p.Pro197Leu гена *KCNQ1*, p.Arg176Trp и p.Asp1003GlyfsX116 гена *KCNH2*) у мужчин с самым длинным интервалом QT, что составляет 10 % от исследуемой группы.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты исследования позволяют предварительно оценить частоту генотипов и аллелей однонуклеотидных вариантов, мутаций в генах LQTS у мужчин в популяции Новосибирска и способствуют лучшему пониманию ряда популяционных особенностей, что в перспективе позволит выработать необходимый, индивидуализированный подход к тактике ведения пациентов.

Полученные данные об ассоциации изученных маркёров с длиной интервала QT могут быть полезны при планировании дальнейших исследований, нацеленных на разработку полигенного рискметра длины интервала QT у мужчин в популяции Новосибирска.

Положения, выносимые на защиту

1. Однонуклеотидные варианты rs11720524 гена *SCN5A*, rs11756438 гена *CEP85L*, rs12143842 и rs4657139 гена *NOS1AP* являются независимыми факторами, ассоциированными с длительностью интервала QT у мужчин, жителей г. Новосибирска.

2. 10 % мужчин с пограничным удлинением интервала QT являются носителями патогенных или вероятно патогенных вариантов нуклеотидной последовательности в генах синдрома LQT.

3. Не выявлено ассоциации однонуклеотидных вариантов rs1805124 гена *SCN5A* и rs12576239 гена *KCNQ1* с длительностью интервала QT у мужчин, жителей г. Новосибирска.

Степень достоверности и апробации результатов

Достоверность результатов обусловлена достаточным количеством лиц в исследуемых группах ($n = 185, 178, 179$).

Использование стандартизированных высокотехнологичных функционально-диагностических методов исследований, лабораторных исследований с контролем качества по протоколу международного проекта, современного программного обеспечения подтверждает достоверность результатов и выводов диссертационной работы. Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета программ SPSS (версия 23.0).

Основные результаты, положения и выводы исследования доложены на IX съезде кардиологов Сибирского федерального округа «Решение актуальных проблем кардиологии для персонализированной медицины» (г. Новосибирск, 2021), на Международной научно-практической конференции «Медицинская наука в эру цифровой трансформации» (г. Курск, 2021), VIII съезде

терапевтов Сибирского федерального округа (г. Новосибирск, 2022), опубликованы в реферируемых изданиях и не получили существенных критических замечаний и комментариев.

Публикации результатов исследования

По материалам диссертации опубликовано 8 научных работ, в том числе 4 статьи в центральных российских журналах, рекомендованных Перечнем ВАК Российской Федерации, 3 из которых опубликованы в журналах, входящих в международную реферативную базу данных и систем цитирования (Scopus и/или Web of Science).

Объем и структура работы

Диссертационная работа изложена на 160 страницах машинописного текста, иллюстрирована таблицами и рисунками. Состоит из введения, трех глав (обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты и обсуждения), заключения, содержит выводы, практические рекомендации и список цитируемой литературы, включающий 22 ссылки на отечественные и 211 ссылок на зарубежные источники.

Личный вклад автора

Автор принимал участие в разработке научной концепции и дизайна диссертационного исследования. Автором проведен анализ данных литературы и выбраны молекулярно-генетические маркеры, которые были включены в исследование. Сформированы группы исследования и отобраны образцы ДНК, совместно с сотрудниками лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний проведены все генетические исследования. Автором выполнен анализ, статистическая обработка и интерпретация полученных результатов. В соавторстве написаны и опубликованы печатные работы в журналах, рекомендованных Перечнем ВАК, в которых отражены полученные результаты.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Настоящее исследование имеет дизайн - одномоментное/кросс-секционное популяционное исследование. Базой для набора исследуемых групп служили популяционные репрезентативные выборки, сформированные в период с 2003 по 2017 гг. в НИИТПМ – филиале ИЦиГ СО РАН, международного проекта НАПЕЕ (Health, Alcohol and Psychosocial factors In Eastern Europe) и скрининга молодых людей 25–44 лет [Peasey A. et al., 2006; Рагино Ю. И. и соавт., 2019]. Согласно протоколам проекта НАПЕЕ и скрининга молодых людей 25–44 лет репрезентативные выборки состояли из 9360 человек и 1512 человек соответственно. Все участники ранее подписали добровольное информированное согласие. Проведение исследования одобрено Локальным Этическим Комитетом НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН (26.11.2019, протокол № 161). Исследование выполнено при финансовой поддержке Гранта РФФИ № 17-29-06036.

Исследуемая выборка была отобрана с помощью таблицы случайных чисел и составила 1353 мужчины (779 мужчин из проекта НАПЕЕ и 574 из скрининга молодых людей 25–44 лет) в возрасте 25–69 лет, проживающих в г. Новосибирске, которым была записана электрокардиограмма и рассчитан скорректированный интервал QT. С целью нивелирования влияния возраста на длительность

интервала QT общая выборка была разделена на 9 возрастных подгрупп с интервалом в 5 лет: 25–29, 30–34, 35–39, 40–44, 45–49, 50–54, 55–59, 60–64, 65–69 лет.

Каждая возрастная группа была разделена на терции. 12–14 % (18–20 человек) с самым коротким и с самым длинным интервалом QTс из нижнего и верхнего терция отобраны методом сортировки данных (крайние значения), лица со средним интервалом QT из среднего терция – с помощью таблицы случайных чисел. Из каждой возрастной подгруппы с самым коротким, средним и самым длинным интервалом QT сформированы следующие группы: QT короткий (185 человек), QT средний (178 человек) и QT длинный (179 человек). Возраст 50 лет являлся дополнительной условной возрастной границей с целью определения особенностей у лиц старше и младше 50 лет, принимая во внимание тот факт, что значимое влияние генетических факторов, носительства определенных ВВП, традиционно следует ожидать в молодом возрасте, в том числе на продолжительность интервала QT, в то время как после 45–50 лет отмечается их сочетанное влияние с другими факторами, включая ишемическую болезнь сердца, артериальную гипертензию, приобретенные клапанные пороки и т.д. [Wong C. X. et al., 2019; Hayashi M. et al., 2015]. Вторым этапом исследования из каждой возрастной подгруппы с длинным интервалом QT отобрано 3–4 образца с самым длинным интервалом QT и сформирована группа из 30 мужчин, которым в последующем выполнялось секвенирование ДНК с поиском патогенных, вероятно патогенных вариантов и вариантов неопределенного значения в генах LQTS (рисунок 1).

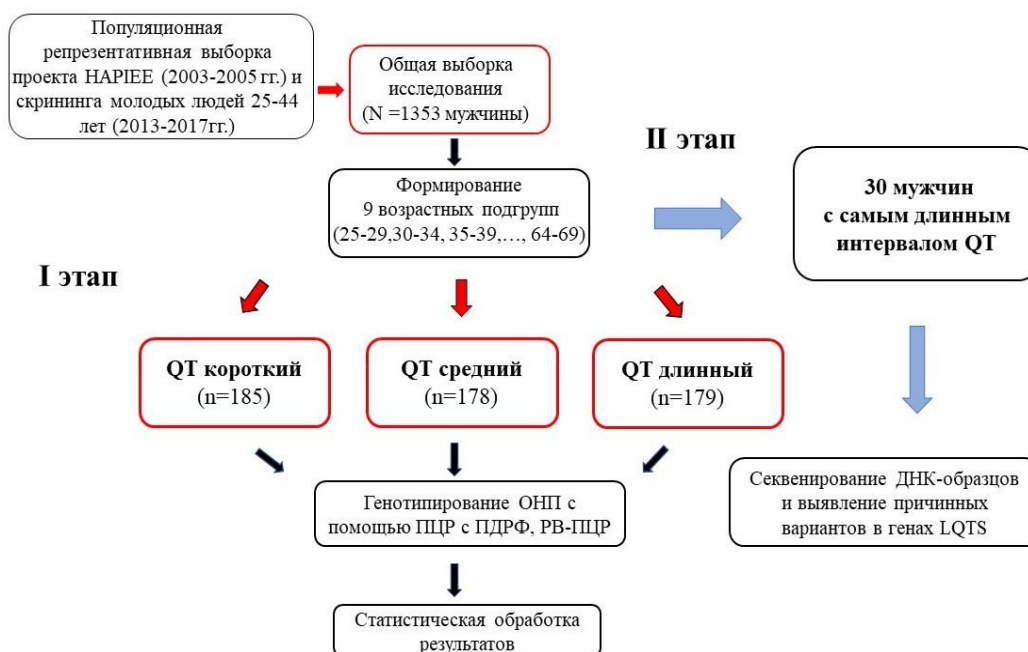


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Критерии исключения: женский пол, возраст младше 25 или старше 70 лет, искусственный водитель ритма, блокада ножек пучка Гиса и их ветвей, феномен предвозбуждения желудочков,

эктопия более 25 % от основных комплексов, фибрилляция/трепетание предсердий, признаки Q-позитивного инфаркта миокарда, значительное количество артефактов на ЭКГ.

В программу обследования исходных выборок были включены клинико-анамнестические данные, в т.ч. наличие вредных привычек (курение), данные объективного осмотра (рост, вес, ИМТ, ОТ, окружность бедер (ОБ), ОТ/ОБ, САД, ДАД, ЧСС, биохимические показатели (ОХС, липопротеиды низкой плотности (ХС-ЛНП), липопротеиды высокой плотности (ХС-ЛВП), триглицериды (ТГ), ГПН), электрокардиографические данные (интервал QT). Информация о табакокурении ограничивалась данными о факте курения на момент исследования (курит в настоящее время, никогда не курил/курение в прошлом).

Электрокардиографическое исследование. Запись ЭКГ выполнена в 12 общепринятых отведениях в положении лежа на спине на 3-канальном электрокардиографе Fukuda Denshi (Япония) со скоростью 25 мм/сек.

Во II стандартном отведении проведено измерение интервалов QT и RR в соответствии с общепринятыми рекомендациями [Indraratna P. et al., 2020]. Началом интервала QT считали самую раннюю точку комплекса QRS (место перехода изоэлектрической линии сегмента PQ (R) в зубец Q (R)), окончанием – максимально позднюю точку зубца T (место его перехода в изоэлектрическую линию TP). В случаях нечеткого окончания зубца T, использовали «метод касательной». Единицами измерения являлись мс. Оценку интервалов проводили не менее, чем в трех сердечных циклах, определяя их среднее значение. Для расчета QTc применяли, преобразованную L. Taran и N. Szilagyi, формулу Н. Bazett [Taran L. M. et al., 1947]. Значения интервала QTc выражали в мс. Анализ ЭКГ проводили «слепо» по отношению к остальным данным исследования.

Генетические методы исследования. ДНК выделена методом фенол-хлороформной экстракции из венозной крови пациентов. Генотипирование групп по выбранным полиморфным вариантам проводили двумя методами: методом ПЦР с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (rs1805124 гена *SCN5A*, rs11756438 гена *CEP85L*, rs12576239 гена *KCNQ1*, 4657139 гена *NOS1AP*) и с помощью ПЦР в реальном времени (rs11720524 гена *SCN5A*, rs12143842 гена *NOS1AP*). ПЦР в режиме реального времени проводили в соответствии с протоколом фирмы – производителя (зонды «TaqMan», Thermo Fisher Scientific, США) на приборе «StepOnePlus» (Thermo Fisher Scientific, США). Генотипирование ПЦР с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов проводили по оригинальным методикам.

Приготовленные образцы ДНК секвенировали на платформе Illumina HiSeq (Illumina, США). Поиск патогенных, вероятно патогенных вариантов и вариантов неопределенного значения выполнен в генах, ассоциированных с LQTS: *KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*, *KCNE1*, *KCNE2*, *KCNJ2*, *CACNA1C*, *SCN4B*, *KCNJ5*, *ANK2*, *CAV3*, *SNTA1*, *AKAP9*, *CALM1* и *CALM2*. Обнаруженные варианты были проверены с помощью прямого секвенирования по Сэнгеру на анализаторе ABI SeqStudio Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific, США).

Статистическая обработка. Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась с использованием пакета программ SPSS (версия 23.0). Характер распределения

количественных признаков определяли методом Колмогорова – Смирнова. При соответствии признака критериям нормального распределения использовался однофакторный дисперсионный анализ (one-way ANOVA), при отсутствии нормального распределения – тест Краскела-Уоллиса для k-независимых выборок, U-тест Манна-Уитни для двух независимых выборок. Полученные данные в таблицах и тексте представлены как абсолютные и относительные величины (n, %) для категориальных переменных. Для непрерывных показателей описательная статистика приведена как медиана и межквартильный размах – Me [25 %; 75 %]. Для оценки уровня значимости различий частот генотипов и аллелей между группами использовались таблицы сопряженности, критерий χ^2 для оценки соответствия частот равновесию Харди-Вайнберга, критерий χ^2 Пирсона, точный двусторонний критерий Фишера. В качестве уровня значимости использовали $p < 0,05$. Относительный риск по каждому генотипу был рассмотрен как ОШ с 95 % доверительным интервалом. Анализ ассоциаций молекулярно-генетических маркеров с длительностью интервала QT проводился с использованием множественного логистического регрессионного анализ. В качестве зависимой переменной выступала группа QT, в то время как независимыми переменными являлись генотип, возраст, ИМТ, САД, ЧСС, ОХС, ХС-ЛВП, ТГ, ГПН и категориальная переменная – курение. Для построения логистических регрессионных моделей использовался пошаговый алгоритм исключения Вальда.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительная характеристика групп. С целью определения наиболее значимых факторов риска, влияющих на продолжительность интервала QT, были выбраны клинико-anamнестические и лабораторные показатели из баз данных проекта НАPIEE и скрининга молодых людей 25–44 лет. В ходе сравнения исследуемых групп статистически значимые различия получены по следующим показателям: САД, ДАД, ЧСС, ИМТ, ОТ/ОБ, ОТ, ТГ, длительность интервала QT (таблица 1). Не получено статистически значимых различий по показателям ОХС, ХС-ЛНП, ХС-ЛВП, ГПН.

Согласно дизайну исследования, группы не различаются по возрасту. В группе с длинным интервалом QT регистрировались более высокие показатели ЧСС, АД, у 53,6 % мужчин АД превышало 140/90 мм рт. ст., по сравнению с группами с коротким и средним интервалом QT. На сегодняшний день известно большое количество работ как зарубежных, так и отечественных авторов, посвященных изучению корреляционных связей между показателями АД, индексом массы миокарда левого желудочка, другими эхокардиографическими параметрами и интервалом QT. Так, в исследовании Sun G-Z. et al. показатели САД и ДАД были независимо связаны с интервалом QT, у лиц с АГ регистрировался более продолжительный интервал QT [Sun G-Z. et al., 2019]. В 2003 г. опубликованы результаты исследования Никитина Ю. П. и соавторов, согласно которым обследованные мужчины г. Новосибирска в возрасте 25–64 лет с АГ демонстрировали значимое увеличение ЧСС, интервала QTc, дисперсии интервала QTc и уменьшение показателя

Таблица 1 – Сравнительная характеристика исследуемых групп

Показатель	Группа короткого QT (n = 185) (1)	Группа среднего QT (n = 178) (2)	Группа длинного QT (n = 179) (3)	P (1–2)	P (1–3)	P (2–3)
САД, мм рт.ст. Me [25 %; 75 %]	127,66 [117,00; 139,17]	131,33 [121,62; 146,12]	136,33 [123,67; 159,33]	p = 0,011	p < 0,01	p = 0,005
ДАД, мм рт.ст. Me [25 %; 75 %]	82,33 [75,75; 91,50]	86,00 [78,50; 94,41]	89,67 [81,00; 102, 30]	p = 0,012	p < 0,01	p = 0,004
ЧСС (ударов в мин) Me [25 %; 75 %]	66,33 [60,00; 74,66]	73,00 [65,00; 78,75]	76,00 [65,00; 84,00]	p < 0,001	p < 0,001	p = 0,025
АД ≥140/90 мм рт.ст. n (%)	66 (35,7 %)	78 (43,8 %)	96 (53,6 %)	p = 0,113	p = 0,001	p = 0,064
ИМТ Me [25 %; 75 %]	25,24 [23,17; 28,33]	26,45 [23,69; 29,26]	26,75 [23,71; 30,09]	p < 0,001	p = 0,001	p = 0,840
Избыточный вес (ИМТ 25-29,9 кг/м ²) n (%)	69 (37,30 %)	85 (47,8 %)	68 (38,00 %)	p = 0,044	p = 0,892	p = 0,062
Ожирение (ИМТ ≥ 30 кг/м ²) n (%)	18 (9,7 %)	32 (18 %)	45 (25,1 %)	p = 0,023	p < 0,001	p = 0,100
Ожирение I степени (ИМТ 30–34,9 кг/м ²) n (%)	15 (8,1 %)	26 (14,6 %)	33 (18,4 %)			
Ожирение II степени (ИМТ 35-39,9 кг/м ²) n (%)	3 (1,6 %)	5 (2,8 %)	8 (4,5 %)			
Ожирение III степени (ИМТ ≥ 40 кг/м ²) n (%)	0	1 (0,6 %)	4 (2,2 %)			
ОТ/ОБ Me [25 %; 75 %]	0,91 [0,86; 0,95]	0,93 [0,89; 0,97]	0,93 [0,88; 0,98]	p = 0,001	p = 0,003	p = 0,850
ОТ, см Me [25 %; 75 %]	88,5 [83; 95,75]	94 [86,9; 100,35]	94 [84,4; 101,8]	p < 0,001	p < 0,001	p = 0,728
ТГ, ммоль/л Me [25 %; 75 %]	1,13 [0,82; 1,54]	1,27 [0,96; 1,76]	1,29 [0,83; 1,81]	p = 0,006	p = 0,082	p = 0,480

SDNN в сравнении с контрольной группой. Показана положительная корреляционная связь продолжительности интервала QTc и уровня АД [Никитин Ю. П. и соавт., 2003; Кузнецов А. А. и соавт., 2006].

Значимое независимое влияние АГ на длительность интервала QT у мужчин г. Новосибирска, также удалось проследить в унивариантной и мультивариантной регрессионных линейных моделях, представленных Кузнецовым А. А. и соавторами [Кузнецов А. А. и соавт., 2015]. Однако в 2012 году Li X. et al. (2012) к факторам риска удлинения QTc отнесли лишь повышение ДАД [Li X. et al., 2012].

Кроме того, группы различались и по медианным значениям ИМТ, ОТ, ОТ/ОБ. В группе с длинным и средним интервалом QT 63,1 % и 65,8 % мужчин имели избыточную массу тела/ожирение, в то время как в группе с коротким интервалом QT – 47,0 %. По данным литературы, преимущественно абдоминальный тип ожирения является фактором, способствующим пролонгации интервала QT [Elffers T. W. et al., 2017; Delhey L. et al., 2020], что соответствует полученным в настоящем исследовании результатам.

В ходе анализа биохимических показателей, в том числе показателей липидного профиля, не обнаружено значимых различий в сравниваемых группах, за исключением повышения уровня ТГ в группе среднего интервала QT ($p = 0,006$), по сравнению с группой с коротким интервалом QT. В литературе встречаются неоднозначные данные об влиянии ТГ на интервал QT. У пациентов с СД 2 типа и с интервалом QTc > 440 мс Ninkovic V. M. et al. (2016) определили большие значения ТГ ($p < 0,05$), однако, статистически значимых различий в отношении ОХС выявлено не было [Ninkovic V. M. et al., 2016], что удалось ранее обнаружить и в китайской популяции [Li X. et al., 2012]. Park B., Lee Y.-J. отметили положительную корреляцию интервала QTc с уровнем триглицеридов у лиц корейской популяции. Более того, уровень триглицеридов в представленной модели множественной линейной регрессии являлся независимым фактором, связанным с интервалом QTc [Park B. et al., 2018]. У мужчин сибирской популяции интервал QT в унивариантной регрессионной линейной модели также был связан с гипертриглицеридемией [Кузнецов А. А. и соавт., 2015].

Влияние табакокурения на процессы реполяризации кардиомиоцитов активно обсуждается в настоящее время. Наиболее значимые изменения наблюдаются не столько в пролонгации интервала QTc, сколько в увеличении интервала Tpe и соотношений Tpe/QT, Tpe/QTc [Kayali S. et al., 2017]. В нашем исследовании процент курящих мужчин значимо не отличался в группах и находился в пределах 42–48 %. Статистически значимых различий не удалось обнаружить и в исследовании Li X. et al. [Li X. et al., 2012], в то время как в исследовании Ma Q. et al. в группе с нормальным интервалом QT чаще встречались курильщики, по сравнению с группой с удлиненным интервалом QT [Ma Q. et al., 2019].

На рисунке 2 представлена возрастная динамика продолжительности интервала QTc.

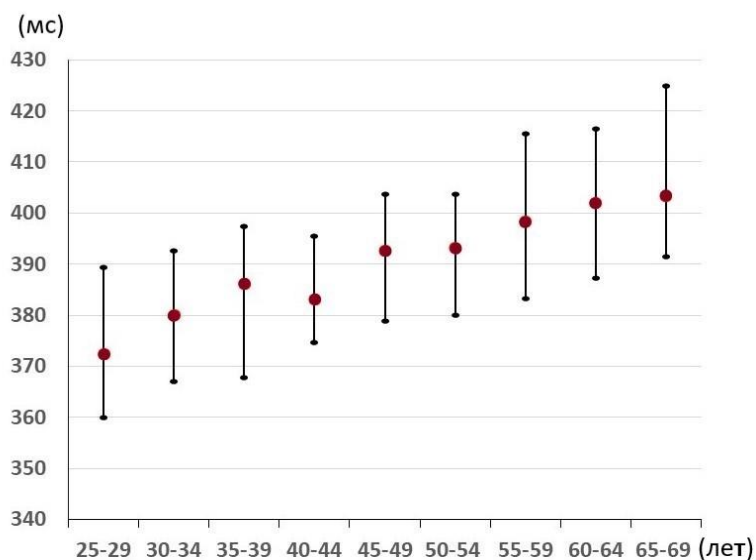


Рисунок 2 – Возрастная динамика длительности интервала QTc

В последующем нами изучена ассоциация генотипов, выбранных ОНП с клинико-лабораторными показателями у мужчин. В литературе имеются единичные упоминания о связи некоторых генотипов изучаемых ОНП с факторами риска удлинения интервала QT. Так, носительство генотипа CC rs12576239 гена *KCNQ1* было ассоциировано с меньшим риском наличия АГ, по сравнению с генотипами СТ и ТТ у когорты пациентов с СД 2 типа китайской популяции [Huang К-С., 2017]. В ходе сравнения медианных значений переменных у носителей различных генотипов в нашем исследовании, выполненном на популяционной выборке мужчин, не обнаружено значимых различий, что может быть обусловлено широким спектром причин (различный дизайн исследования, пол, расовая и этническая принадлежность). Эти результаты позволяют сделать вывод, что генотипы изучаемых ВНП являются независимыми факторами, влияющими на продолжительность интервала QT.

Частоты генотипов и аллелей известных полиморфизмов в группах исследования

Частоты генотипов rs1805124, rs11720524 гена *SCN5A*, rs11756438 гена *CEP85L*, rs12576239 гена *KCNQ1*, rs12143842 и rs4657139 гена *NOS1AP* находятся в равновесии Харди-Вайнберга ($\chi^2 = 0,035; 1,507; 1,004; 0,006; 0,394; 0,756$).

Выявлены статистически значимые различия по частотам генотипов rs11720524 гена *SCN5A* при использовании модели CG vs. CC + GG. Для носителей генотипов CC и GG характерны большие значения интервала QT, по сравнению с носителями гетерозиготного генотипа CG ($p = 0.025$) (таблица 2).

Таблица 2 – Частоты генотипов и аллелей ОНП rs 11720524 гена *SCN5A* исследуемых группах

Генотип/ аллель	Группы					
	1 группа (QT короткий)		2 группа (QT средний)		3 группа (QT длинный)	
	n	%	n	%	n	%
CG	88	49,4	60	35,1	74	42,8
CC+GG	90	50,6	111	64,9	99	57,2
C	234	65,73	230	67,25	224	64,74
G	122	34,27	112	32,75	122	35,26

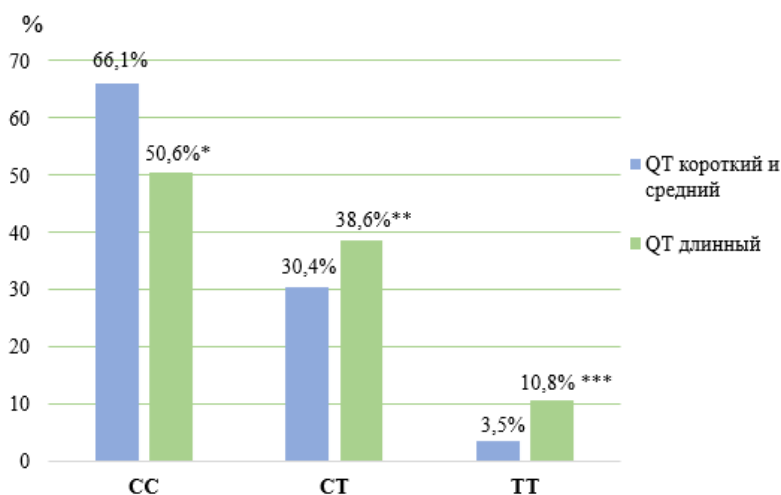
При разделении групп по возрасту (до 50 лет, 50 лет и старше) в модели CG vs CC + GG & QT короткий vs QT средний + длинный различия сохраняются у мужчин в возрасте до 50 лет (ОШ = 1,858; 95 % ДИ 1,117–3,089; $p = 0,016$), частота гетерозиготного генотипа CG в группе короткого интервала QT составила 55,9 %, в то время как в группах со средним и длинным интервалом QT – 40,6 %. По данным зарубежных исследований, большую роль в развитии фибрилляции желудочков, ВСС играет аллель C rs11720524 гена *SCN5A* [Albert C. M. et al., 2010; Jabbari R. et al., 2017].

По частотам генотипов и аллелей ОНП rs11756438 гена *CEP85L* также обнаружены статистические значимые различия между группами с коротким интервалом QT и средним интервалом QT. Гомозиготный генотип AA rs11756438 гена *CEP85L* в модели AA vs CA+CC в группе мужчин с коротким интервалом QT встречался достоверно реже, по сравнению с группой со средним интервалом QT, у 21,5 % и 31,6 % соответственно (ОШ = 0,59; 95 % ДИ 0,366–0,956; $p = 0,031$) (таблица 3). Аллель A в 0,71 раз реже встречался в группе с коротким интервалом QT (ОШ = 0,71; 95 % ДИ 0,528–0,956; $p = 0,024$), что говорит об условно протективном эффекте аллеля A и генотипа AA rs11756438 гена *CEP85L* в отношении укорочения интервала QT, о котором ранее не упоминалось в литературе. В рамках исследования QTGEN аллель A был связан с более длинным интервалом QT [Newton-Cheh C. et al., 2009].

Таблица 3 – Частоты генотипов и аллелей ОНП rs11756438 гена *CEP85L* в исследуемых группах

Генотип/аллель	1 группа (QT короткий)		2 группа (QT средний)		P
	n	%	n	%	
AA	38	21,5	55	31,6	p = 0,031 (ОШ = 0,590; 95 % ДИ 0,366–0,956)
CA+CC	139	78,5	119	68,4	
C	194	45,2	161	53,74	p = 0,024 (ОШ = 1,408; 95 % ДИ 1,046–1,895)
A	160	54,8	187	46,26	p = 0,024 (ОШ 0,710; 95 % ДИ 0,528–0,956)

При исследовании ОНП rs12143842 гена *NOS1AP* выявлены статистически значимые различия по частотам генотипов и аллелей в модели СС vs СТ+ТТ & длинный QT vs короткий + средний QT, где в группе с коротким и средним интервалом QT у 61,2 % мужчин определялся гомозиготный генотип СС (ОШ = 0,657; 95 % ДИ 0,456–0,948; $p = 0,024$). Статистическая значимость различий сохраняется при разделении групп по возрасту у лиц 50 лет и старше (ОШ = 0,526; 95 % ДИ 0,308–0,897; $p = 0,018$), в то время как гомозиготный генотип ТТ преобладал в группе с длинным интервалом QT, в 10,8 % случаев (ТТ vs СТ + СС & длинный QT vs короткий + средний QT; ОШ = 3,345; 95 % ДИ 1,149–9,739; $p = 0,02$) (рисунок 3). Аллель Т в представленной выше модели в 1,87 раз чаще встречался в группе мужчин с длинным интервалом QT (ОШ = 1,872; 95 % ДИ 1,220–2,874; $p = 0,004$).



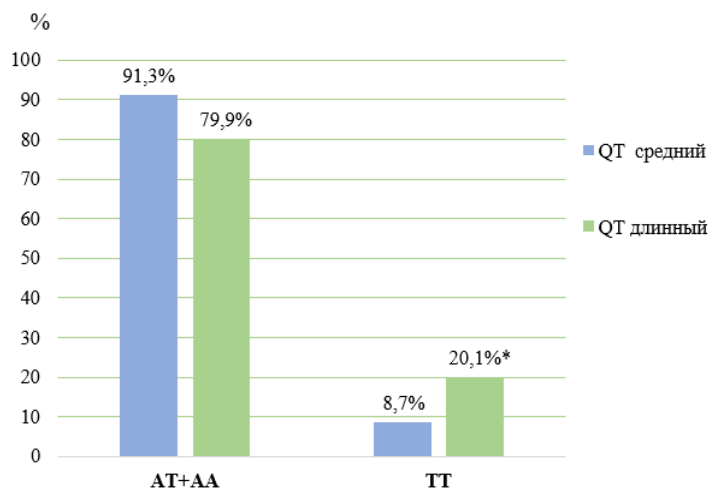
Примечание: * – СС vs СТ + ТТ: ОШ = 0,526; 95 % ДИ 0,308–0,897; $p = 0,018$; ** – СТ vs СС + ТТ; $p = 0,018$; *** – ТТ vs СТ + СС: ОШ = 3,345; 95 % ДИ 1,149–9,739; $p = 0,02$.

Рисунок 3 – Частоты генотипов ОНП rs12143842 гена *NOS1AP* у мужчин в возрасте 50 лет и старше

Представленные результаты соответствуют результатам Роттердамского популяционного исследования, где наиболее сильную связь с интервалом QT у лиц 55 лет и старше показал вариант rs12143842 гена *NOS1AP* (C > T) [220], не противоречат данным исследования QTGEN [Newton-Cheh C. et al., 2009], данным мета-анализа Arking D. et al. [Arking D. et al., 2014], результатам исследований случай – контроль финской [Mitchell R. N. et al., 2019], китайской [Lu J. et al., 2010], афроамериканской популяций [Avery C. L. et al., 2012]. В отечественных исследованиях показана ассоциация rs12143842 *NOS1AP* с ВСС, в частности в исследованиях, выполненных в Забайкальском крае [Зайцев Д. Н. и соавт., 2021] и Новосибирской области [Орлов П. С. и соавт., 2018].

Получены статистически значимые различия между группами по частотам генотипов и аллелей ОНП rs4657139 гена *NOS1AP*. Гомозиготный генотип ТТ rs4657139 встречался чаще в группе длинного интервала QT, в 20,1 % случаев, в то время как в группах короткого и среднего QT преобладали генотипы АА и АТ ($p = 0,041$). Значимые различия наблюдались и при сравнении частот генотипов и аллелей в модели ТТ vs АА + АТ & QT средний vs QT длинный, где большая часть

мужчин с длинным интервалом QT являлись носителями генотипа ТТ (ОШ = 2,636; 95 % ДИ 1,377–5,048; $p = 0,003$) (рисунок 4).



Примечание: * – TT vs AA + AT: ОШ = 2,636; 95 % ДИ 1,377–5,048; $p = 0,003$

Рисунок 4 – Частоты генотипов ОНП rs4657139 гена *NOS1AP* в исследуемых группах

Стоит отметить, что у мужчин 50 лет и старше носительство генотипа ТТ связано с увеличением шансов попадания в группу длинного интервала QT в 6,48 раз ($p = 0,001$). Полученная ассоциация аллеля Т с удлинением интервала QT согласуется с зарубежными исследованиями [Crotti L. et al., 2009; Tomás M. et al., 2010].

Не обнаружено статистически значимых различий между группами по частотам генотипов и аллелей ОНП rs1805124 гена *SCN5A* ($p = 0,48$), rs12576239 гена *KCNQ1* ($p = 0,52$), в том числе при разделении по возрасту (до 50 лет, 50 лет и старше) ($p > 0,05$).

Логистический регрессионный анализ укорочения/удлинения интервала QT с включением в модель ВВП генов *SCN5A*, *CEP85L* и *NOS1AP*.

С целью обнаружения мультиколлинеарности и проведения последующего регрессионного анализа был выполнен корреляционный анализ дополнительных независимых переменных, согласно которому выявлены значительные корреляционные связи между САД и ДАД, ОХС и ХС-ЛНП, ИМТ и ОТ, ОТ/ОБ ($p < 0,01$), в связи с чем данные показатели не рассматривались в одной модели регрессионного анализа. В качестве зависимой переменной выступала группа QT, в то время как независимыми переменными являлись генотип, возраст, ИМТ, САД, ЧСС, ОХС, ХС-ЛВП, ТГ, ГПН и категориальная переменная – курение. Для построения логистических регрессионных моделей использовался пошаговый алгоритм исключения Вальда. Результаты представлены в виде Exp (B) и 95 % ДИ для Exp (B).

Однонуклеотидный вариант rs11720524 гена *SCN5A* был включен в унивариантный логистический регрессионный анализ, согласно которому в возрастной группе мужчин младше 50 лет носители генотипа CG имели большее отношение шансов укорочения интервала QT в 1,86 раз, по сравнению с носителями генотипов CC и GG (ОШ = 1,86; 95 % ДИ 1,117–3,089; $p = 0,017$).

При построении мультивариантной модели у мужчин младше 50 лет показано независимое влияние генотипа CG на укорочение интервала QT (ОШ = 2,08, 95% ДИ 1,202 - 3,591, $p = 0,009$), наряду с ЧСС и САД ($p < 0,05$) (рисунок 5).

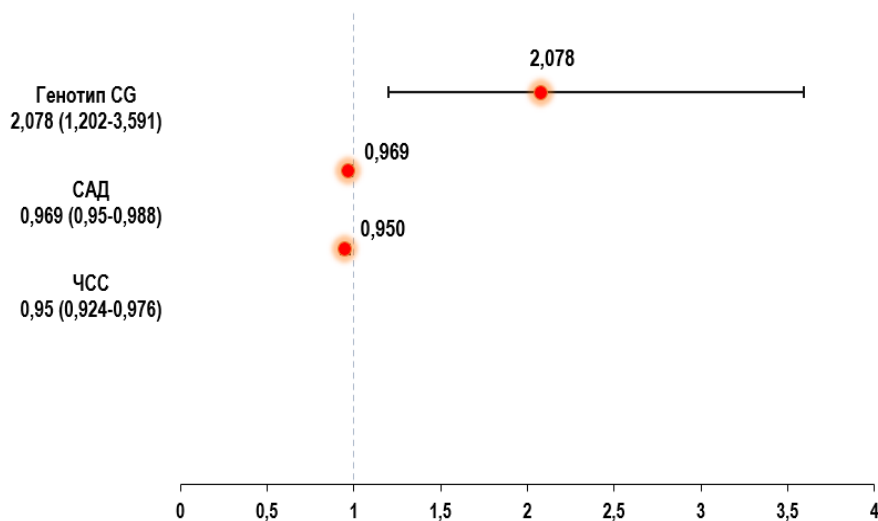


Рисунок 5 - Регрессионная модель наличия короткого интервала QT (генотип CG rs11720524 с ЧСС и САД)

Носители генотипа AA однонуклеотидного варианта rs11756438 гена *CEP85L* при проведении логистического регрессионного анализа, напротив, имели меньшую вероятность попадания в группу с коротким интервалом QT в 0,59 раз, по сравнению с двумя другими генотипами (ОШ = 0,591; 95 % ДИ 0,366–0,956; $p = 0,032$), однако, общий процент правильных предсказаний составил лишь 55,3 %. При построении мультивариантной модели отмечено независимое влияние генотипа AA на укорочение интервала QT (ОШ = 0,59, 95% ДИ 0,353 – 0,979, $p = 0,041$), наряду с ЧСС, ИМТ и ГПН ($p < 0,05$) (рисунок 6).

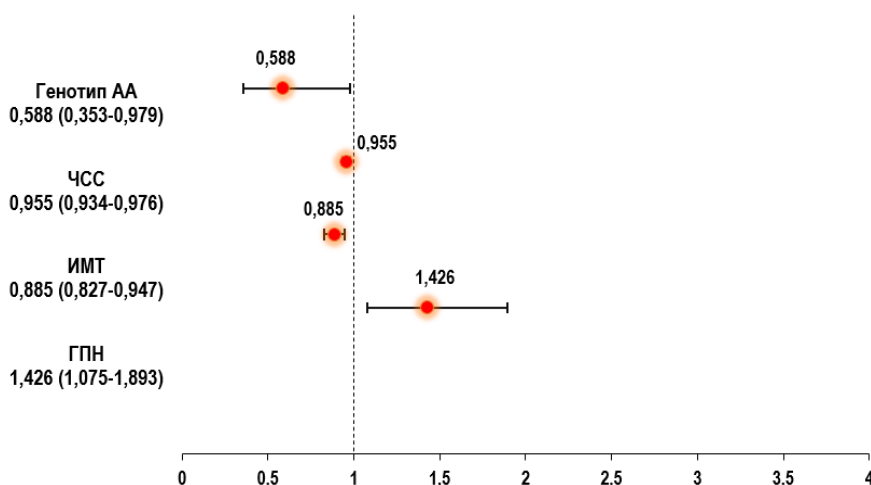


Рисунок 6 – Регрессионная модель наличия короткого интервала QT (генотип AA rs11756438 с ЧСС, САД, ХС-ЛВП)

ОНП rs12143842 гена *NOS1AP* был включен в логистический регрессионный анализ, в ходе которого гомозиготный генотип ТТ в возрастной группе старше 50 лет был связан с увеличением шансов удлинения интервала QT в 4,04 раза, по сравнению с двумя другими генотипами (ОШ = 4,04; 95 % ДИ 1,354–12,028; $p = 0,012$). При построении мультивариантной модели у мужчин в возрасте 50 лет и старше показано независимое влияние генотипа ТТ на удлинение интервала QT (ОШ = 6,73, 95% ДИ 2,008 – 22,544, $p = 0,01$), наряду с ЧСС, САД и ХС – ЛВП ($p < 0,05$) (рисунок 7).

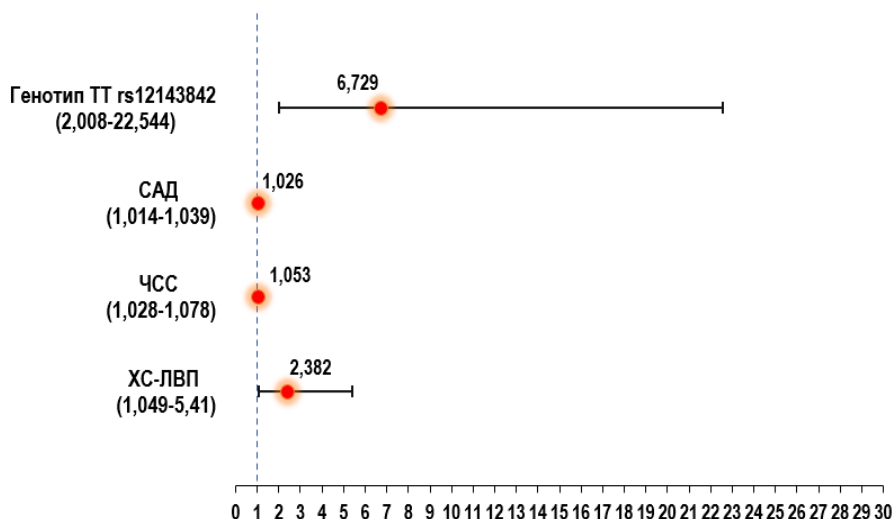


Рисунок 7 – Регрессионная модель наличия удлиненного интервала QT (генотип ТТ rs12143842 с ЧСС, САД, ХС-ЛВП)

Полиморфный вариант rs4657139 гена *NOS1AP* также был включен в логистический регрессионный анализ, в ходе которого гомозиготный генотип ТТ оказывал значимое влияние на длительность интервала QT (ОШ = 2,66; 95 % ДИ 1,328–5,312; $p = 0,006$). Процент правильных предсказаний составил 56,0 %. При построении многофакторной модели выявлено независимое влияние гомозиготного генотипа ТТ на удлинение интервала QT (ОШ = 2,71, 95% ДИ 1,317 – 5,572, $p = 0,007$), наряду с возрастом, ЧСС и САД ($p < 0,05$) (рисунок 8).

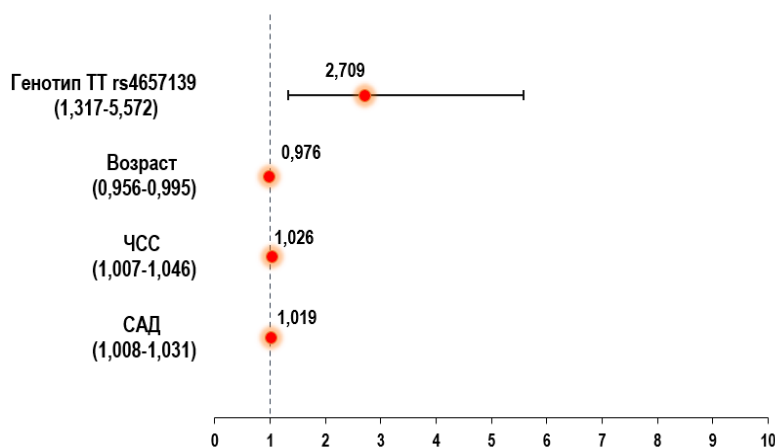


Рисунок 8 – Регрессионная модель наличия удлиненного интервала QT (генотип ТТ rs4657139 с возрастом, ЧСС, САД)

Вторым этапом диссертационного исследования проведен анализ секвенирования нового поколения в генах, ассоциированных с LQTS. Исключены варианты с высокой распространенностью в популяции (более 1 %), замены с доброкачественным/вероятно доброкачественным влиянием на функцию белка по данным ClinVar или предиктивных программ, варианты с низким качеством прочтения. Анализ выявил 3 редких варианта в генах, ассоциированных с LQTS, которые могли стать причиной удлинения интервала QT. Два из них находятся в гене *KCNH2* и один – в гене *KCNQ1* (таблица 4). Не удалось идентифицировать варианты в остальных вышеупомянутых генах, а именно в генах *SCN5A*, *KCNE1*, *KCNE2*, *KCNJ2*, *CACNA1C*, *SCN4B*, *KCNJ5*, *ANK2*, *CAV3*, *SNTA1*, *AKAP9*, *CALM1* и *CALM2*, которые могли бы объяснить пограничное удлинение интервала QT.

Первый вариант гена *KCNQ1*, с.590 C > T, согласно данным ClinVar, является вариантом неопределенного значения, однако, большинство программ-предсказателей показывает его повреждающее действие на белок *KCNQ1*.

Второй вариант гена *KCNH2*, с.526 C > T (R176W), вызывает снижение плотности калиевого тока, а также незначительное повышение деактивационной кинетики калиевого канала [Fodstad H. et al., 2006], что нашло подтверждение в работе Hedley P. L. et al. [Hedley P. L. et al., 2009]. При наличии дополнительной мутации, связанной с LQTS, R176W усиливает фенотипические признаки *in vivo* [Fodstad H. et al., 2006]. Более того, Hedley P. L. et al. отметили, что у LQT2-кардиомиоцитов наблюдается большая чувствительность к потенциально аритмогенным лекарственным препаратам [Hedley P. L. et al., 2009].

Дупликация C с.3007dup лежит в пределах повтора из 6 нуклеотидов цитозина, приводит к преждевременной остановке трансляции белка, кодируемого геном *KCNH2*, вследствие которой в структуре данного белка отсутствуют 157 аминокислот. Дупликацию C в этом повторе относят к патогенному варианту (URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar>). В работе Chanavat V. et al. p.Asp1003GlyfsX116 был рассмотрен в качестве варианта, ассоциированного с фенотипом LQTS [Chanavat V. et al., 2016].

Таким образом, обнаруженные нами варианты нуклеотидной последовательности p.Pro197Leu гена *KCNQ1*, p.Arg176Trp и p.Asp1003GlyfsX116 гена *KCNH2* могут быть рассмотрены как один из факторов, способствующих пролонгации интервала QT.

Таблица 4 – Варианты, вероятно ассоциированные с длительностью интервала QT

ID	Ген	Статус варианта	Нуклеотидные замены	Замена АК	Экзон	Генотип	MAF (gnomAD)	dbSNP ID	ClinVar	HGMD	LOVD Database	Патогенность варианта согласно ACMG [Richards S. et al., 2015]
P30	<i>KCNQ1</i>	Известный	c.590 C > T	p.Pro197Leu	3	Гетерозиготный	2.09374e-05	rs200108320	U	NA	NA	PM1, PM2, PM5, PP2, PP3
P5	<i>KCNH2</i>	Известный	c.526 C > T	p.Arg176Trp	4	Гетерозиготный	2.88268e-04	rs36210422	CI	CM001198	<i>KCNH2</i> _000132	PR
P12	<i>KCNH2</i>	Новый	NM_000238.4:c.3007dup (3'rule)	p.Asp1003 GlyfsX116	13	Гетерозиготный	NA	—	—	NA	—	PVS1, PM2, PP5
<p>Примечание: ID – номер образца; АК – аминокислота; MAF – частота минорного аллеля; U – вариант неопределенного значения; CI – конфликт интерпретаций; NA - недоступно; HGMD - база данных аннотированных ВНП, опубликованных в литературе; LOVD database - Лейденская открытая база данных вариаций; PR - ранее сообщалось, что связан с патологическим фенотипом и не был классифицирован в соответствии с рекомендациями ACMG [Richards S. et al., 2015]; PVS1, PM1,2,5, PP2,3,5 – критерии патогенности варианта согласно рекомендациям ACMG [Richards S. et al., 2015].</p>												

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволило определить факторы риска, способствующие изменению длительности интервала QT у мужчин в популяции г. Новосибирска.

В ходе исследования отмечены основные отличительные признаки групп с коротким, средним и длинным интервалом QT. В группе длинного интервала QT регистрировались более высокие уровни таких показателей, как артериальное давление, частота сердечных сокращений, индекс массы тела, триглицериды сыворотки крови.

Не выявлена ассоциация генотипов однонуклеотидных полиморфных вариантов генов *SCN5A* (rs1805124, rs11720524), *CEP35L* (11756438), *KCNQ1* (rs12576239) и *NOS1AP* (rs12143842, rs4657139) с известными факторами риска удлинения интервала QT, что показывает необходимость изучения молекулярно-генетических маркеров как независимых факторов риска изменения продолжительности интервала QT.

Обнаружены статистически значимые различия по частотам генотипов однонуклеотидных вариантов генов *SCN5A* (rs11720524), *CEP35L* (11756438) и *NOS1AP* (rs12143842, rs4657139) в исследуемых группах. Генотип CG rs11720524 гена *SCN5A* наиболее часто встречался в группе короткого интервала QT, в то время как генотип AA rs11756438 *CEP85L*, напротив, являлся протективным фактором в отношении укорочения интервала QT. Генотип TT rs4657139 гена *NOS1AP* повышал вероятность наличия более длинного интервала QT у мужчин, вне зависимости от влияния иных предрасполагающих факторов, что также удалось проследить в отношении генотипа TT rs12143842 гена *NOS1AP* у мужчин в возрасте 50 лет и старше. В ходе секвенирования образцов ДНК мужчин с самым длинным интервалом QT выявлены варианты нуклеотидной последовательности в генах *KCNQ1* и *KCNH2*, связанных с LQTS.

Вышеперечисленные результаты можно рассматривать как одно из оснований для поиска патогенных вариантов нуклеотидной последовательности у лиц с пограничными значениями интервала QTс с целью уточнения риска развития удлинения интервала QT, жизнеугрожающих аритмий и ВСС (в дополнение к основным методам исследования). Ещё одним очень важным основанием является наличие отягощённого семейного анамнеза. Комплексный подход к оценке риска жизнеугрожающих аритмий может способствовать раннему выявлению таких лиц и выбору наиболее оптимальной тактики их ведения.

ВЫВОДЫ

1. В группе мужчин в возрасте до 50 лет с коротким интервалом QT носительство гетерозиготного генотипа CG rs11720524 гена *SCN5A* в 1,86 раз встречается чаще, по сравнению с группой со средним и длинным интервалом QT ($p = 0,016$). Отношение шансов наличия укороченного интервала QT у мужчин – носителей генотипа CG в 2,1 раза выше, по сравнению с носителями генотипов CC и GG ($p = 0,009$), независимо от влияния других факторов.

2. В группе мужчин с коротким интервалом QT гомозиготный генотип AA rs11756438 гена *CEP85L* в 0,59 раз встречается реже, по сравнению с группой мужчин со средним интервалом QT ($p =$

0,031). Отношение шансов наличия укороченного интервала QT у носителей генотипа AA в 0,6 раз меньше, по сравнению с носителями двух других генотипов ($p = 0,041$), независимо от влияния других факторов.

3. У мужчин в возрасте 50 лет и старше отношение шансов обнаружить гомозиготный генотип TT rs12143842 гена *NOS1AP* в группе с длинным интервалом QT в 3,34 раза выше, по сравнению с группой с коротким и средним интервалом QT ($p = 0,02$). Отношение шансов наличия удлиненного интервала QT у носителей генотипа TT в 6,73 раза выше, по сравнению с носителями генотипов CC и CT ($p = 0,002$), независимо от влияния других факторов риска, способствующих удлинению интервала QT.

4. Генотип TT rs4657139 гена *NOS1AP* встречался чаще в группе мужчин с длинным интервалом QT, в 20,1 % случаев, по сравнению с группами с коротким и средним интервалом QT, 12,6 % и 8,7 % соответственно ($p = 0,041$). Отношение шансов обнаружить генотип TT в группе с длинным интервалом QT в 6,48 раз выше, по сравнению с группой со средним интервалом QT ($p = 0,001$). Отношение шансов наличия удлиненного интервала QT у носителей генотипа TT в 2,71 раз выше ($p = 0,007$), по сравнению с носителями генотипов AA и AT, независимо от влияния других факторов риска, способствующих удлинению интервала QT.

5. У 10 % мужчин с самым длинным интервалом QT идентифицировано 3 вероятно причинных варианта нуклеотидной последовательности в двух генах, связанных с LQTS: p.Pro197Leu гена *KCNQ1*, p.Arg176Gyr и p.Asp1003GlyfsX116 гена *KCNH2*.

6. В исследуемых группах мужчин не выявлено статистически значимых различий по частотам генотипов однонуклеотидных вариантов rs1805124 гена *SCN5A*, rs12576239 гена *KCNQ1* ($p > 0,05$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

У лиц с пограничными значениями интервала QTс с целью уточнения риска развития удлинения интервала QT, жизнеугрожающих аритмий и ВСС в дополнение к основным методам исследования может быть рекомендован поиск патогенных вариантов нуклеотидной последовательности в генах LQT, способствующих пролонгации интервала QT. Это может способствовать выбору наиболее оптимальной тактики ведения пациентов.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Ассоциация некоторых полиморфизмов с длительностью интервала QT у мужчин / Нестерец А. М., Кузнецов А. А., Иванова А. А., Гуражева А. А., Малютина С. К., Денисова Д. В., Максимов В. Н. // Терапия. – 2021. – № 9. – С. 38–44. (ВАК).
2. Молекулярно-генетические аспекты изменения длительности интервала QT и внезапная сердечная смерть / Нестерец А. М., Максимов В. Н. // Бюллетень сибирской медицины. – 2022. – Т.21. – № 1. – С. 133–143. (ВАК, Scopus, Web of Science, Q4)

3. Ассоциация однонуклеотидных полиморфных вариантов гена *NOS1AP* с длительностью интервала QT / Нестерец А. М., Кузнецов А. А., Иванова А. А., Гуражева А. А., Малютина С. К., Денисова Д. В., Максимов В. Н. // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. – 2022. – Т.11. – № 2. – С. 18–26. (ВАК, Scopus, Q4)
4. Результаты секвенирования нового поколения у мужчин с пограничным удлинением интервала QT (пилотное исследование) / Орлов П. С., Иванощук Д. Е., Нестерец А. М., Кузнецов А. А., Иванова А. А., Малютина С. К., Денисова Д. В., Стрюкова Е. В., Максимов В. Н., Максимова С. В. // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. – 2022. – Т.11. – № 2. – С. 98–106. (ВАК, Scopus, Q4)
5. Ассоциация однонуклеотидных полиморфизмов генов *SCN5A*, *KCNQ1*, *CEP85L* с длительностью интервала QT у мужчин / Нестерец А. М., Кузнецов А. А., Малютина С. К., Максимов В. Н. // Сборник трудов по материалам Международной научно-практической конференции «Медицинская наука в эру цифровой трансформации». – Курск. – 2021. – С. 206–208. (ВАК)
6. Генетические предикторы изменения длительности интервала QT / Нестерец А. М., Кузнецов А. А., Малютина С. К., Денисова Д. В., Максимов В. Н. // Сборник тезисов VIII съезда терапевтов СФО. – Новосибирск. – 2022. – С. 35.
7. Молекулярно-генетические маркеры длительности интервала QT / Нестерец А. М., Кузнецов А. А., Малютина С. К., Денисова Д. В., Максимов В. Н. // Российский кардиологический журнал. – 2022. – Т.27. – № 7S. – С. 55–56. (ВАК, Scopus, Q4)
8. Первые результаты секвенирования нового поколения мужчин с пограничным удлинением интервала QT из популяции Новосибирска / Орлов П. С., Иванощук Д. Е., Нестерец А. М., Иванова А. А., Кузнецов А. А., Максимова С. В., Максимов В. Н. // Сборник тезисов Российский национальный конгресс кардиологов. – Санкт-Петербург. – 2021. – С. 739.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВНП	вариант нуклеотидной последовательности
ВСС	внезапная сердечная смерть
ГПН	глюкоза плазмы натощак
ДАД	диастолическое артериальное давление
ДИ	доверительный интервал
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
ИМТ	индекс массы тела
ОБ	окружность бедер
ОНП	однонуклеотидный полиморфизм
ОТ	окружность талии
ОТ/ОБ	соотношение окружности талии к окружности бедер

ОХС	общий холестерин
ОШ	отношение шансов
ПЦР	полимеразная цепная реакция
САД	систолическое артериальное давление
ТГ	триглицериды
ХС-ЛВП	липопротеиды высокой плотности
ХС-ЛНП	липопротеиды низкой плотности
ЧСС	частота сердечных сокращений
ЭКГ	электрокардиограмма
LQT	подтип LQTS
LQTS	синдром удлиненного интервала QT
nNOS	нейрональная синтаза оксида азота
QTc	корректированный интервал QT
SQTS	синдром укороченного интервала QT
vs	против
&	и

Автор выражает глубокую благодарность д.м.н., профессору, заведующей лабораторий этиопатогенеза и клиники внутренних заболеваний НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН Малютиной Софье Константиновне и д.м.н., ведущему научному сотруднику НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН Денисовой Диане Вахтанговне за представленную возможность сформировать группы исследования на материале когорт проекта НАРПЕЕ и скрининга молодых людей 25–44 лет, а также старшему научному сотруднику НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН Щербаковой Лилии Валерьевне за помощь в статистической обработке полученного материала; научному руководителю д.м.н., профессору, заведующему лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН Максиму Владимиру Николаевичу за всестороннюю помощь и поддержку на всех этапах работы и сотрудникам лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН за помощь в осуществлении молекулярно-генетического этапа исследования.