ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «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»

На правах рукописи

Иванова Анастасия Андреевна

КОМПЛЕКСНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСНОВ ВНЕЗАПНОЙ СЕРДЕЧНОЙ СМЕРТИ

3.1.20. Кардиология
1.5.7 Генетика (медицинские науки)

Диссертация
на соискание ученой степени доктора медицинских наук

Научный консультант:
доктор медицинских наук, профессор
Максимов Владимир Николаевич

Новосибирск – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 4
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 15
1.1 Современные представления о внезапной сердечной смерти 15
1.2 Исследования молекулярно-генетических маркеров внезапной сердечной смерти 43
1.3 Исследования метилирования ДНК при сердечно-сосудистых заболеваниях, лежащих в основе внезапной сердечной смерти 66
1.4 Другие генетические исследования внезапной сердечной смерти 77
1.5 Заключение 78
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ 81
2.1 Этапы исследовательской работы 81
2.2 Общая характеристика банка ДНК внезапной смерти, группы внезапной сердечной смерти и контрольных групп 81
2.3 Выделение ДНК 87
2.4 Исследование однонуклеотидных полиморфизмов, выявленных по результатам полногеномного аллелотипирования (этап 1) 88
2.5 Исследование мутаций, выявленных методом полноэкзомного секвенирования в зарубежных исследованиях (этап 2) 90
2.6 Исследование однонуклеотидных полиморфизмов, выявленных при анализе результатов экзомного секвенирования как вероятные молекулярно-генетические маркеры внезапной сердечной смерти (этап 4) 90
2.7 Методика молекулярно-генетического анализа (этапы 1, 2, 4) 93
2.8 Статистический анализ (этапы 1, 2, 4) 97
2.9 Экзомное секвенирование (этап 3) 98
2.10 Метилирование CpG-островков отдельных генов с внезапной сердечной смертью (этап 5) 101
2.11 Финансирование исследовательской работы 102
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ 104

3.1 Исследование ассоциации с внезапной сердечной смертью однонуклеотидных полиморфизмов, выявленных по результатам полногеномного аллелотипирования 104
3.2 Исследование мутаций, выявленных методом полноэкзомного секвенирования в зарубежных исследованиях 153
3.3 Экзомное секвенирование 162
3.4 Исследование однонуклеотидных полиморфизмов, выявленных при анализе результатов экзомного секвенирования как вероятные молекулярно-генетические маркеры внезапной сердечной смерти 185
3.5 Ассоциация метилирования CpG-островков отдельных генов с внезапной сердечной смертью 194
ЗАКЛЮЧЕНИЕ 204
ВЫВОДЫ 208
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ 210
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ 211
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 212
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА 254
ПРИЛОЖЕНИЕ А 258

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Внезапная сердечная смерть, в том числе генетика внезапной сердечной смерти, являются важной нерешенной проблемой современной клинической кардиологии. Россия продолжает оставаться в списке стран, лидирующих по смертности населения от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) [133]. На долю ССЗ приходится около половины в структуре причин смертности населения в регионах Российской Федерации, в том числе и в Новосибирской области [20]. Считается, что 25 % лиц, умерших от ССЗ умирают внезапной сердечной смертью. В молодом возрасте причиной развития внезапной сердечной смерти чаще всего становятся нарушения ритма на фоне структурной патологии сердца, дисфункции ионных каналов, органических заболеваний сердца (кардиомиопатии, пороки сердца). В среднем и пожилом возрасте на первый план выходит ишемическая болезнь сердца (ИБС) и другие дегенеративные ССЗ. При этом в молодом возрасте зачастую причину внезапной сердечной смерти не удается определить и при проведении качественного патологоанатомического исследования. Примерно в половине случаев внезапная сердечная смерть развивается у лиц без диагностированного при жизни ССЗ [4]. Поэтому важным является создание системы эффективной оценки риска внезапной сердечной смерти у лиц как с известной, так и с неизвестной сердечно-сосудистой патологией. Существующие системы оценки риска внезапной сердечной смерти направлены на лиц с известными ССЗ и состояниями [10]. Внезапная сердечная смерть - многофакторная (мультифакториальная) нозология, для развития которой в большинстве случаев необходимо сочетание многих факторов (внешних и внутренних). К внутренним немодифицируемым факторам риска внезапной сердечной смерти относятся и генетические факторы, включающие в себя в первую очередь изменения структуры ДНК в виде мутаций и полиморфизмов генов, полиморфизмов, локализованных в межгенных пространствах. Кроме того, к генетическим факторам также можно отнести эпигенетические модификации,

которые не изменяют последовательность ДНК, но меняют экспрессию генов (метилирование генов, ацетилирование гистонов и т.д.). В мире активно изучаются молекулярно-генетические маркеры внезапной сердечной смерти, которые при результативном поиске наравне с клиническими, биохимическими маркерами могут быть использованы при разработке стратегии диагностики предрасположенности к внезапной сердечной смерти и проведения профилактики внезапной сердечной смерти у лиц, как с известной, так и неизвестной сердечно-сосудистой патологией.

Степень разработанности темы исследования

Исследования молекулярно-генетических основ внезапной сердечной смерти ведутся достаточно давно. Долгое время основной задачей исследователей был поиск генов-кандидатов внезапной сердечной смерти, «рисковых» полиморфизмов генов в проектах дизайна «случай-контроль» с использованием группы лиц умерших внезапной сердечной смертью и контрольной группы живых лиц или лиц, умерших не вследствие внезапной сердечной смерти. В таких исследованиях используются рутинные методы молекулярно-генетического анализа - полимеразная цепная реакция в режиме реального времени и полимеразная цепная реакция с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов. В первую очередь проверяются на предмет ассоциации с внезапной сердечной смертью молекулярно-генетические маркеры заболеваний, лежащих в основе внезапной сердечной смерти (молекулярно-генетические маркеры ИБС, нарушений ритма, кардиомиопатий) и молекулярно-генетические маркеры внезапной сердечной смерти, найденные ассоциированными с ней по данным зарубежных исследований. На сегодняшний день исследования такого рода прошли свой пик популярности, однако все еще сохраняются одиночные исследования «случай-контроль» для внезапной сердечной смерти. На данный момент согласно данным базы dbGene 62 гена ассоциированы с внезапной сердечной смертью [101]. По данным базы ClinVar 19788 вариантов имеют отношение к внезапной сердечной смерти, из которых

1148 возможно патогенные, 1429 патогенные, подавляющее число вариантов - однонуклеотидные замены (более 18000) [106]. При этом число генов, полиморфизмов и мутаций генов, ассоциированных с внезапной сердечной смертью, постоянно увеличивается за счет вновь найденных.

С развитием биоинформатики и современных методов секвенирования на первый план выходят исследования внезапной сердечной смерти с помощью современного полногеномного, полноэкзомного секвенирования, секвенирования клинического экзома, панелей генов. Секвенирование следующего поколения обеспечивает быстрый и экономичный подход к генетическому скринингу большого числа генов, представляя собой амбициозную стратегию по сравнению с секвенированием по Сэнгеру, позволяя найти новые молекулярно-генетические маркеры внезапной сердечной смерти, полиморфизмы и мутации, связь которых с внезапной сердечной смертью, ранее даже и не предполагалась. Однако использование результатов секвенирования следующего поколения в клинической практике остается проблемой из-за большого количества генетической информации, которую необходимо интерпретировать для оценки ее клинической значимости [149].

Исследования с помощью секвенирования по Сэнгеру (прямое автоматическое секвенирование) также остаются в арсенале исследователей, этот метод нашел свое применение для исследования причин внезапной сердечной смерти в отдельных семейных случаях внезапной сердечной смерти, для подтверждения мутаций, найденных с помощью секвенирования следующего поколения [365].

С развитием генетических знаний появляются редкие эпигенетические исследования внезапной сердечной смерти: проведено сравнительное исследование метилирования ДНК при внезапной необъясненной смерти и внезапной смерти при эпилепсии, других исследований метилирования ДНК при внезапной сердечной смерти найдено не было [114].

Однако молекулярно-генетические маркеры, идентифицированные в зарубежных исследованиях, не могут быть слепо экстраполированы на

российскую популяцию, поскольку существуют расовые, половые, возрастные, этнические особенности распределения генетического материала, и молекулярно-генетические маркеры нозологии в одной стране могут не оказаться таковыми для популяции другой страны, региона. Поэтому российские исследования являются нужными и важными для понимания молекулярно-генетических основ внезапной сердечной смерти.

Цели и задачи

Цель - изучить ассоциации внезапной сердечной смерти с рядом молекулярно-генетических и эпигенетических маркёров.

Задачи:

1. Провести анализ ассоциации внезапной сердечной смерти с генотипами и аллелями ряда однонуклеотидных полиморфизмов генов, выявленных при проведении полногеномного аллелотипирования как возможные новые молекулярно-генетические маркеры внезапной сердечной смерти, в выборке умерших внезапной сердечной смертью в Октябрьском районе г. Новосибирска. В случае ассоциации внезапной сердечной смерти с полиморфизмом изучить его ассоциацию с некоторыми антропометрическими, биохимическими показателями в контрольной группе и некоторыми параметрами судебно-медицинского исследования в группе внезапной сердечной смерти.

2. У лиц умерших внезапной сердечной смертью провести поиск десяти мутаций генов, которые были описаны в качестве патогенных и вероятно патогенных по результатам полноэкзомного секвенирования внезапной сердечной смерти в зарубежных исследованиях.

3. У мужчин молодого возраста умерших внезапной сердечной смертью оценить результативность молекулярной аутопсии методом экзомного секвенирования при поиске патогенных вариантов генов.

4. Провести анализ ассоциации внезапной сердечной смерти с генотипами и аллелями ряда однонуклеотидных полиморфизмов генов, выявленных при проведении экзомного секвенирования как вероятные новые

молекулярно-генетические маркеры внезапной сердечной смерти. В случае ассоциации внезапной сердечной смерти с полиморфизмом изучить его ассоциацию с некоторыми антропометрическими, биохимическими показателями в контрольной группе и некоторыми параметрами судебно-медицинского исследования в группе внезапной сердечной смерти.

5. Провести исследование ассоциации внезапной сердечной смерти со статусом метилирования CpG-островков промоторов или экзонов нескольких генов, метилирование которых ассоциировано с ишемической болезнью сердца по данным международных исследований.

Научная новизна

Впервые найдена ассоциация внезапной сердечной смерти с однонуклеотидными полиморфизмами rs34554140, rs6670279, rs12904699 гена *OR4F6*, rs12170546 гена *PARVB*, rs6582147, rs2136810 гена *ARAP2,* rs16994849 гена *PLCB1*, rs17797829, rs35089892 гена *CAMK2B*, rs6762529 гена *NAALADL2*, rs10010305, rs61999948, rs34643859 гена *KCNS1* в выборке умерших внезапной сердечной смертью в Октябрьском районе г. Новосибирска. Получены новые данные по ассоциации с признаками атеросклероза генотипа TT rs61999948; с индексом атерогенности - генотипа CT rs6762529 гена *NAALADL2*; с толщиной миокарда правого желудочка и частотой сердечных сокращений - генотипа CC rs34643859 гена *KCNS1*.

У внезапно умерших жителей г. Новосибирска проведен поиск десяти мутаций, которые были описаны в качестве патогенных и вероятно патогенных в случаях внезапной сердечной смерти в зарубежных исследованиях: в выборке умерших внезапной сердечной смертью в Октябрьском районе г. Новосибирска найдены носители мутации 9928_9929insE гена *TTN* в группе внезапной сердечной смерти (4,1 %) и контрольной группе (3,8 %), но по результатам статистического анализа мутация 9928_9929insE гена *TTN* оказалась не ассоциированной с внезапной сердечной смертью; не найдено носителей мутаций D4301N и I22160T гена *TTN*, A1744S и R249Q гена *MYH7*, T171M гена *CACNA1C*,

A189T гена *JPH2*, S434Y гена *VCL*, H4552R гена *RYR2*, Y1495X гена *SCN5A* в исследуемой выборке.

Впервые в России проведено экзомное секвенирование группы мужчин (37 человек) с внезапной сердечной смертью до 45 лет: в 18 случаях обнаружено 34 варианта, вероятно связанных с фенотипом внезапной сердечной смерти. Идентифицировано шесть новых редких вариантов нуклеотидной последовательности генов *TGFB3, ABCC9, APOB, CASQ2, RYR2, ANKRD1*.

Впервые проведена оценка ассоциации внезапной сердечной смерти со статусом метилирования CpG-островков расположенных в промоторе или экзонах генов *ABCA1, HMGCR, F2RL3, CDKN2A*. Показано, что внезапная сердечная смерть ассоциирована с метилированием промотора гена *ABCA1*.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты настоящей работы позволили получить сведения об ассоциации с внезапной сердечной смертью ряда полиморфизмов, мутаций генов, статуса метилирования некоторых генов в популяции г. Новосибирска. Накопление такого рода информации является необходимым этапом на пути разработки стратегии первичной профилактики внезапной сердечной смерти, в том числе у лиц с неизвестной ранее кардиальной патологией. Полученные результаты могут быть полезны при планировании будущих исследований внезапной сердечной смерти на европеоидной популяции России.

Результаты исследования показали, что молекулярная аутопсия методом экзомного секвенирования является высокоэффективным подходом для генетического анализа редких клинических фенотипов, к которым относится внезапная сердечная смерть, что соответствует инструкциям по организации и проведению экспертных исследований в Бюро судебно-медицинской экспертизы (приказ Минздрава РФ от 24.01.2003 № 161), в которых рекомендовано взятие образцов для молекулярного исследования, а в случае подозрения на генетически-детерминированное нарушения ритма сердца как причины внезапной сердечной

смерти проведение посмертной молекулярной диагностики является обязательным, однако до сих пор это редко проводится.

Методология и методы исследования

Диссертационное исследование включает в себя 5 этапов, позволяющих комплексно оценить молекулярно-генетические аспекты внезапной сердечной смерти.

На первом этапе проведено исследование ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов, выявленных по результатам полногеномного аллелотипирования, как возможных новых молекулярно-генетических маркеров внезапной сердечной смерти. Дизайн исследования «случай-контроль», молекулярно-генетический анализ проведен с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов.

Второй этап состоял из поиска в группе внезапной сердечной смерти мутаций генов, найденных по результатам полноэкзомного секвенирования в зарубежных исследованиях в отдельных случаях внезапной сердечной смерти. Дизайн исследования «случай-контроль», молекулярно-генетический анализ проведен с помощью ПЦР с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов.

На третьем этапе проведено экзомное секвенирование, осуществлен анализ полученных данных, найденные вероятно причинные мутации были подтверждены методом секвенирования по Сэнгеру.

Четвертый этап включал исследование ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов, выявленных при анализе результатов экзомного секвенирования, как вероятных молекулярно-генетических маркеров внезапной сердечной смерти. Дизайн исследования «случай-контроль», молекулярно-генетический анализ проведен с помощью ПЦР с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов.

На пятом этапе осуществлен анализ ассоциации с внезапной сердечной смертью метилирования CpG-островков отдельных генов, расположенных в промоторе или экзонах гена. Дизайн исследования «случай-контроль», молекулярно-генетический анализ проведен с помощью метилспецифической ПЦР.

В исследование включена группа лиц умерших внезапной сердечной смертью, внезапной несердечной смертью и контрольная группа. В работе использованы специальные методы исследования: в группах лиц, умерших внезапной несердечной смертью и внезапной сердечной смертью - метод судебно-медицинского исследования по стандартному протоколу; в контрольной группе - метод опроса, анкетирования, методы клинического (антропометрический метод, исследование артериального давления, пульса) и лабораторного исследований, современные методы молекулярно-генетического анализа. При обработке полученных результатов использовался метод статистического анализа.

Положения, выносимые на защиту

1. Ассоциированные с внезапной сердечной смертью однонуклеотидные полиморфизмы rs34554140, rs6670279 гена *NAALADL2*, rs12904699 гена *OR4F6*, rs12170546 гена *PARVB*, rs6582147, rs2136810 гена *ARAP2*, rs16994849 гена *PLCB1*, rs17797829, rs35089892 гена *CAMK2B*, rs6762529 гена *NAALADL2*, rs10010305, rs61999948, rs34643859 гена *KCNS1* являются новыми молекулярно-генетическими маркерами внезапной сердечной смерти. С повышенным риском внезапной сердечной смерти ассоциированы комбинации генотипов риска полиморфизмов rs10010305 и rs17797829, rs34554140 и rs6670279, rs2136810 и rs6582147. С частотой сердечных сокращений и толщиной миокарда правого желудочка ассоциирован однонуклеотидный полиморфизм rs34643859 гена *KCNS1*, с индексом атерогенности - rs6762529 гена *NAALADL2*, с признаками атеросклероза - rs61999948.

2. Известные в мировой литературе патогенные и вероятно патогенные для внезапной сердечной смерти мутации (D4301N и I22160T гена *TTN*, R249Q и

A1744S гена *MYH7*, T171M гена *CACNA1C*, A189T гена *JPH2*, S434Y гена *VCL*, H4552R гена *RYR2*, Y1495X гена *SCN5A*) не найдены у умерших внезапной сердечной смертью в г. Новосибирске, мутация 9928_9929insE гена *TTN* не ассоциирована с внезапной сердечной смертью.

3. У мужчин в возрасте до 45 лет умерших внезапной сердечной смертью в 48,7 % случаев обнаружены вероятно причинные варианты в генах-кандидатах внезапной сердечной смерти по данным экзомного секвенирования.

4. С внезапной сердечной смертью ассоциировано метилирование промотора гена *ABCA1*.

Степень достоверности и апробация результатов

В исследование однонуклеотидных полиморфизмов и мутаций генов включена достаточно большая выборка лиц умерших внезапной сердечной смертью (441 человек) и сопоставимая контрольная группа (432 человека), для исследования статуса метилирования генов использованы сопоставимые группы внезапной сердечной и несердечной смерти (по 150 человек в каждой группе). При формировании группы внезапной сердечной смерти были использованы критерии внезапной сердечной смерти Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) и Европейского Общества Кардиологов (European Society of Cardiology). Патологоанатомическое исследование умерших проводилось по стандартному протоколу судебно-медицинскими экспертами ГБУЗ НСО "НОКБСМЭ". Контрольная группа сформирована из баз данных международных проектов HAPIEE и MONICA. Методики обследования, использованные в данных проектах, были стандартизованы для всех участников. В ходе проведения молекулярно-генетической части работы использовались современные методы исследования. Полученные результаты обработаны с использованием общепринятых методов статистического анализа.

Основные результаты исследования представлены в виде устных докладов (Национальный конгресс терапевтов, Москва, 2017 год; Фундаментальные исследования в эндокринологии: современная стратегия развития и технологии

персонализированной медицины, Новосибирск, 2020 год; IX съезд кардиологов Сибирского федерального округа, Новосибирск, 2021 год; Национальный конгресс терапевтов, Москва, 2021 год) и постерных докладов (The international symposium systems biology and biomedicine (SBIOMED-2016), Новосибирск, 2016 год; The European Human Genetics Conference 2017, Копенгаген, Дания, 2017 год; Российский национальный конгресс кардиологов, Санкт-Петербург, 2017 год; IX Съезд российского общества медицинских генетиков, Москва, 2021 год).

Диссертационная работа выполнена в рамках грантов РФФИ № 16-34-00147, № 17-29-06026, № 20-115-50004, гранта РФФИ и Правительства Новосибирской области № 19-415-543001, стипендии Президента Российской Федерации молодым ученым и аспирантам, осуществляющим перспективные научные исследования и разработки по приоритетным направлениям модернизации российской экономики, грантов Правительства Новосибирской области.

Публикации результатов исследования

По результатам работы опубликовано 28 тезисов докладов, 21 статья в журналах, рекомендованных перечнем ВАК РФ (9 из которых индексированы в базах данных Scopus/Web of Science).

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 288 страницах машинописного текста, иллюстрирована 32 таблицами и 34 рисунками. Работа состоит из введения, трех глав (обзор литературы, материал и методы исследования, результаты и обсуждения), содержит заключение, выводы и указатель литературы, включающий 373 ссылки, приложение, состоящее из 5 таблиц.

Личный вклад автора

Автор принимал участие в выделении ДНК методом фенолхлороформной экстракции из ткани миокарда в рамках формирования банка ДНК внезапной

смерти, участвовал в формировании групп, включенных в исследование. Автор самостоятельно осуществлял отбор полиморфизмов, мутаций для генотипирования и генов для эпигенетического анализа. Автором самостоятельно разработаны методики полимеразной цепной реакции для каждого полиморфизма, мутации, включенной в исследование. Автор совместно с сотрудниками лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний проводил генотипирование исследуемых групп по выбранным полиморфизмам и мутациям, оценку статуса метилирования исследуемых генов. Автор самостоятельно осуществлял статистический анализ полученных данных. Автор участвовал в анализе данных экзомного секвенирования. Совместно с соавторами создана и зарегистрирована база данных. В соавторстве написаны и опубликованы печатные работы в журналах, рекомендованных Перечнем ВАК, в которых отражены научные результаты по теме диссертации.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Современные представления о внезапной сердечной смерти

1.1.1 Определение внезапной сердечной смерти

Внезапная смерть согласно критериям Европейского общества кардиологов (European Society of Cardiology) представляет собой нетравматическую, неожиданную смерть, наступившую в течение одного часа (24 часов при отсутствии свидетелей смерти) с момента возникновения симптомов у человека, состояние которого ранее оценивалось как стабильное. Термин «внезапная сердечная смерть» используется, если врожденное или приобретенное, потенциально смертельное заболевание сердца было известно при жизни умершего, или на аутопсии обнаружено заболевание сердца или сосудов, которое, возможно, привело к летальному исходу, или в ходе проведение стандартной аутопсии не выявлено экстракардиальных причин развития внезапной смерти [346]. По Международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10) к внезапной сердечной смерти, так описанной (I46.1) не относят внезапную смерть при нарушении проводимости (I44–I45), инфаркте миокарда (I21–I22), другие виды внезапной смерти по неизвестной причине (R96). Также различают остановку сердца с успешным восстановлением сердечной деятельности (I46.0) и остановку сердца неуточненную (I46.9) [7]. В зарубежной литературе помимо термина «внезапная сердечная смерть» встречается термин внезапная необъясненная смерть (sudden unexplained death), который используется в случае, когда не найдено очевидной причины внезапной смерти, в том числе и по результатам проведенного патологоанатомического исследования [346].

1.1.2 Эпидемиология внезапной сердечной смерти

В Соединенных Штатах Америки более 400 тысяч, а в мире около 4-5 миллионов человек умирают внезапной сердечной смертью ежегодно [217, 263].

В Европе на долю внезапной сердечной смерти приходится 350–700 тысяч случаев в год [372]. Есть данные свидетельствующие о том, что на долю внезапной сердечной смерти приходится 13–20 % смертей от всех причин в мире, и до 40 % всех смертей по ССЗ [10, 270]. В 2010 году в Дании проведено исследование, целью которого было оценить распространенность внезапной сердечной смерти в стране. Все документы по всем случаям смерти в стране были проверены вручную. Из 54028 смертей в Дании 6867 (13 %) были категорированы как внезапная сердечная смерть (9 % определенная внезапная сердечная смерть, 23 % вероятная внезапная сердечная смерть, 68 % возможная внезапная сердечная смерть). Коэффициент смертности для определенной внезапной сердечной смерти составил 11 случаев на 100000 населения в год [231].

В Российской Федерации частота внезапной сердечной смерти отсутствует в официальных статистических источниках информации [10]. При этом Российская Федерация продолжает оставаться в списке стран лидирующих по смертности населения от ССЗ (рисунок 1) [133].

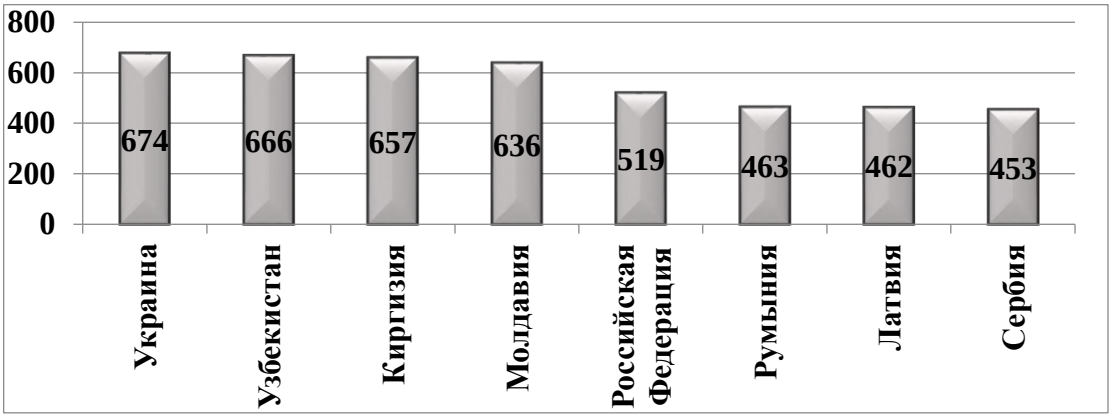


Рисунок 1 – Смертность населения от ССЗ по данным ВОЗ, 2014 год (на 100000 населения)

Для Новосибирской области, так же, как и для Российской Федерации в целом, смертность от сердечно-сосудистой патологии занимает примерно половину в структуре причин смертности населения (рисунок 2) [20].

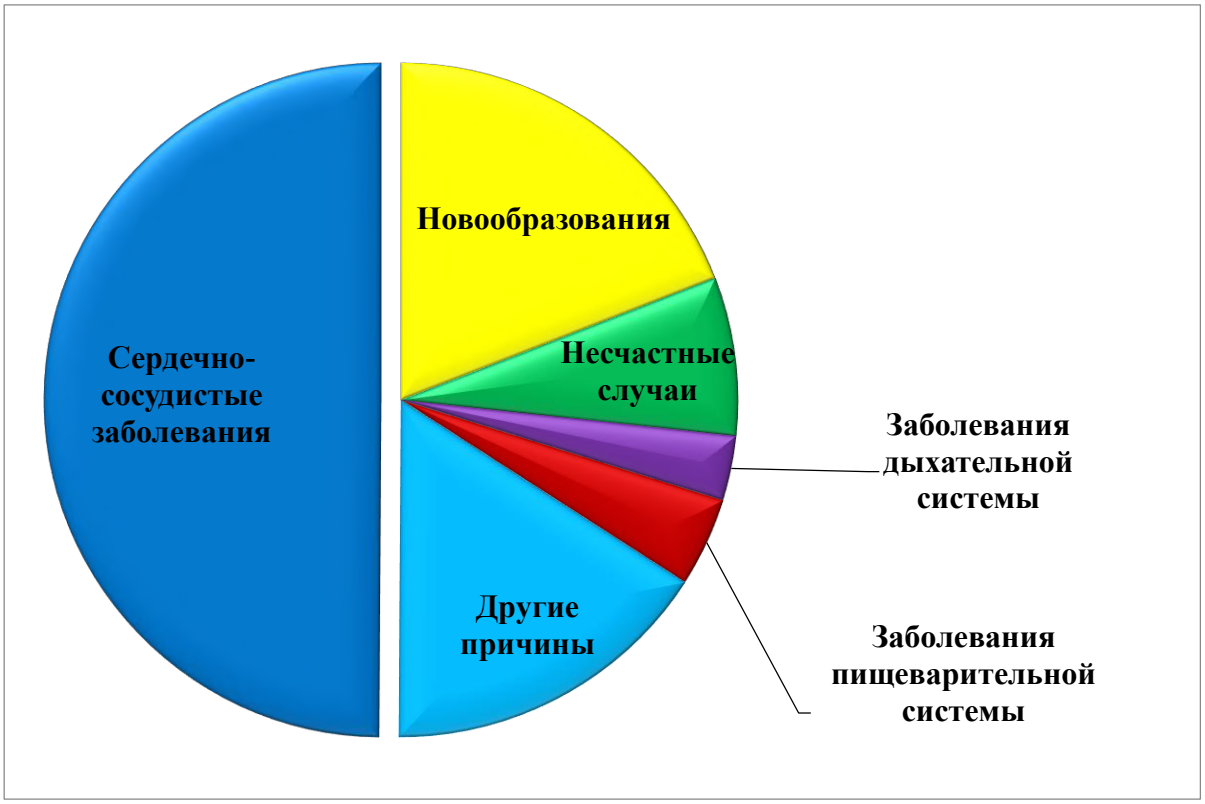


Рисунок 2 – Структура причин смертности населения Новосибирской области, 2019 год

В Брянске проведено исследование по оценке частоты и структуры внезапной сердечной смерти трудоспособного населения Брянской области (регистр ГЕРМИНА, регистр внезапной сердечной смертности трудоспособного населения Брянской области). Анализу подверглись случаи внезапной сердечной смерти в популяции трудоспособного возраста (25–64 лет) численностью 417740 человек в пяти крупных районах Брянской области и г. Брянска за 2012 год. В ходе анализа данных выяснилось, что частота внезапной сердечной смерти среди трудоспособного населения (25–64 года) Брянской области составляет 25,4 человека на 100 тысяч населения трудоспособного возраста [21]. В 2015 году были проанализированы данные Росстата по смертности населения регионов РФ с целью оценить показатели (код I46.1). Показатель нестандартизованной внезапной сердечной смертности в РФ составил 1,4 на 100 тысяч, максимальный

показатель зарегистрирован в Чукотском автономном округе (19,63 на 100 тысяч), Рязанской области (10,2 на 100 тысяч), Алтайском крае (9,95 на 100 тысяч). Минимальные значения - в республике Крым (0,04 на 100 тысяч), Санкт-Петербурге (0,05 на 100 тысяч), Красноярском крае (0,06 на 100 тысяч). Подобные различия в показателях смертности по регионам, по мнению авторов, связаны с отсутствием четких критериев для использования кода I46.1, ошибками медицинской документации, гипердиагностированностью или недостаточной диагностированностью внезапной сердечной смерти [2]. В Забайкальском крае проанализированы данные регистра внезапной сердечной смертности населения Забайкальского края (ЗОДИАК). Ретроспективное исследование проведено на базе бюро судебно-медицинской экспертизы, проанализированы протоколы вскрытия трупов за 2017–2019 года. Так как данные катамнеза были ограничены, то к внезапной сердечной смерти отнесли все случаи смерти по причине сердечно-сосудистой патологии. За три года исследования проанализировано 2211 протоколов вскрытия, которые, по мнению исследователей, соответствуют критериям внезапной сердечной смерти. Среди всех умерших ненасильственной смертью, включенных в анализ (7612 человек за 3 года), 1,89 % зарегистрированы как умершие внезапной сердечной смертью (код I46.1 по МКБ-10), что составляет примерно 143 человека за три года. Авторы указывают, что в целом по Забайкальскому краю за трехлетний период зарегистрировано 914 случаев внезапной сердечной смерти (I46.1), что практически в 23 раза превышает аналогичный показатель по городу Чите (40 случаев за 3 года) [15]. По данным исследования РЕЗОНАНС (Рязань, Воронеж, Ханты-Мансийск) частота внезапной сердечной смерти у мужчин составила 156 случаев на 100 тысяч населения в год, и 72 случая на 100 тысяч населения в год у женщин [10]. По данным пятилетнего исследования в г. Москве (2005–2009 года) обнаружено, что частота внегоспитальной внезапной сердечной смерти в возрасте от 1 до 45 лет составляет 22,3 на 100 тысяч жителей [14]. Таким образом, данные по частоте внезапной сердечной смерти в регионах Российской Федерации значительно

варьируются, от 0,04 на 100 тысяч населения в республике Крым до 19,63 на 100 тысяч населения в Чукотском автономном округе по данным Росстата и 25,4 на 100 тысяч населения в Брянской области по данным регистра Гермина. Данные исследования РЕЗОНАНС и регистра ЗОДИАК сложно сравнить с официальными данными Росстата и регистра ГЕРМИНА, поскольку в регистре ЗОДИАК данные представлены за три года в абсолютных цифрах без пересчета на показатель смертности населения на 100 тысяч человек, а данные исследования РЕЗОНАНС представляют собой показатели превышающие данные Росстата и регистра ГЕРМИНА в десятки раз. Возможно, отличия данных исследования РЕЗОНАНС связано с тем, что к внезапной сердечной смерти относили случаи «естественной смерти вследствие сердечной патологии, которой предшествовала внезапная потеря сознания в течение одного часа после манифестации острых симптомов; при этом время и вид смерти являлись неожиданными», в том числе случаи «непредвиденной смерти в течение 12 часов от момента, когда пациента последний раз видели живым и в удовлетворительном состоянии здоровья» [3]. Тогда как в исследование Росстата к внезапной сердечной смерти относили только случаи, закодированные как I46.1 по МКБ-10.

По данным зарубежных источников средняя выживаемость лиц с внезапной сердечной смертью составляет около 6,4 % [138].

Согласно регистру ЗОДИАК наибольшее количество лиц умерших внезапной сердечной смертью (код I46.1 по МКБ-10) регистрировалось в возрасте 31-40 лет (средний возраст 35,8 ± 8,4 лет, при этом средний возраст мужчин 36 ± 9,5 лет, женщин — 35,7 ± 5 лет) [15]. С возрастом смертность по причине внезапной сердечной смерти увеличивается как в группе мужчин, так и в группе женщин, достигая пика после 40 лет [194, 368]. У подростков и молодых людей (< 35 лет) приблизительная частота внезапной сердечной смерти составляет 0,01 на 1000 в год. Затем частота внезапной сердечной смерти увеличивается, достигая примерно 1 на 1000 в год у лиц 35–40 лет, 2 на 1000 в год к 60 годам и 200 на 1000 в год у пожилых людей. Риск внезапной сердечной смерти увеличивается в

подгруппах повышенного риска. Например, частота внезапной сердечной смерти составляет 0,1–0,2 на 1000 в год у лиц с высоким профилем коронарного риска, 0,5 на 1000 в год у пациентов с предшествующим коронарным событием, 1,5 на 1000 в год у пациентов с застойной сердечной недостаточностью и фракцией выброса < 35 % и 2,5 на 1000 в год у выживших после остановки сердца. Сочетание перенесенного инфаркта миокарда, низкой фракции выброса и желудочковой тахикардии связано с риском внезапной сердечной смерти почти 3,5 на 1000 в год [58]. Согласно данным проекта FinGesture, средний возраст лиц умерших внезапной сердечной смертью составляет 65 ± 12 лет, для ишемической внезапной сердечной смерти – 67 ± 11 лет, для неишемической внезапной сердечной смерти – 59 ± 12 лет [84].

По данным регистра ГЕРМИНА мужчины (85 %) среди умерших внезапной сердечной смерти встречались чаще, чем женщины (15 %) [21]. По другим данным женщин в структуре умерших внезапной сердечной смертью в два раза меньше, чем мужчин [194, 368]. В исследовании FinGesture показано, в структуре умерших внезапной сердечной смертью как ишемической, так и не ишемической этиологии около 80 % мужчин, при этом женщины, умершие внезапной сердечной смертью были старше мужчин (70,1 ± 13,1 и 63,5 ± 11,8 лет, соответственно) [84, 321]. В исследовании в г. Москве в структуре внегоспитальной внезапной сердечной смерти в возрасте от 1 до 45 лет мужчин было в 4 раза больше, чем женщин (81 % и 19 %, соответственно) [14].

Исследование FinGesture (the Finnish Genetic Study of Arrhythmic Events) – исследование, проведенное в Финляндии, в ходе которого с 1998 по 2017 год были отобраны клинические данные и данные патологоанатомических исследований 5869 жертв внезапной сердечной смерти из округа Oulu University Hospital (северная Финляндия, популяция 741000 жителей). Около 60 % лиц, включенных в исследование, умерли внезапной необъясненной смертью. Судебно-медицинская экспертиза проводилась опытными докторами в the National Institute for Health and Welfare, Oulu, Finland и the Department of Forensic

Medicine, University of Oulu, Oulu, Finland. Исследование включало в себя макроскопическое исследование, исследование миокарда, коронарных артерий, клапанов, гистологическое исследование 3–5 образцов ткани сердца [152]. Токсикологическое исследование проводилось, когда на аутопсии не было найдено достоверной причины смерти или случай был подозрителен в отношении токсикологической причины смерти [84].

1.1.3 Этиология и патогенез внезапной сердечной смерти

Во взрослой популяции кардиомиопатии, каналопатии и ишемическая болезнь сердца (ИБС) являются главными предрасполагающими к внезапной сердечной смерти заболеваниями. По данным последних эпидемиологических исследований в европейских странах ИБС диагностируется в 75 %, кардиомиопатии (гипертрофическая (ГКМП), дилатационная (ДКМП), аритмогенная правожелудочковая (ARVC)), инфильтративные заболевания миокарда (саркоидоз, амилоидоз) – в 10–15 %, врожденные каналопатии (синдром Бругада, синдром удлиненного интервала QT (LQTS), катехоламинергическая желудочковая тахикардия) в 5–10 % от всех случаев внезапной сердечной смерти [217, 263].

Непосредственной причиной развития внезапного летального исхода является желудочковая тахикардия, фибрилляция желудочков, брадиаритмия, электромеханическая диссоциация, которые приводят к циркуляторному коллапсу. Ишемия, вызванная окклюзией коронарной артерии или повреждением атеросклеротической бляшки, может привести к полиморфной желудочковой тахикардии, постинфарктная ишемическая кардиомиопатия или дисфункция левого желудочка - к мономорфной желудочковой тахикардии. Без терапии тахикардия с большой долей вероятности перерастет в фибрилляцию и как следствие внезапную сердечную смерть. Риск внезапной сердечной смерти возрастает в 2–4 раза при наличии ИБС, 6–10 раз в случае структурного заболевания сердца [266].

В результате опроса близких родственников лиц из регистра ГЕРМИНА (опрошено 26 родственников первой линии родства лиц умерших внезапной сердечной смертью) в 46 % в анамнезе умерших была сердечная недостаточность, в 31 % – перенесенный инфаркт миокарда, в 31 % – стенокардия напряжения. В половине случаев смерть наступила в течение 1 часа от ухудшения состояния, в 17 % – мгновенно, в 22 % случаев тело умершего было обнаружено родственниками в течение 12 ч с момента, когда умершего видели в удовлетворительном состоянии [11].

По данным исследования FinGesture 75 % случаев внезапной сердечной смерти развилась на фоне ИБС, 12,6 % жертв внезапной сердечной смерти имели гипертензию или ожирение, связанное с заболеванием миокарда, что и стало причиной внезапной сердечной смерти, в 4,9 % случаев причиной внезапной сердечной смерти стала алкогольная ДКМП, в 3,1 % – первичный миокардиальный фиброз, в 1,3 % – заболевания клапанов, в 1 % – миокардиты, в 0,9 % – ДКМП, в 0,7 % – ГКМП, в 0,3 % – нарушение ритма сердца, в 0,1 % – аритмогенная кардиомиопатия [152]. Все 9 случаев (на 2011 год) внезапной сердечной смерти исследования FinGesture без найденной на аутопсии сердечно-сосудистой патологии были проверены на мутации, связанные с развитием LQTS, мутация G589D гена *KCNQ1* (potassium voltage-gated channel subfamily Q member 1, 11p15.5–p15.4) была найдена в 2 случаях [84]. В этом же исследовании зарегистрировано, что встречаемость необструктивных причин внезапной сердечной смерти была выше у женщин по сравнению с мужчинами (28,3 % и 24,3 %, соответственно). Первичный миокардиальный фиброз был более распространен у женщин, чем у мужчин (5,2 и 2,6 %, соответственно). У женщин чаще была записана при жизни нормальная ЭКГ [321]. Внезапная сердечная смерть стала первым сердечно-сосудистым событием для 66 % лиц с неишемической внезапной сердечной смертью и 55 % лиц с ишемической внезапной сердечной смертью. По результатам анализа данных исследования в 2011 году был сделан вывод о том, что, кардиомиопатия, ассоциированная с

ожирением, фиброзом миокарда и алкогольная кардиомиопатия, были наиболее частыми причинами неишемической внезапной сердечной смерти в Финляндии, в том числе и в молодом возрасте [84]. При сравнении причин внезапной сердечной смерти по четырехлетиям (1998–2002, 2003–2007, 2008–2012) выявлено, что доля внезапной сердечной смерти, связанной с ИБС при отсутствии в анамнезе болезней сердца, снизилась, тогда как доля, связанная с гипертонической болезнью и идиопатическим фиброзом, увеличилась за последние 15 лет [349].

В 4,9 % случаев причиной внезапной сердечной смерти в проекте FinGesture стала алкогольная кардиомиопатия, диагноз которой основывается на исключении других причин сердечной недостаточности, учитываются клинические данные, соответствующие сердечной недостаточности и история злоупотребления алкоголем (16 и более порций алкоголя для женщин, 24 и более порции алкоголя для мужчин в неделю), а также признаки злоупотребления алкоголя, найденные патологоанатомически в виде повреждений органов и тканей. Среди жертв внезапной сердечной смерти на фоне алкогольной кардиомиопатии у 22,1 % ССЗ было диагностировано при жизни, у 77,9 % внезапная сердечная смерть стала первым проявлением сердечно-сосудистой патологии. В 46,2 % случаев этанол был найден в крови и моче умерших внезапной сердечной смертью. В 98,6 % случаев умершие страдали тяжелой степенью алкоголизма. Таким образом, исследование демонстрирует, что большинство умерших внезапной сердечной смертью на фоне алкогольной кардиомиопатии не имели ранее диагностированного ССЗ, но задокументированное злоупотребление алкоголем встречалось повсеместно [88]. По данным российского регистра ГЕРМИНА частота алкогольной кардиомиопатии составила 7 % в структуре причин внезапной сердечной смерти (проанализировано 106 случаев внезапной сердечной смерти) [16].

Среди случаев внезапной сердечной смерти в исследовании в Турции у 65,6 % причиной стала ИБС, у 10,9 % ИБС с тампонадой сердца, у 7,8 % ГКМП, а 8,6 % случаев остались необъясненными. У 71,2 % жертв внезапной сердечной

смерти наблюдался стеноз коронарных артерий более 75 %, 92,9 % имели атеросклеротическое поражение левой передней нисходящей артерии, у 91,7 % была зафиксирована кардиомегалия [270].

По данным регистра ГЕРМИНА в 24 % случаев внезапной сердечной смерти наступала в стационарах, в 76 % случаев внезапная сердечная смерть была внегоспитальной [21]. Большая часть случаев внезапной сердечной смерти в исследовании FinGesture произошла дома, для неишемической внезапной сердечной смерти в 81,6 % случаев, для ишемической внезапной сердечной смерти – в 71 %. Среди неишемических случаев внезапной сердечной смерти 60,3 % случаев произошли в 12–часовый период между полуночью и полуднем, в сравнении с 51,5 % случаев для ишемических случаев внезапной сердечной смерти. В наименьшем проценте случаев внезапной сердечной смерти в обеих группах развивалась между 6 часами вечера и полуночью [84]. В небольшом ретроспективном исследовании 128 случаев внезапной сердечной смерти в Турции показано, что в 41,4 % случаев внезапной сердечной смерти развились дома [270].

В случае внезапной сердечной смерти у молодых (в возрасте до 40 лет) наиболее распространенными причинами смерти становятся наследственные заболевания (кардиомиопатии и каналопатии) [262]. В исследовании FinGesture был проведен анализ внезапной сердечной смерти у молодых лиц в возрасте до 50 лет. В 43,6 % случаев причиной внезапной сердечной смерти стала ИБС, в возрасте старше 35 лет ИБС встречается чаще, чем в возрасте до 35 лет. В 90,2 % случаев умершие ишемической внезапной сердечной смертью не имели клинического диагноза ИБС, в 33,8 % на аутопсии были обнаружены признаки бессимптомного инфаркта миокарда. В 16,7 % у умерших внезапной сердечной смерти в возрасте до 50 лет были найдены признаки кардиомиопатии, ассоциированной с ожирением, в 11 % случаев внезапной сердечной смерти была связана с алкогольной кардиомиопатией, в 10,3 % - с первичным фиброзом миокарда [99].

При изучении обстоятельств, непосредственно предшествующих внезапной сердечной смерти у молодых людей, примерно в половине случаев внезапная сердечная смерть возникает в состоянии покоя или во сне. Механизмы, связанные со смертью во сне, в значительной степени неясны, но могут быть связаны с нарушением вегетативной регуляции кардиореспираторной деятельности [68]. В проспективном исследовании в США были изучены обстоятельства смерти, клинические данные, исходы внезапной остановки сердца в молодом возрасте (5–34 года). В 26 (14 %) из изученных 186 случаев внезапной остановки сердца у молодых, триггером для ее развития стал спорт (организованный групповой спорт или индивидуальная атлетическая активность, остановка сердца развилась в момент занятия спортом или в течение 1 часа после). В группе была зафиксирована неожиданно высокая общая распространенность установленных факторов риска ССЗ (ожирение, сахарный диабет (СД), артериальная гипертензия, гиперлипидемия, курение) с фактором риска ≥ 1 в 58 % случаев внезапной остановки сердца. Реанимационные мероприятия были предприняты в 82 % случаев, а общая выживаемость составила 14 %. Полученные данные свидетельствуют о том, что спорт является пусковым фактором для развития внезапной сердечной смерти в небольшом проценте случаев у молодых, высокую значимость имеет работа с факторами риска ССЗ [272]. Таким образом, смерть во время физической активности и занятий спортом относительно редка, но вследствие наличия свидетелей является резонансной [68].

1.1.4 Факторы риска внезапной сердечной смерти

Согласно Национальным рекомендациям по определению риска и профилактике внезапной сердечной смерти в Российской Федерации выделяют группу основных и второстепенных факторов риска внезапной сердечной смерти [10].

В группу основных факторов риска относят эпизод сердечного ареста в анамнезе и/или гемодинамически значимую устойчивую желудочковую

тахикардию, перенесенный инфаркт миокарда в анамнезе, эпизоды синкопе, систолическую дисфункцию, сопровождающуюся снижением фракции выброса левого желудочка менее 40 %, желудочковые экстрасистолы и/или эпизоды неустойчивой желудочковой тахикардии [10].

К второстепенным факторам риска относят гипертрофию миокарда левого желудочка, артериальную гипертензию, гиперлипидемию, СД, курение, избыточный вес, увеличение частоты сердечных сокращений, гиперсимпатикотонию [10].

Кроме того, к факторам риска внезапной сердечной смерти также относится возраст старше 35 лет (при этом в возрасте старше 75 лет риск снижается), мужской пол, злоупотребление алкоголем, хроническая болезнь почек, депрессия, негроидная раса [24, 89, 266, 118].

По данным регистра ГЕРМИНА обращает на себя внимание высокая частота факторов риска среди умерших внезапной сердечной смертью (курение – 81 %, гиподинамия – 69 %, артериальная гипертензия – 65 % и злоупотребление алкоголем – 42 %) [11].

В крупном исследовании в Иране (3705 мужчин и 4446 женщин старше 30 лет, средняя продолжительность наблюдения 17,9 лет) зафиксировано 244 случая внезапной сердечной смерти (165 мужчин). Значимыми факторами риска оказались курение (ОР = 2,43, 95 % ДИ 1,73–3,42), большая окружность талии (ОР = 1,49, 95 % ДИ 1,04–2,12), артериальная гипертензия (ОР = 1,39, 95 % ДИ 1,05–1,84), сахарный диабет второго типа (ОР = 2,78, 95 % ДИ 2,09–3,69), пульс более 90 ударов в минуту (ОР = 1,72, 95 % ДИ 1,22–2,42), ССЗ в анамнезе (ОР = 1,75, 95 % ДИ 1,26–2,45). Среднее значение окружности талии было равно 94,1 см в группе внезапной сердечной смерти, 90,9 см в группе контроля. Однако значение окружности талии является полоспецифичным, поэтому заключение о том, что большая окружность талии по данным проведенного исследования ассоциирована с риском внезапной сердечной смерти вызывает сомнения. В группе контроля женщин больше, чем мужчин, в отличие от группы внезапной

сердечной смерти, таким образом, закономерно, что в группе контроля окружность талии меньше, чем в группе внезапной сердечной смерти. Таким образом, наибольшее значение как фактор риска внезапной сердечной смерти согласно данным исследования имеет сахарный диабет [317].

В исследовании на базе когорты проекта ARIC (Atherosclerosis Risk in Communities) Study (1987–2012) было показано, что лица с метаболическим синдромом имеют более высокий риск внезапной сердечной смерти (ОР = 1,7, 95 % ДИ 1,37–2,12) независимо от пола и расы. Риск внезапной сердечной смерти при этом варьирует от количества компонентов (повышенное артериальное давление, нарушение толерантности к глюкозе, дислипидемия, центральное ожирение) метаболического синдрома. Из всех компонентов метаболического синдрома повышенное артериальное давление, нарушение толерантности к глюкозе и низкий уровень ХС-ЛПВП были независимо ассоциированы с риском внезапной сердечной смерти [340].

Внезапная сердечная смерть и артериальная гипертензия

Повышенное артериальное давление является доказанным фактором риска внезапной сердечной смерти, что подтверждено многочисленными исследованиями. Так, в одном из мета-анализов показано, что относительный риск внезапной сердечной смерти равен 2,1 у лиц с артериальной гипертензией по сравнению с лицами с нормальным артериальным давлением. В этом же исследовании показано, что риск внезапной сердечной смерти увеличивается на 28 % при увеличении систолического артериального давления на 20 мм рт. ст., при этом не было установлено связи изменения диастолического артериальным давления с риском внезапной сердечной смерти [78]. В крупном исследовании в Финляндии (2666 мужчин от 42 до 1 года) за средний период наблюдения 18,9 лет было зафиксировано 213 случаев внезапной сердечной смерти. Оказалось, что повышение систолического артериального давления на каждые 10 мм рт. ст. в покое увеличивает риск внезапной сердечной смерти (относительный риск 1,15,

95 % ДИ 1,07-1,25). Мужчины с систолическим артериальным давлением более 145 мм рт. ст. входят в группу более высокого риска внезапной сердечной смерти по сравнению с теми мужчинами, у которых систолическое артериальное давление находилось на уровне менее 123 мм рт. ст. (ОШ = 2,04, 95 % ДИ 1,23–2,52) [203]. В исследовании в Корее была проведена оценка риска внезапной сердечной смерти в зависимости от уровня артериального давления и С-реактивного белка. Ретроспективно за 23,2 года наблюдения у лиц из исследуемой когорты 1953 мужчин в возрасте 42–61 года без истории ИБС зафиксировано 137 случаев внезапной сердечной смерти. Повышенный уровень систолического артериального давления (более 132 мм рт. ст.) и повышенный уровень С-реактивного белка (более 1,3 мг/л) были ассоциированы с риском внезапной сердечной смерти (ОШ = 2,73, 95 % ДИ 1,62–4,6, после стандартизации по возрасту, употреблению алкоголя, индексу массы тела и другим параметрам) [195].

Артериальная гипертензия связана с развитием гипертрофии левого желудочка, которая ассоциирована с более длинным потенциалом действия, нарушениями реполяризации, повышенной частотой возникновения нарушений ритма сердца, которые могут привести к внезапной сердечной смерти. При этом ИБС на фоне артериальной гипертензии и гипертрофии левого желудочка также может способствовать развитию внезапной сердечной смерти [203]. Модели на животных показали, что при гипертрофии левого желудочка на фоне артериальной гипертензии изменяется плотность и функционирование ионных каналов миоцитов желудочка, что приводит к удлинению интервала QT, продолжительности потенциала действия, являясь субстратом для желудочковых аритмий. Кроме того, при гипертрофии левого желудочка создаются благоприятные условия для повторного входа импульса (re-entry). Исследования in vitro показали, что гипертрофированные кардиомиоциты человека также демонстрируют изменения в ионных каналах. Кроме того, в ответ на гипертензию происходит усиление синтеза коллагена. В исследованиях на животных показано,

что фиброз является одним из субстратов для развития желудочковых аритмий (изолированные эктопические сокращения желудочков). Для человека также показана строгая корреляция между гипертрофией, фиброзом и желудочковыми аритмиями [230].

Внезапная сердечная смерть и изменение показателей липидного обмена

По данным ряда исследований изменения показателей липидного обмена ассоциированы с риском внезапной сердечной смерти, что связано с развитием атеросклероза, ИБС, являющейся наиболее частым субстратом внезапной сердечной смерти. Прежде всего, к изменениям показателей липидного обмена, рассматривающимися, как играющие роль в повышении риска внезапной сердечной смерти, относится повышенный уровень общего холестерина, триглицеридов, холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП), пониженный уровень холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛПВП) [201, 322]. Например, в Финляндии в проспективном исследовании (2616 мужчин в возрасте от 42 до 61 года) за средний период наблюдения 23 года зафиксировано 228 случаев внезапной сердечной смерти. Не было найдено ассоциации уровня ХС-ЛПВП и ХС-ЛПНП с риском внезапной сердечной смерти. Но показано почти двукратное увеличение риска внезапной сердечной смерти для лиц с более высоким (4,22) по сравнению с лицами с более низким отношением (менее 2,3) ХС-ЛПНП к ХС-ЛПВП (ОР = 1,94, 95 % ДИ 1,21–3,11) [193]. Согласно данным когортного исследования в Иране уровень триглицеридов более 150 мг/дл, низкий уровень ХС-ЛПВП значимо ассоциированы с риском внезапной сердечной смерти [22]. В исследовании в США показано, что на риск внезапной сердечной смерти у мужчин влияет отношение общего холестерина к ХС-ЛПВП (ОШ = 1,9, 95 % ДИ 1,3–2,76) [210].

Внезапная сердечная смерть и сахарный диабет

В Дании проведено 10-летнее национальное исследование, целью которого было сравнение риска внезапной сердечной смерти у лиц в возрасте 1–49 лет с СД и без него. В исследование включено 14294 смерти, из которых внезапная сердечная смерть составила 1393 случая. 9 % всех лиц умерших внезапной сердечной смертью имели СД (118 случаев внезапной сердечной смерти среди 669 смертей лиц с СД). В возрастной группе 1–35 лет риск внезапной сердечной смерти на фоне СД составил 21,9 на 100000 человек в год, для сравнения риск внезапной сердечной смерти без СД составляет 2,6 на 100000 человек в год. В возрастной группе 36–49 лет риск внезапной сердечной смерти на фоне СД – 119,8 на 100000 человек в год, риск внезапной сердечной смерти без СД – 19,7 на 100000 человек в год. Проведенное исследование подчеркивает необходимость профилактики внезапной сердечной смерти у лиц с СД, особенно в молодом возрасте [318]. Мета-анализ 19 проспективных популяционных исследований показал суммарный относительный риск внезапной сердечной смерти у лиц с СД 2,2 по сравнению с лицами без СД, 1,23 – для лиц с предиабетом. В 10 проспективных непопуляционных исследованиях риск внезапной сердечной смерти на фоне СД составил 1,75 [111]. Повышенный риск ИБС при СД, связанный с ускоренным развитием атеросклероза обычно считается основной причиной риска внезапной сердечной смерти на фоне СД. Но появляются данные свидетельствующие о том, что СД также увеличивает риск внезапной сердечной смерти независимо от ИБС. Как и в популяции, лица с СД могут иметь различные субклинические сердечные заболевания. В этом случае у пациентов с СД аритмия или остановка сердца могут быть спровоцированы тяжелой метаболической декомпенсацией (например, тяжелым диабетическим кетоацидозом, гипогликемией или изменением концентрации калия). Кроме того, сердечная вегетативная нейропатия, приводящая к развитию аритмии вследствие нарушения симпатической и парасимпатической регуляции, может объяснить увеличение частоты внезапной сердечной смерти у лиц с СД. Еще одной проблемой при СД

является так называемая «молчащая/тихая» ишемия миокарда, которая связана с измененным восприятием боли при СД. Такая ишемия не диагностируется, не лечится и приводит в итоге к внезапной сердечной смерти [326].

В исследовании в Китае показано, что у пациентов с СД, получающих инсулинотерапию, на риск внезапной сердечной смерти влияет уровень гликированного гемоглобина, общего холестерина, ХС-ЛПНП, триглицеридов, что показывает значимость правильно подобранной сахароснижающей терапии и гиполипидемической терапии в отношении профилактики развития внезапной сердечной смерти при СД [274].

Внезапная сердечная смерть и курение

В мета-анализе 2018 года показано, что суммарный относительный риск внезапной сердечной смерти у курильщиков составляет 3,06, и 1,38 у бывших курильщиков по сравнению с лицами, которые никогда не курили. Риск внезапной сердечной смерти у курильщиков в 2,08 раза выше, чем у лиц, бросивших курить или никогда не куривших [354]. Непосредственный механизм вклада табакокурения в развитие внезапной сердечной смерти неизвестен. У некоторых курильщиков отмечалась аномальная реполяризация желудочков, которая, как считается, вызвана повышением симпатического тонуса и частоты сердечных сокращений, спазмом коронарных сосудов и ишемией. В исследованиях на изолированных миоцитах желудочков было показано, что никотин напрямую ингибирует калиевые каналы [353].

Внезапная сердечная смерть и ожирение

Исследования по вкладу ожирения в развитие внезапной сердечной смерти противоречивы, часть из них говорит об отсутствии вклада ожирения в развитие внезапной сердечной смерти. В мета-анализе Chen H и др., так же, как и в мета-анализе Agbaedeng и др. показано, что ожирение имеет положительную связь с риском внезапной сердечной смерти. Избыточный вес так же, как и ожирение связан с повышенным риском внезапной сердечной смерти. Возможные

механизмы связи избыточного веса и внезапной сердечной смерти остаются неясными. Было предположено множество факторов для объяснения повышенного риска внезапной сердечной смерти у пациентов с избыточной массой тела, например, такие как, гипертрофия левого желудочка, повышенная электрическая возбудимость, нарушение вегетативной регуляции. В сердце лиц с ожирением наблюдаются патологические изменения миокарда, в том числе гипертрофия миоцитов, фиброз, очаговые изменения миокарда, инфильтрация жировыми и мононуклеарными клетками, повышенное содержание эпикардиального жира. Существуют доказательства, подтверждающие увеличение электрической возбудимости при ожирении. Гистологические исследования также показали патологические изменения, связанные с проводимостью у молодых лиц с ожирением и внезапной сердечной смертью [89]. В мета-анализе Aune D и соавт. показано, что суммарный относительный риск внезапной сердечной смерти составил 1,16 на 5 единиц прироста индекса массы тела и 1,82 на 0,1 единицы увеличения соотношения талии к бедрам и 1,03 на 10 см увеличения окружности талии [354].

Внезапная сердечная смерть и изменение частоты сердечных сокращений

Многие исследования указывают на то, что повышение частоты сердечных сокращений увеличивает риск сердечно-сосудистой смертности. В ряде исследований показано, что увеличение частоты сердечных сокращений на 10 ударов в минуту увеличивает риск сердечно-сосудистой смерти на 10–20 %, что более значимо для мужчин, чем для женщин. Показано, что у лиц с частотой сердечных сокращений более 80 ударов в минуту по сравнению с теми, у кого частота сердечных сокращений меньше 65 ударов в минуту, риск сердечно-сосудистой смерти увеличивается на 44 % [331]. В исследовании 2005 года проведено наблюдение средней продолжительностью 14,7 лет за 24913 пациентами с ИБС. Пациенты с базовой частотой сердечных сокращений более 83

ударов в минуту имели повышенный риск сердечно-сосудистой смерти (относительный риск 1,31, 95 % ДИ 1,15–1,48) [207]. В мета-анализе (87 исследований) Aune et al. показано, что увеличение частоты сердечных сокращений на 10 ударов в минуту увеличивает риск внезапной сердечной смерти на 9 % (относительный риск 1,09, 95 % ДИ 1,0–1,18) [269]. В мета-анализе 45 нерандомизированных проспективных исследований показано, что относительный риск внезапной сердечной смерти при увеличении частоты сердечных сокращений в покое на 10 ударов в минуту составляет 1,12 (95 % ДИ 1,02–1,24) [371].

Таким образом, факт влияния изменения частоты сердечных сокращений на риск внезапной сердечной смерти является неоднократно доказанным. Механизм реализации повышенной частоты сердечных сокращений в патогенез внезапной сердечной смерти может быть реализован разными путями. Высокая базовая частота сердечных сокращений представляет собой маркер гиперактивности симпатической нервной системы, которая ассоциирована с повышенным риском внезапной смерти, чаще всего через механизм развития фибрилляции желудочков. Также высокая базовая частота сердечных сокращений может увеличивать гемодинамический стресс, укорачивая диастолическую фазу, что увеличивает механическую нагрузку, потребление кислорода, что неблагоприятно влияет на имеющийся коронарный атеросклероз и может вызывать ишемию миокарда, и как следствие нарушение ритма сердца и внезапную его остановку [371].

Внезапная сердечная смерть и злоупотребление алкоголем

По данным исследования FinGesture у 4 из 10 лиц умерших внезапной необъясненной смертью были найдены признаки употребления алкоголя до наступления внезапного летального исхода [74]. В 42 % случаев внезапной неишемической смерти было обнаружено повышенное содержание этанола в крови, мужчины в состоянии алкогольного опьянения встречались чаще, чем женщины [75]. У 18 % из 106 исследованных в регистре ГЕРМИНА случаев

внезапной сердечной смерти в медицинской документации были зафиксированы указания на злоупотребление алкоголем при жизни [16]. В исследовании триггеров внезапной сердечной смерти показано, что риск внезапной сердечной смерти при эпизодическом употреблении алкоголя увеличивается на 14,5 % (95 % ДИ 4,9–28,5) [103].

Считается, что недавнее употребление алкоголя может провоцировать развитие внезапной сердечной смерти [75]. Аритмогенный потенциал потребления алкоголя, включает индукцию как предсердных, так и желудочковых аритмий, при этом фибрилляция предсердий (ФП) является наиболее распространенной аритмией, связанной с употреблением алкоголя. Аритмии возникают как при редком, так и при хроническом употреблении алкоголя. Воздействие алкоголя на запуск желудочковых аритмий зависит от дозы и чаще наблюдается у злоупотребляющих алкоголем лиц, как у здоровых, так и у пациентов с основным структурным заболеванием сердца, включая ИБС и алкогольную кардиомиопатию [342]. Кроме того, употребление алкоголя повышает артериальное давление, провоцирует нейрогормональную стимуляцию и вызывает дисфункцию левого желудочка, что может длиться до нескольких дней после употребления алкоголя. Хроническое употребление алкоголя (более 6 доз в день) ассоциировано с развитием артериальной гипертензии, гипертрофии кардиомиоцитов, повышенным уровнем кортизола и холестерина, повышенным риском инфаркта миокарда, ДКМП, сердечной недостаточности и аритмий. Эпизодическое употребление больших доз алкоголя ассоциировано с развитием миокардиального воспаления, аритмий [74]. С другой стороны, потребление алкоголя в низких и умеренных дозах (от 2 до 6 доз в неделю) может обеспечить некоторую защиту от серьезных желудочковых аритмий и остановки сердца, что связано со снижением артериального давления, положительным воздействием на факторы гемостаза, липопротеины, маркеры воспаления; однако воздержание - оптимальная стратегия [74, 342].

Внезапная сердечная смерть и физическая активность

Некоторые исследования показали, что физическая активность у взрослых снижает риск внезапной сердечной смерти, тогда как другие исследования противоречат данному утверждению, показывая, что физическая активность может служить триггером внезапной сердечной смерти. 6–17 % случаев внезапной сердечной смерти у мужчин связаны с острым физическим напряжением, у женщин риск внезапной сердечной смерти на фоне физической нагрузки ниже [242]. В мета-анализе 2020 года, который является первым мета-анализом популяционных проспективных исследований физической активности и риска внезапной сердечной смерти, обнаружено, что участники, сообщавшие о самом высоком уровне физической активности, имели примерно вполовину сниженный риск внезапной сердечной смерти по сравнению с теми, у кого был самый низкий уровень активности [243]. В исследовании FinGesture также была проведена оценка связи внезапной сердечной смерти с физической активностью. Среди лиц, смерть которых произошла при свидетелях, в 27 % случаев смерть произошла во время или сразу после физической нагрузки. Мужчин в этой группе было больше, чем женщин, по сравнению с теми, чья смерть произошла во время отдыха, без связи с физической нагрузкой (94 % мужчин в группе внезапной сердечной смерти на фоне физической нагрузки, 77 % мужчин в группе внезапной сердечной смерти в покое). ИБС была более распространена в группе внезапной сердечной смерти на фоне физической активности, чем в группе внезапной сердечной смерти в покое (91 % и 75 %, соответственно). Гипертрофия миокарда, рубцовое изменение миокарда также чаще встречались в группе внезапной сердечной смерти на фоне физической активности. Наиболее частым видом физической активности, приводящей к внезапной сердечной смерти стали занятия лыжным, велосипедным спортом, уборка снега [319]. В возрасте до 50 лет по данным того же исследования внезапная сердечная смерть развивалась во время физической активности в 24,1 % случаев [99]. По данным анализа прижизненной ЭКГ у лиц, внезапная сердечная смерть которых произошла на фоне физической

нагрузки, чаще наблюдался фрагментированный комплекс QRS как минимум в двух грудных отведениях (V1-V3), патологический зубец Q в грудных отведениях [140]. Фрагментированный комплекс QRS включает различные паттерны изменения RSR, без типичной блокады ножек пучка Гиса, является маркером измененной желудочковой деполяризации. Средняя продолжительность QRS была длиннее в группе внезапной сердечной смерти на фоне физической активности по сравнению с внезапной сердечной смертью в покое (100 и 94 мс, соответственно) [349]. У профессиональных атлетов преобладающим субстратом для развития внезапной сердечной смерти становится ГКМП (в одной трети случаев), идиопатическая левожелудочковая гипертрофия и аномалии коронарных артерий [45].

Другие факторы риска внезапной сердечной смерти

Известно, что фиброз миокарда ассоциирован с риском внезапной сердечной смерти, но выявить его в общей популяции довольно сложно. На базе исследования FinGesture провели оценку прижизненной ЭКГ у лиц умерших внезапной сердечной смертью для поиска ЭКГ-маркеров фиброза миокарда. Обнаружено, что длительность комплекса QRS, а также преобладание фрагментированных комплексов QRS с патологическим зубцом Q и инверсией зубца T коррелировало со степенью тяжести фиброза. Так средняя длительность комплекса QRS у лиц без фиброза по данным исследования составляет 96 ± 21 мс, 97 ± 20 мс у лиц со слабовыраженным фиброзом, 103 ± 26 мс при умеренно выраженном фиброзе, 108 ± 27 мс у лиц с выраженным фиброзом. Также у лиц с фиброзом чаще наблюдалась блокада левой ножки пучка Гиса. Таким образом, исследование показало неинвазивный способ раннего выявления пациентов с фибротической кардиомиопатией и риском внезапной сердечной смерти [122].

В крупном исследовании в США показано, что обмороки ассоциированы с повышенным риском внезапной остановки сердца на фоне ИБС, в том числе и у пациентов с сохраненной функцией левого желудочка. Информация об обмороках в исследовании систематически собиралась из медицинских карт пациентов.

Обморок определялся, как преходящая потеря сознания, предположительно из-за преходящей глобальной гипоперфузии головного мозга, которая характеризуется быстрым началом, непродолжительностью и спонтанным полным выздоровлением. Бессознательное состояние из-за других факторов, таких как эпилептические припадки, интоксикация или метаболические нарушения (гипогликемия), не классифицировалось как обморок, равно как и пресинкопальное состояние, которое не приводило к полной потере сознания. В общей популяции Framingham Heart Study обмороки по любой причине также были связаны с увеличением смертности на 31 %. Сердечный обморок был связан с двукратным риском смерти, в то время как вазовагальный обморок имел доброкачественный прогноз. В исследовании в Дании показано, что обмороки увеличивают смертность на 6 % [327].

Framingham Heart Study – длительное исследование, проводимое в Фреймингеме (США). Исследование захватывает три поколения участников, было начато в 1948 году, 5209 мужчин и женщин без явных симптомов ССЗ, инсульта и инфаркта миокарда в анамнезе, в возрасте 28–62 года включены в исследование. Стандартное клиническое исследование включало опрос, физикальное обследование, лабораторные тесты. Кардиваскулярные события, включая госпитализации, смерти, были задокументированы. По результатам наблюдения были идентифицированы основные факторы риска ССЗ, накоплена информация о таких факторах риска, как артериальное давление, уровень триглицеридов и холестерина в крови, возраст, пол и психосоциальные проблемы [141, 348].

Отмечено, что некоторые ЭКГ-признаки также могут быть ассоциированы с повышенным риском внезапной остановки сердца. Так, угол QRS-T более 90 градусов связан с повышенным риском внезапной остановки сердца независимо от фракции выброса левого желудочка (ОШ = 2,2, 95 % ДИ 1,60–3,09). В исследовании показано, что у лиц с внезапной остановкой сердца угол QRS-T был значимо шире (74°; 95 % ДИ 17°–131°), чем у лиц из группы контроля (51°; 95 % ДИ 5°–97° $p < 0,0001$) [367]. К другим ЭКГ-признакам повышающим риск

внезапной сердечной смерти относят пролонгирование начальной желудочковой деполяризации, ЭКГ-признаки гипертрофии левого желудочка [107].

Диета также ассоциирована с риском внезапной сердечной смерти. По данным полученным на когорте исследования REGARDS (Reasons for Geographic and Racial Differences in Stroke) средиземноморская диета имеет тенденцию к протективному действию в отношении развития внезапной сердечной смерти (ОР = 0,74, 95 % ДИ 0,55–1,01). Напротив, южная диета (с добавлением жиров, жареной пищи, яиц, мясных продуктов, а также напитков с сахаром) имеет тенденцию к повышению риска внезапной сердечной смерти (ОР = 1,46, 95 % ДИ 1,02–2,1) [214]. «Защитный» эффект средиземноморской диеты для внезапной сердечной смерти ранее был показан для женщин в исследованиях the Women's Health Initiative, the US Nurses' Health Study [44, 213].

Рискометры внезапной сердечной смерти

В исследовании в Корее была произведена оценка зависимости риска внезапной сердечной смерти от статуса сердечно-сосудистого здоровья. Статус сердечно-сосудистого здоровья оценивался на основе 6 параметров по Американской ассоциации здоровья (курение, индекс массы тела, физическая активность, артериальное давление, уровень общего холестерина, уровень глюкозы натощак). В исследование включено 105200 человек, которые прошли две проверки здоровья с интервалом в 2 года, в период наблюдения в среднем 5,2 года после второй проверки здоровья было зафиксировано 688 случаев внезапной сердечной смерти. Значительные улучшения статуса сердечно-сосудистого здоровья за 2 года между проверками здоровья значимо снижали риск внезапной сердечной смерти во взрослой популяции [87].

На базе исследования ARIC (The Atherosclerosis Risk in Communities) была предпринята достаточно успешная попытка создания рискометра внезапной сердечной смерти с учетом ряда факторов риска. В исследование ARIC включено 3780 афроамериканцев и 11335 не афроамериканцев в возрасте 45-64 года. За

период наблюдения 10 лет было зафиксировано 145 случаев внезапной сердечной смерти. Модель вычисления 10-летнего риска внезапной сердечной смерти представляет собой сложную математическую формулу, в которую включены такие параметры, как пол, возраст, уровень общего холестерина, использование антигипертензивных и гиполипидемических препаратов, артериальное давление, курение, диабет, индекс массы тела. Полученный рискометр прошел успешную валидацию на когорте (5626 человек) Фрамингемского исследования (Framingham Heart Study) [25]. В предыдущем рискометре внезапной сердечной смерти для лиц старше 65 лет, созданном также на базе проекта ARIC, были использованы 12 факторов риска (мужской пол, возраст, использование антигипертензивных препаратов, артериальное давление, курение, диабет, раса (негроидная), уровень калия плазмы, уровень альбумина в плазме крови, ХС-ЛПВП, скорость клубочковой фильтрации, длина QT интервала) [109]. Целью обоих исследований было создание инструмента определения риска внезапной сердечной смерти в первую очередь у лиц без известной сердечно-сосудистой патологии, поскольку около половины всех случаев внезапной сердечной смерти происходят у лиц, не имеющих кардиальных жалоб и диагноза.

1.1.5 Молекулярная аутопсия

Посмертная судебно-медицинская экспертиза выявляет ранее существующую структурную аномалию сердца (положительная аутопсия) примерно в двух третях случаев внезапных смертей, для оставшейся одной трети случаев причина внезапной смерти остается не объясненной после проведения стандартного судебно-медицинского исследования (отрицательная аутопсия или необъясненная внезапная сердечная смерть (unexplained sudden cardiac death)). В этом случае отрицательная аутопсия оставляет родственников умершего без объяснения причины смерти и с потенциальным риском для них самих умереть внезапно без клинических симптомов какого-либо ССЗ [220]. Чаще всего причиной необъясненной внезапной сердечной смерти является нарушение ритма сердца, в том числе LQTS, синдром Бругада, катехоламинергическая

полиморфная желудочковая тахикардия, вызванные дисфункцией белков сердечных ионных каналов, регулирующих систему сердечной проводимости [68].

В 2008 году Европейской ассоциацией сердечно-сосудистой патологии (the Association for European Cardiovascular Pathology, AECVP) были разработаны рекомендации по проведению аутопсии у лиц умерших внезапно вследствие сердечно-сосудистой патологии, в 2017 году они были обновлены [58, 66]. Рекомендации включают в себя и генетическое тестирование при необходимости (каскадный генетический скрининг на основе данных аутопсии и/или клинический скрининг родственников первой линии родства). Генетическое исследование было рекомендовано всем лицам умершим внезапной сердечной смертью. с подозрением на канало - или кардиомиопатию в рекомендациях Европейского общества кардиологов (the European Society of Cardiology (ESC)) (2015 год), но в большинстве европейских стран, несмотря на рекомендации ESC, посмертное генетическое тестирование проводится только в случае генетического консультирования семьи [58]. В исследовании, проведенном AECVP и опубликованном в 2020 году, была собрана информация о проведении аутопсии в случае внезапной сердечной смерти в 17 странах (31 респондент), в том числе России. Результаты показали значительную вариабельность подходов к проведению судебно-медицинского исследования в случаях внезапной сердечной смерти в разных странах, а также не тщательность проведения исследования. Более чем в 40 % случаев аутопсия не проводится у лиц младше 50 лет, которые могли быть жертвами внезапной сердечной смерти, что связано с дефицитом финансов, отсутствием интереса со стороны полиции, врачей. Только 50 % докторов следуют протоколу вскрытия AECVP в случае внезапной сердечной смерти, остальные 50 % не следуют протоколу в связи с отсутствием времени, знаний, финансирования. ДНК для последующего молекулярно-генетического исследования забирается в 68 % случаев [66].

Существует руководство, разработанное the Trans-Tasman Response Against Sudden Death in the Young (TRAGADY), касающееся проведения посмертного

исследования в случае внезапной сердечной смерти у молодых. Руководство разработано врачами и юристами Новой Зеландии и Австралии [68].

Американские рекомендации экспертов по профилактике внезапной сердечной смерти рекомендуют молекулярное исследование 4 генов при наличии косвенных доказательств, указывающих на клинический диагноз LQTS или катехоламинергической полиморфной желудочковой тахикардии (CPVT). Молекулярная аутопсия с четырьмя генами включает анализ трех основных генов, вызывающих LQTS (*KCNQ1, KCNH2* (potassium voltage-gated channel subfamily H member 2, 7q36.1), *SCN5A* (sodium voltage-gated channel alpha subunit 5, 3p22.2)) и основной ген, вызывающий CPVT (*RYR2*, ryanodine receptor 2, 1q43). Ранние исследования, оценивающие роль молекулярной аутопсии, были ограничены в объеме использованием секвенирования ДНК по Сэнгеру. Новые технологии секвенирования позволяют анализировать несколько генов параллельно, включая секвенирование всего генома, экзома, клинического экзома. Важным, но сложным этапом современной молекулярной аутопсии является определение того, является ли найденный вариант основной причиной смерти [68].

При этом важность молекулярной аутопсии и каскадного семейного скрининга была показана при внезапной сердечной смерти неоднократно. Так в Дании обследовано 149 родственников 84 лиц, умерших вероятно внезапной сердечной смертью, которым не была проведена молекулярная аутопсия. В 11 семьях (13 %) по результатам исследования было найдено рисковое по внезапной сердечной смерти наследственное ССЗ, в 8 семьях (10 %) найдено пограничное заболевание, которое также могло стать причиной внезапной сердечной смерти. В трети случаев обследуемым с диагностированным наследственным ССЗ назначена фармацевтическая или аппаратная поддержка, что способствовало предотвращению новых случаев внезапной сердечной смерти в обследуемых семьях в период последующего наблюдения (4,7 ± 3,6 года) [112].

В России экспертное исследование трупов проводится в соответствии с приказом Минздрава РФ от 24.01.2003 № 161 «Об утверждении инструкции по организации и производству экспертных исследований в Бюро судебно-

медицинской экспертизы». Оно включает в себя помимо макроскопического исследования органов и тканей, в том числе и судебно-химическое исследование мочи, крови на этиловый алкоголь, в большинстве случаев проводится гистологическое исследование. Рекомендовано взятие образцов для молекулярного исследования. В случае внезапной сердечной смерти при подозрении на генетически-детерминированное нарушение ритма сердца проведение посмертной молекулярной диагностики является обязательным [4].

1.1.6 Заключение

Современные тенденции в медицине связаны с широким внедрением персонализированных, превентивных стратегий, нацеленных на коррекцию факторов риска патологии, выявление предрасположенности к ее развитию и проведение профилактики до развития клинических симптомов, что, несомненно, способствует снижению заболеваемости и смертности населения от конкретного заболевания [69].

В мировых исследованиях показана целесообразность применения для стратификации риска внезапной сердечной смерти разнообразных критериев, таких как наличие ИБС, генетических заболеваний, способных вызвать внезапную сердечную смерть, фракция выброса левого желудочка меньше 30-35 %, критерии ЭКГ, вариабельность сердечного ритма, хронические заболевания почек, особенности диеты, биохимические маркеры (интерлейкин-6, фибриноген, С-реактивный белок, альдостерон, ренин, витамин Д, паратгормон, мозговой натрийуретический пептид) [266]. Также для определения риска внезапной сердечной смерти возможно применение классических доказанных факторов риска внезапной сердечной смерти (эпизод сердечного ареста в анамнезе и/или гемодинамически значимая устойчивая желудочковая тахикардия, перенесенный инфаркт миокарда в анамнезе, эпизоды синкопе, желудочковые эстрасистолы и/или эпизоды неустойчивой желудочковой тахикардии, гипертрофия миокарда левого желудочка, артериальная гипертензия, гиперлипидемия, СД, курение, избыточный вес, увеличение частоты сердечных сокращений,

гиперсимпатикотония, возраст старше 35 лет, мужской пол, злоупотребление алкоголем, депрессия, негроидная раса) [10, 24, 89, 266, 118].

В России разработаны Национальные Рекомендации по определению риска и профилактике внезапной сердечной смерти, в которых большую часть составляют именно рекомендации по коррекции факторов риска нозологии и профилактике развития внезапной сердечной смерти, однако все они касаются лиц с уже известной сердечно-сосудистой патологией [10]. Несмотря на то, что риск развития внезапной сердечной смерти наивысший у лиц перенесших остановку сердца, инфаркт миокарда, или имеющих сердечную недостаточность в анамнезе, до 80 % внезапной сердечной смерти развиваются у пациентов с асимптомным течением какого-либо ССЗ [194]. Поэтому активно изучаются молекулярно-генетические маркеры внезапной сердечной смерти, которые при результативном поиске могут быть использованы при разработке стратегии диагностики предрасположенности и проведения профилактики внезапной сердечной смерти у лиц, как с известной, так и неизвестной сердечно-сосудистой патологией.

1.2 Исследования молекулярно-генетических маркеров внезапной сердечной смерти

Для поиска молекулярно-генетических маркеров внезапной сердечной смерти используются различные подходы. Наиболее распространенным остается проведение исследований дизайна «случай-контроль», в которых ассоциация с внезапной сердечной смертью проверяется для однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) и мутаций генов, которые выявлены в предыдущих исследованиях как связанные с ССЗ, лежащими в основе внезапной сердечной смерти или ее факторами риска. Также в таких исследованиях проверяют причастность к внезапной сердечной смерти молекулярно-генетических маркеров, которые уже показали свою связь с внезапной сердечной смертью в зарубежных исследованиях. Проведение таких исследований продиктовано тем, что для

каждой половой, возрастной, этнической группы существуют свои генетические особенности.

В связи с развитием молекулярной генетики и биоинформатики становятся всё более распространенными исследования молекулярно-генетической основы заболеваний с помощью метода секвенирования следующего поколения (NGS – next-generation sequencing), также популярными остаются и полногеномные ассоциативные исследования (GWAS – Genome-Wide Association Study) [97, 233, 255]. Эти современные высокотехнологичные молекулярно-генетические методы позволяют обнаружить ассоциированные с заболеванием ОНП и мутации генов, которые ранее были неизвестны, либо их связь с данной нозологией не была очевидна. Современные высокотехнологичные способы молекулярно-генетического анализа предоставляют новые возможности для более глубокого изучения генетической основы внезапной сердечной смерти. Современные методы секвенирования отличаются от традиционного секвенирования по Сэнгеру меньшей стоимостью, большей скоростью выполнения процедуры и доступностью для использования в рутинной медицинской практике в зарубежных странах [50]. Секвенирование следующего поколения включает в себя секвенирование всего генома (WGS), секвенирование всего экзома (WES) и секвенирование генов, собранных в мультигенные панели. Полногеномное секвенирование (WGS) позволяет выявить все изменения нуклеотидной последовательности кодирующих и некодирующих регионов ДНК. Полноэкзомное секвенирование (WES) позволяет идентифицировать изменения во всех кодирующих регионах ДНК. Если же необходимо проверить определенный геномный регион или ген, то целевое секвенирование следующего поколения является наиболее оптимальным [50]. Всё еще остаются актуальными ассоциативные геномные исследования (GWAS), которые позволяют оценить вклад огромного количества ОНП в развитие патологии. Но исследований молекулярно-генетической основы внезапной сердечной смерти помощью методов NGS или GWAS существует относительно немного.

1.2.1 Исследования «случай-контроль» с применением рутинных молекулярно-генетических методов

Исследования молекулярно-генетических маркеров внезапной сердечной смерти в исследованиях дизайна «случай-контроль» методами полимеразной цепной реакции (ПЦР) и ее разновидностями (аллель-специфичная ПЦР, ПЦР в режиме реального времени и др.) ведутся достаточно давно. За это время на предмет ассоциации с внезапной сердечной смертью изучено огромное количество полиморфизмов и мутаций генов. В последние годы интерес к исследованиям такого рода значительно уменьшился, однако в силу надежности, высокой информативности, невысокой стоимости эксперименты с использованием рутинных методов молекулярно-генетического исследования продолжаются.

В крупной серии проспективных исследований «случай-контроль» с учетом данных литературы показано, что однонуклеотидный полиморфизм Gln27Glu (rs1042714) гена *ADRB2* (adrenoceptor beta 2, 5q32) ассоциирован с внезапной сердечной смертью (ОШ = 1,35, 95 % ДИ 1,15–1,60, p = 0,0003) [31]. Позднее была показана связь полиморфизма с сердечно-сосудистой смертностью, сердечно-сосудистыми событиями [155, 25].

Так, в Новой Зеландии в исследовании «случай-контроль» показано, что гомозиготные носители редкого аллеля rs12143842 гена *NOS1AP* (nitric oxide synthase 1 adaptor protein, 1q23.3) имеют повышенный риск развития внезапной сердечной смерти. В исследование были включены 273 пациента с LQTS-1, -2, -3, 31 из которых умерли внезапной сердечной смертью или были успешно реанимированы после остановки сердца. 29 ОНП были протестированы в данной клинической группе в отношении ассоциации с кардиоваскулярными событиями и только полиморфизм rs12143842 гена *NOS1AP* оказался ассоциированным с внезапной сердечной смертью. Известно, что полиморфизм rs12143842 гена *NOS1AP* связан с удлинением интервала QT, что является одним из факторов риска внезапной сердечной смерти [311]. Еще два полиморфизма гена *NOS1AP*

rs3751284 и rs348624 выявлены как ассоциированные с внезапной необъясненной смертью. В группу внезапной смерти были включены лица, умершие внезапно вне лечебных учреждений во время обычной дневной деятельности (исключались случаи смерти во сне). Судебно-медицинское обследование не выявило причины летального исхода, а при жизни лица, включенные в группу, не имели фатальных заболеваний [157]. Ранее полиморфизм rs3751284 гена *NOS1AP* также был выявлен как маркер внезапной сердечной смерти в исследовании в Китае [102]. В другом крупном проспективном исследовании в Китае выявлена ассоциация еще одного полиморфизма того же гена *NOS1AP* с внезапной сердечной смертью (rs12567209). В исследование включено 1428 человек с хронической сердечной недостаточностью и 480 человек в качестве контрольной группы. Все участники исследования были прогенотипированы по 6 ОНП гена *NOS1AP*. Через 52 месяца 462 человека умерли, в 169 случаях внезапной сердечной смерти. А аллель полиморфизма rs12567209 гена *NOS1AP* показал связь с повышенным риском внезапной сердечной смерти. Кроме того, этот же аллель полиморфизма оказался ассоциированным с удлинением интервала QT на 4,04 мс в общей популяции [29]. В мета-анализе, посвященном полиморфизму rs10494366 гена *NOS1AP* показано, что генотип GG полиморфизма коррелирует с длиной интервала QT у женщин. Для европеоидов корреляция rs10494366 с внезапной сердечной смертью также была значимой [329].

С использованием выборки (340 человек) лиц, умерших внезапной неожиданной смертью (Sudden Unexpected Death), из крупного исследования Oregon-SUDS (The Oregon Sudden Unexpected Death Study) и контрольной группы (342 человека) проведено молекулярно-генетическое исследование, целью которого было изучить ассоциации ОНП генов-кандидатов эпилепсии и шизофрении с внезапной сердечной смертью. В исследование включено 17 молекулярно-генетических маркеров шизофрении и эпилепсии. Выявлено, что минорный аллель rs10503929 гена *NRG1* (neuregulin 1, 8p12) ассоциирован с внезапной сердечной смертью. Для подтверждения полученной ассоциации дополнительно проведено генотипирование полиморфизма в группе 1853 человек

из исследования Harvard Cohort SCD Study. Полученные результаты также подтвердили выявленную ассоциацию rs10503929 гена *NRG1* с внезапной сердечной смертью [104].

Исследование Oregon-SUDS – популяционное исследование, проводимое на базе Портленда (штат Орегон, США). Случаи внезапной сердечной смерти, включенные в исследование, были отобраны в системе скорой медицинской помощи, сети медицинских экспертов, 16 местных больницах. Внезапная сердечная смерть была определена как неожиданная асистолия, вероятно, сердечного происхождения. В случае смерти без свидетелей внезапной сердечной смертью считали смерть, произошедшую в течение 24 часов с момента, когда умершего видели живым без признаков ухудшения самочувствия. Во всех случаях внезапной сердечной смерти, включенных в исследование, ИБС должна была быть документально подтверждена. ИБС определялась: как стеноз крупной коронарной артерии на 50 %, данные о перенесенном инфаркте миокарда, чрескожном коронарном вмешательстве или аортокоронарном шунтировании; или выявленная при вскрытии ИБС; или инфаркт миокарда по клиническим данным с любыми двумя из следующих трех критериев: ишемические симптомы, положительные тропонины или креатинкиназа, патологические зубцы Q на ЭКГ. Случаи внезапной сердечной смерти на фоне хронических неизлечимых заболеваний, из-за известных внесердечных причин, смертельные травмы и передозировка наркотиками были исключены из анализа [104, 369].

На базе того же проекта Oregon-SUDS в другом исследовании «случай-контроль» выявлен еще один ОНП, ассоциированный с внезапной сердечной смертью. В первой части исследования были изучены полиморфизмы трех генов *GNB3*, *GNAQ*, *GNAS* в отношении ассоциации с желудочковой тахиаритмией. Во второй части ОНП, показавшие связь с аритмией были проверены в отношении ассоциации с внезапной сердечной смертью в группе 1335 участников проекта Oregon-SUDS. Полиморфизм rs7121 гена *GNAS* (GNAS complex locus, 20q13.32) показал свою ассоциацию с внезапной сердечной смертью [253].

В Китае выявлена ассоциация rs13184658, rs338625, rs10076582 гена *KCNN2* (potassium calcium-activated channel subfamily N member 2, 5q22.3) с внезапной сердечной смертью. В исследование включены 327 жителей Китая, 72 человека с клинически значимой желудочковой тахиаритмией и историей успешно реанимированной внезапной сердечной смерти в анамнезе или необъяснимых обмороков, 98 человек с историей ФП и 144 условно здоровых человека в контрольной группе. Генотипирование проведено по 12 «горячим» ОНП гена *KCNN2*. Показана связь А аллеля rs13184658 и С аллеля rs10076582 гена с внезапной сердечной смертью. Оба полиморфизма и полиморфизм rs338625 показали связь с внезапной сердечной смертью при использовании доминантной модели [199]. Ген *KCNN2* кодирует калиевый кальций-активируемый ионный канал. Показано, что изменение экспрессии гена имеет отношение к развитию ФП [153].

Также в Китае в исследовании, целью которого было изучить ассоциации полиморфизмов генов, имеющих отношение к кальциевым каналам, с внезапной сердечной смертью и не внезапной сердечной смертью, показано, что носители CC генотипа rs3814843 гена *CALM1* (calmodulin 1, 14q32.11) и носители G аллеля rs361508 гена *TRDN* (triadin, 6q22.31) имеют более высокий риск внезапной сердечной смерти [94]. Изменения в гене *TRDN* ассоциированы с развитием катехоламинергической полиморфной желудочковой тахикардии, в гене *CALM1* – LQTS 14 типа, катехоламинергической полиморфной желудочковой тахикардии [47].

В небольшом исследовании «случай-контроль» в Китае найдена ассоциация полиморфизма rs10692285 гена *RYR2* с риском внезапной смерти, произошедшей по неизвестной причине (sudden unexplained death) [47].

Полиморфизм rs11720524 гена *SCN5A* показал ассоциацию с внезапной сердечной смертью в исследовании «случай-контроль» в Венгрии. Носители CC генотипа данного полиморфизма достоверно чаще встречаются в группе внезапной сердечной смерти по сравнению с контрольной группой. При анализе подгрупп в данном исследовании выявлено, что ассоциация полиморфизма с

внезапной сердечной смертью более выражена в группе больных ишемической болезнью сердца [30]. В мета-анализе 22 исследований полиморфизмов генов ионных каналов и внезапной сердечной смерти показано, что rs11720524 гена *SCN5A* является защитным в отношении внезапной сердечной смерти в группе европеоидов, но не корейцев. rs12296050, rs2283222 гена *KCNQ1*, rs790896 гена *RYR2* также являются защитным в отношении внезапной сердечной смерти [205].

ОНП rs7521023 гена *CASQ2* (calsequestrin 2, 1p13.1) ассоциирован с внезапной остановкой сердца на фоне ишемической болезни сердца вследствие желудочковых аритмий в исследовании «случай-контроль». Кальций-связывающий белок (кальсеквестрин), кодируемый этим геном, локализуется в саркоплазматическом ретикулуме в кардиомиоцитах и клетках медленных скелетных мышц. Мутации в гене вызывают индуцированную стрессом полиморфную желудочковую тахикардию, также называемую катехоламинергической полиморфной желудочковой тахикардией [61].

Полиморфизм rs397729601 гена *DSG2* (desmoglein 2, 18q12.1) найден ассоциированным с риском внезапной сердечной смерти (делеционный вариант полиморфизма повышает риск внезапной сердечной смерти). Изменения в гене ассоциированы с ARVC, ДКМП [28]. В исследовании случай-контроль в Китае (79 случаев внезапной сердечной смерти и 328 человек в контрольной группе) найдена ассоциация с внезапной сердечной смертью инсерционно-делеционного полиморфизма rs3917 гена *COL1A2* (collagen type I alpha 2 chain, 7q21.3). Полиморфизм представляет собой делецию-инсерцию 7 пар нуклеотидов в 3'UTR участке гена. Делеция связана со сниженной экспрессией гена в ткани миокарда [53].

В исследовании в Китае проведено секвенирование гена *GJA1* (gap junction protein alpha 1, 6q22.31), который является геном-кандидатом для нарушений ритма сердца, в группе 124 лиц умерших внезапной необъясненной смертью и 125 человек из контрольной группы. Найден гомозиготный вариант c.169C>T и гетерозиготный вариант c.624C>T (rs530633057) в группе внезапной смерти, но не в контрольной группе. Мутация c.169C>T связана с прекращением трансляции

белка после 57 кодона, что предполагается ведет к снижению экспрессии гена и может вызвать внезапную аритмическую смерть [170]. Также в Китае проведено секвенирование генов *CAV1* (caveolin 1, 7q31.2), *CAV3* (caveolin 3, 3p25.3) в группе внезапной необъясненной смерти (71 случай), ИБС (62 случая), контроля (60 случаев). Найдены варианты c.45C>T (T15T), 512G>A (R171H), c.246C>T (rs35242077) гена *CAV1*, c.99C>T (rs1008642) гена *CAV3*, частоты которых достоверно отличаются в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе, тогда как в группе ИБС исследуемые варианты найдены не были [100].

В Китае показано, что инсерционно-делеционный полиморфизм rs3036297 в 3'UTR-регионе гена *HSPA1B* (heat shock protein family A (Hsp70) member 1B, 6p21.33) ассоциирован с риском внезапной сердечной смерти. Исследование включало 157 лиц умерших внезапной сердечной смертью и 658 лиц в контрольной группе. Показано, что полиморфизм может быть связан с экспрессией гена, инсерционный вариант полиморфизма гена связан с более низким риском внезапной сердечной смерти по сравнению с делеционным вариантом полиморфизма [151]. Те же исследователи показали, что и инсерционно-делеционный полиморфизм rs397763766 в 3'UTR-регионе гена *COX10* (cytochrome c oxidase assembly factor heme A:farnesyltransferase COX10, 17p12) ассоциирован с риском внезапной сердечной смерти: делеционный вариант полиморфизма гена связан с риском внезапной сердечной смерти по сравнению с инсерционным вариантом полиморфизма [38].

В Российском исследовании был проведен анализ некоторых полиморфизмов генов у лиц с высоким риском развития внезапной сердечной смерти. Исследование построено по принципу «случай-контроль». В исследование были включены 167 человек высокого риска в возрасте 19,7 ± 2,1 года, это лица с эпизодами синкопе, необъяснимыми симптомами на фоне физической нагрузки (сердцебиение, одышка, боль в грудной клетке), семейным анамнезом внезапной сердечной смерти в возрасте до 50 лет или ассоциированных с внезапной сердечной смертью заболеваний (кардиомиопатии,

нарушения ритма). Контрольная группа (100 человек) составлена из лиц в возрасте 19–35 лет без сердечно-сосудистой патологии. По результатам исследования в группе риска внезапной сердечной смерти найдено больше носителей гетерозиготных и редких гомозиготных вариантов генов *SERPINE1* (serpin family E member 1, 7q22.1) (675 5G>4G), *ITGA2* (integrin subunit alpha 2, 5q11.2) (807C>T), *NOS3* (nitric oxide synthase 3, 7q36.1) (786T>C), *PON1* (paraoxonase 1, 7q21.3) (Gln192Arg) и *LEPR* (Arg223Gln) [6]. Варианты в гене *NOS3* ассоциированы с чувствительностью к коронарному спазму. Показано, что полный нокаут гена *NOS* у мышей вызывает тяжелую дислипидемию, атеросклероз и внезапную сердечную смерть в ответ на диету с высоким содержанием жиров за счет подавления рецептора ХС-ЛПНП в печени, что демонстрирует критическое значение роли всей эндогенной системы NOS в поддержании гомеостаза липидов [309].

Таким образом, исследования внезапной сердечной смерти «случай-контроль» продолжаются повсеместно. Но в исследованиях такого рода удается выявить связь с внезапной сердечной смертью отдельных молекулярно-генетических маркеров на небольших выборках определенной этнической, половой, возрастной принадлежности, что не предоставляет пока возможности использования выявленных маркеров в клинической практике, и требует проведения дополнительных подтверждающих исследований на других популяционных группах.

Целью исследования Tamariz L, 2019 была оценка доказательства пользы использования ОНП в качестве предикторов внезапной сердечной смерти. Исследователи провели поиск в базе данных Medline (с 2000 по 2017 год) и выбрали все исследования случай-контроль или когортные исследования, в которых сообщалось о связи между ОНП и внезапной сердечной смерти. Из 723 исследований 24 включены в дальнейший анализ на основании критериев включения. В исследованиях приняли участие 78165 участников, средний возраст которых составлял 62,5 года, и 35 % составляли женщины. Почти все

исследования проводились на белых пациентах европеоидного происхождения, и наиболее часто используемой генетической стратегией было использование панели генов-кандидатов. В исследованиях оценили 53 ОНП, и наиболее распространенными генетическими локусами были гены *SCN5A, RYR2, CASQ2, NOSA1P* и *AGTR1* (angiotensin II receptor type 1, 3q24). Наиболее статистически значимыми стали rs6684209 гена *CASQ2* (ОШ = 19), rs3814843 гена *CALM1* (ОШ = 5,5) и rs35594137 гена *GJA5* (ОШ = 3,6). При этом многие ОНП ассоциированы с внезапной сердечной смертью, причем наиболее сильные ассоциации наблюдаются для ОНП генов, связанных с внутриклеточным обменом кальция [358].

1.2.2 Полногеномные ассоциативные исследования (Genome-Wide Association Study, GWAS)

Геномные ассоциативные исследования в последние годы позволили идентифицировать множество полиморфизмов, связанных с повышенным риском ИБС, атеросклероза и других ССЗ. Существуют ассоциативные исследования, направленные на поиск полиморфизмов, связанных с повышенным риском внезапной сердечной смерти.

В полногеномном ассоциативном исследовании Aouizerat BE et al. исследовано 338328 ОНП, 89 человек с ИБС и внезапной остановкой сердца на фоне желудочковой фибрилляции или тахикардии, 520 здоровых лиц. Найдено 14 ОНП, ассоциированных с внезапной остановкой сердца: rs1559040 гена *ACYP2* (acylphosphatase 2, 2p16.2), rs16866933, rs4621553 гена *ZNF385B* (zinc finger protein 385B, 2q31.2-q31.3), rs12189362 гена *GRIA1* (glutamate ionotropic receptor AMPA type subunit 1, 5q33.2), rs2982694, rs10765792, rs7307780, rs12429889 гена *ESR1* (estrogen receptor 1, 6q25.1-q25.2), rs2281680, rs11624056 гена *AP1G2* (adaptor related protein complex 1 subunit gamma 2, 14q11.2), rs7157599, rs17718586, rs597503 гена *DEGS2* (delta 4-desaturase, sphingolipid 2, 14q32.2), rs16942421 гена *KCTD1* (potassium channel tetramerization domain containing 1, 18q11.2). Ранее описана связь с кардиоваскулярными событиями для одного из 14

полиморфизмов [171]. С использованием мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в Китае проведено исследование ассоциации с внезапной сердечной смертью 21 однонуклеотидного полиморфизма, отобранных по результатам исследования GWAS, проведенного Aouizerat BE et al.. В исследование включены три группы: группа ИБС (70 человек), внезапной сердечной смерти (53 человека), контрольная группа (75 человек). Значимость показали комбинация нескольких полиморфизмов для ИБС, внезапной сердечной смерти, внезапной сердечной смерти на фоне ИБС. Для внезапной сердечной смерти полиморфизмами риска стали rs2389202, rs2982694, rs10183640, rs597503, rs16942421 и rs12155623, для внезапной смерти на фоне ИБС – rs16866933, rs4621553, rs10829156 и rs12155623. Исследование проведено на небольшой группе лиц, поэтому требуются дополнительные тщательные исследования для валидации данного рискометра [273].

В одном из исследований была проверена генетическая шкала риска ИБС на причастность к развитию внезапной сердечной смерти. В исследование было включено 306 случаев внезапной сердечной смерти по причине ИБС. Полученные результаты ассоциативного исследования были воспроизведены в проспективном исследовании 2321 пациентов, из которых 48 умерли внезапной сердечной смертью. По результатам исследования было выявлено, что ряд ОНП генетической шкалы риска ИБС статистически значимо связан с риском развития внезапной сердечной смерти на фоне ИБС (таблица 1). ОНП для шкалы риска были взяты из ассоциативного исследования проведенного CARDIoGRAMplusC4D Consortium [259].

В другом исследовании GWAS с использованием группы из 948 лиц с ишемической болезнью сердца умерших внезапной сердечной смертью (Oregon-SUDS) и группы контроля из 3050 лиц с ишемической болезнью сердца (Wellcome Trust Case-Control Consortium (WTCCC)) показана ассоциация G аллеля rs6730157 гена *RAB3GAP1* (RAB3 GTPase activating protein catalytic subunit 1) и C аллеля

rs2077316 гена *ZNF365* (zinc finger protein 365, 10q21.2) с внезапной сердечной смертью [235].

Полногеномный ассоциативный мета-анализ (1283 случая внезапной сердечной смерти и более 20000 человек в качестве контроля, 5 исследовательских проектов) последующим генотипированием (3119 случаев внезапной сердечной смерти, 11146 человек в группе контроля) позволил выявить локус *BAZ2B* (bromodomain adjacent to zinc finger domain 2B, 2q24.2), ассоциированный с внезапной сердечной смертью [182].

Таблица 1 – Ассоциированные с развитием внезапной сердечной смерти однонуклеотидные полиморфизмы генетической шкалы риска ИБС

ОНП	Ближайший локус	Аллель риска	Частота	ОШ (95 % ДИ)	p
rs16986953	*AK097927*	A	0,066	1,91 (1,30–2,80)	0,0009
rs1333049	*CDKN2BAS*	C	0,438	1,42 (1,15–1,76)	0,0010
rs11619057	*COL4A2*	T	0,158	1,53 (1,15–2,02)	0,0032
rs1429141	*EDNRA*	T	0,810	1,45 (1,09–1,92)	0,0095
rs2070783	*PECAM1*	G	0,542	1,37 (1,10–1,68)	0,0051
rs10947789	*KCNK5*	T	0,719	1,36 (1,07–1,72)	0,0114
rs974819	*PDGFD*	T	0,214	1,37 (1,07–1,77)	0,0144
rs1247351	*PLG/MAP3K4*	C	0,273	1,32 (1,05–1,67)	0,0172
rs17062853	*BC041459*	T	0,772	0,75 (0,58–0,96)	0,0211
rs12801636	*PCNXL3*	G	0,813	1,37 (1,04–1,81)	0,0261
rs4149033	*SLCO1B1*	G	0,688	1,30 (1,03–1,64)	0,0272
rs9472428	*PHACTR1/RPEL*	A	0,422	1,27 (1,03–1,57)	0,0278
rs11206510	*PCSK9*	T	0,840	0,73 (0,55–0,97)	0,0279

1.2.3 Исследования с помощью методов секвенирования следующего поколения (Next-Generation Sequencing, NGS)

Исследования с помощью методов секвенирования следующего поколения становятся всё более популярными, в том числе появляется множество исследований внезапной сердечной смерти методами NGS. Так, например, целью одного из недавних исследований было определить частоты встречаемости молекулярно-генетических маркеров внезапной сердечной смерти в группе лиц умерших внезапной смертью по неизвестной причине, и сравнить полученные частоты с частотой встречаемости этих маркеров в группе лиц с наследственными каналопатиями. В исследование было включено 15 случаев внезапной смерти по неизвестной причине. Было изучено 34 гена, наиболее вероятно ассоциированных с развитием внезапной сердечной смерти с использованием метода NGS на платформе Illumina. В результате в трех из 15 случаев внезапной смерти были обнаружены молекулярно-генетические маркеры внезапной сердечной смерти (20 %). У мужчины умершего во сне были выявлен полиморфизм 640A>G гена *RYR2*. В случае двух летальных исходов без свидетелей смерти выявлены полиморфизмы 770C>G гена *SNTA1* и 12430C>A гена *RYR2* [233]. Таким образом, в данном исследовании удалось выявить причинные изменения в структуре ДНК, которые связаны с развитием наследственных каналопатий, и определить причину смерти у лиц умерших внезапно по неизвестной причине.

В ходе исследования причины внезапной смерти на первом году жизни методом NGS, в которое было включено 104 гена ассоциированных с развитием внезапной сердечной смерти, было выявлено семь молекулярно-генетических маркеров, связанных с развитием нозологии. Шесть из семи полиморфизмов были описанными ранее и один вновь выявленный (p.S341R гена *EN1,* engrailed homeobox 1, 2q14.2). Два полиморфизма относятся к патогенным – с ранее описанной значимой ассоциацией с сердечно-сосудистыми заболеваниями (p.R83H гена *KCNE3,* potassium voltage-gated channel subfamily E regulatory subunit 3, 11q13.4; p.S140F гена *PKP2,* plakophilin 2, 12p11.21), три к условно патогенным (p.H636R гена *VCL*, vinculin, 10q22.2; p.S11996T гена *TTN*, titin, 2q31.2; p.T21743A

гена *TTN*), и один к нейтральным (p.I1643L гена *AKAP9*, A-kinase anchoring protein 9, 7q21.2). Кроме того, было проведено и молекулярно-генетическое исследование для ближайших кровных родственников умерших детей, что позволило выявить тех из них, кто находится в группе риска по развитию сердечно-сосудистой патологии и внезапной сердечной смерти [254].

Еще одна попытка выявить причинные мутации внезапной сердечной смерти методом NGS была проведена в клинике Майо, США. В исследование были включены 14 случаев внезапной смерти по неизвестной причине и 117 генов, ассоциированных с внезапной сердечной смертью. Для каждого случая было выявлено 12758 ± 2016 несинонимичных замен. Восемь ультраредких вариантов (D4301N гена *TTN*, I22160T гена *TTN*, 9928_9929insE гена *TTN*, T171M гена *CACNA1C* (calcium voltage-gated channel subunit alpha1 C, 12p13.33), A1744S гена *MYH7* (myosin heavy chain 7, 14q11.2), A189T гена *JPH2* (junctophilin 2, 20q13.12), S434Y гена *VCL*, H4552R гена *RYR2*) отсутствуют в доступных экзомных базах данных. Две мутации выявлены как условно патогенные (T171M-*CACNA1C*, I22160T-*TTN*) [255].

С помощью технологий NGS на секвенаторе Ion Torrent Personal Genome Machine (Ion PGM) были исследованы 23 гена, связанные с наследственными каналопатиями с целью определить возможную причину смерти в когорте лиц, умерших внезапно. В исследование было включено 16 человек в возрасте до 35 лет. Во всех случаях причина смерти не была определена после проведения адекватного судебно-медицинского исследования. После объединения молекулярно-генетических и клинических данных было идентифицировано четыре вероятно патогенных варианта (включая два неописанных ранее варианта) в трех случаях (18,75 %) исследованной когорты в генах *KCNH2*, *ANK2* (ankyrin 2, 4q25–q26), *SCN5A* и *RYR2*. В одном случае, когда смерть произошла во время психиатрической госпитализации после введения препарата, удлиняющего интервал QT, было выявлено два «вероятно патогенных» варианта в генах связанных с LQTS (*ANK2* и *SCN5A*) [334].

При внезапной, неожиданной, нетравматической смерти у молодых, структурные аномалии сердца часто выявляются при вскрытии. Однако результаты могут быть неспецифичным, а причина смерти может оставаться неясной. Значительная доля этих случаев, вероятно, вызвана наследственными сердечными заболеваниями. При скринировании по 100 генам, связанным с каналопатиями и кардиомиопатиями, 72 молодых людей (в возрасте до 50 лет) с вероятным посмертным диагнозом внезапной сердечной смерти и имеющих недифференцированные в определенную нозологию аномалии сердца с использованием метода NGS (Illumina MiSeq) у 15 человек были выявлены вероятно патогенные молекулярно-генетические варианты, у 2 человек из которых таких вариантов было больше чем 1. Проведенное исследование еще раз показало важность проведения молекулярной аутопсии с целью верификации причины внезапной смерти, что особенно важно для проведения медико-генетического консультирования родственников умершего [233].

В недавнем проспективном исследовании также молодых лиц (123 человека в возрасте до 50 лет) умерших внезапной сердечной смертью молекулярно-генетическое исследование с помощью метода NGS было проведено в 62 случаях, генетические варианты были найдены в 42 случаях (67,7 %), в 30,6 % случаев варианты были расценены как патогенные или вероятно патогенные. В 70 % необъясненной внезапной сердечной смерти были найдены генетические причины. Последующий семейный скрининг выявил 21 носителя или пораженного члена семьи, 5 из которых были в зоне риска, которая предполагает установку кардиовертерного дефибриллятора. Проведенное исследование еще раз доказывает нужность и важность проведения молекулярной аутопсии, в том числе у лиц младшего и среднего возраста, а также проведение семейного скрининга с использованием полученных результатов [320].

Целью другого исследования стала оценка ценности использования NGS в посмертной диагностике внезапной необъясненной смерти. В исследование были включены 25 случаев внезапной смерти, произошедшей по неизвестной причине (21 мужчина, 4 женщины, в возрасте от 19 до 50 лет). Методом NGS было изучено

70 генов, в результате в 14 случаях были обнаружены 5 известных и 15 потенциально патогенных вариантов. В целом, 6 вариантов, связанных с каналопатиями, идентифицированы в 5 случаях, в 11 случаях обнаружены варианты, ассоциированные с кардиомиопатиями или кардиальными транскрипционными факторами. Исследование показало, что комбинация генного анализа с использованием NGS и некоторых прогностических методов для выявления вариантов и тщательной патологической оценки может обеспечить надежную диагностику наследственной болезни сердца для потенциальных случаев внезапной сердечной смерти [173].

В Швейцарии провели посмертное полноэкзомное исследование 34 жертв внезапной смерти. В 29,4 % случаев была найдена вероятно вызвавшая летальный исход мутация. У 17,6 % (6 человек) мутация локализована в генах каналопатий (*AKAP9, KCNE5, RYR2, SEMA3A*). 4 из 6 были моложе 18 лет [136]. В США проведено исследование 25 лиц (от года до 40 лет), умерших внезапной смертью, аутопсия которых была негативной. У 16 из 25 найдены 27 ультраредких несинонимичных вариантов в генах-кандидатах внезапной сердечной смерти. 10 из них патогенные или условно патогенные. У 4 из 25 человек мутации объяснили найденные особенности на аутопсии и клиническую картину до развития летального исхода [187]. Посмертное повторное исследование 13 лиц умерших внезапной аритмической смертью и внезапной необъясненной смертью позволило идентифицировать 23 варианта, вероятно вызвавших внезапный летальный исход [366]. В случае повторного расширенного молекулярно-генетического исследования с использованием панели из 100 генов 70 молодых лиц умерших внезапной сердечной смертью в 11 случаях (16 %) были идентифицированы патогенные или условно патогенные варианты, которые могли стать причиной внезапной сердечной смерти (мутации в генах *CACNA1C, KCNH2, KCNQ1, RYR2, GAA, MYH7, TTN, SCN5A, PKP2, LMNA, MYBPC3, MYH6*) [333].

В крупном исследовании в США полноэкзомное секвенирование было проведено у 600 взрослых умерших внезапной сердечной смертью и 600 условно здоровых лиц в группе контроля, найдено 5178 вариантов, 14 из них, найденные у

15 человек, классифицированы как патогенные или условно патогенные. Среди участников проспективного исследования (4525 человек) 41 (0,9 %) были носителями патогенного или условно патогенного варианта и имели риск развития внезапной сердечной смерти в течение 14,3 лет в 3,24 раза выше, чем общепопуляционный риск [267]. Проведенное исследование показывает нужность и важность проведения исследований молекулярно-генетических основ внезапной сердечной смерти, что в ряде случаев позволяет определить повышенный риск внезапной сердечной смерти задолго до ее наступления.

На базе исследования FinGesture проведено секвенирование панели из 174 генов при внезапной сердечной смерти у 151 человека с гипертензией или ожирением, связанными с изменениями миокарда (фиброз, гипертрофия), и 48 человек из контрольной группы с гипертензией и гипертрофическим сердцем. В 15 случаях внезапной сердечной смерти найдены вероятно патогенные варианты, в 43 случаях варианты неизвестной значимости, в 2 случаях из контрольной группы найдены возможно патогенные варианты, в 12 - варианты неизвестной значимости [152].

Существуют исследования, проведенные методом NGS посвященные поиску мутаций, вызвавших смертельный исход в отдельных семьях с анамнезом внезапной сердечной смерти и ССЗ.

В большой шведской семье с историей тяжелой формы аритмии похожей на катехоламинергическую полиморфную желудочковую тахикардию, синкопе, внезапной смертью проведен полногеномный анализ. По результатам исследования найдены мутации c.161A>T (p.Asn53Ile) и c.293A>G (p.Asn97Ser) гена *CALM1* [223].

В случае внезапно умершего в своей кровати подростка методом полноэкзомного секвенирования была идентифицирована миссенс-мутация rs3218713 (R249Q) гена *MYH7*. По результатам проведенной аутопсии смерть была признана внезапной, произошедшей по неизвестной причине. При макроскопическом и гистологическом исследовании сердца было выявлено увеличение размеров сердца, но соотношение толщины межжелудочковой

перегородки к толщине стенки левого желудочка находилось в пределах нормы. Гистологически были выявлены гипертрофия кардиомиоцитов, интерстициальный фиброз. Полученные данные не позволяли поставить диагноз ГКМП или любого другого заболевания сердца. После выявления причинной мутации на молекулярно-генетическую диагностику были приглашены ближайшие родственники умершего, у некоторых из которых также удалось выявить данную мутацию. Причина смерти подростка была изменена на R249Q-MYH7-ассоциированную кардиомиопатию [255255].

Целью одного из исследований методом полногеномного секвенирования было изучение механизма генетической антиципации в случае ГКМП, в том числе ассоциированной с внезапной сердечной смертью. 74 члена одной семьи (5 поколений) были включены в исследование. Полногеномное секвенирование проведено для 4 пораженных членов семьи и одного здорового. Найденные мутации проверены на доступных для исследования членах семьи и 216 здоровых лицах, несвязанных с семьей. Средний возраст начала ГКМП и развития внезапной сердечной смерти в семье снижался с каждым поколением. По результатам исследования найдены две мутации A719H гена *MYH7* и L169G гена *MYOZ2*. При этом у более молодого поколения обнаружено накопление мутаций [150].

В случае 48-летнего мужчины с синкопальными состояниями в покое и его родственников была выявлена мутация Y1495X в гене *SCN5A*, которая связана с синтезом укороченного белка SCN5A, что может привести к изменению тока натрия и развитию аритмий. Первое синкопальное состояние у пробанда было зафиксировано в возрасте семи лет. Из анамнеза стало известно, что мать пробанда умерла во сне в возрасте 35 лет, дядя по материнской линии также умер во сне в возрасте 37 лет. Причин развития смертельного исхода выявить не удалось. Идентифицированная мутация Y1495X в гене *SCN5A* может быть возможной причиной синдрома, включающего в себя врожденные пороки сердца (у пробанда – тетрада Фалло), нарушения сердечной проводимости и внезапную сердечную смерть [363]. В семье с историей правожелудочковой кардиомиопатии

и внезапной сердечной смерти найдена мутация p.F531C гена *DSG2* и p.D92E/E93X гена *KCNE5* у пораженных членов семьи [82]. В Тунисской семье с историей внезапной сердечной смерти в молодом возрасте найдено 6 ультраредких патогенных гетерозиготных вариантов в генах *OBSCN, RYR2, DSC2, AKAP9, CACNA1C, RBM20* и один гомозиготный вариант в гене *TECRL* [222].

При проведении аутопсии в случае молодой 28-летней женщины, найденной мертвой в горячей ванне, не было найдено каких-либо экстракардиальных причин внезапного летального исхода, обнаружены только признаки утопления, отек легких. При исследовании сердца не было обнаружено каких-либо очевидных патологических изменений. Токсикологическое исследование выявило незначительную концентрацию этанола в крови (1,1 мг/мл). По результатам NGS-исследования, в которое было включено 73 гена, связанных с каналопатиями и кардиомиопатиями, обнаружено 3 редких потенциально патогенных варианта (p.Gly289Ser гена *SCN5A*, p.Ser502Leu гена *CACNB2*, p.Lys1573Glu гена *MYH11*) [173].

В одной из семей Китая была обнаружена новая мутация гена R189X гена *GPD1L*. В исследование методом полноэкзомного секвенирования были включены 9 членов семьи с синкопе, желудочковой тахикардией и другими сердечно-сосудистыми фенотипами. Пробанд – 20-летний мужчина с желудочковой тахикардией, ДКМП и синкопе. Мать и дядя пробанда также страдали синкопе, мать и дед пробанда умерли во сне по неизвестной причине. В ходе полноэкзомного секвенирования у пробанда было обнаружено 54727 вариантов. После проведения фильтрации было идентифицировано 10 вариантов в 9 генах. Для каждого варианта проверили значимость с использованием прогностических инструментов MutationTaster, PolyPhen-2 и SIFT. Затем методом секвенирования по Сэнгеру все 10 вариантов были просканированы у членов семьи с сердечно-сосудистым фенотипом. И только мутация c.565C>T/p.Arg189* гена *GPD1L* была обнаружена у родственников пробанда. Эта мутация также не была найдена в группе контроля, базах данных dbSNP и Exome Variant Server.

Затем была проведена функциональная оценка выявленной мутации: на культуре клеток с использованием плазмидного вектора мутантного и дикого типа по выявленной мутации методом Вестерн-блот оценена экспрессия гена. Мутация R189X гена *GPD1L* ассоциирована с прекращением экспрессии гена. Таким образом, пробанду и пораженным членам семьи может быть поставлен определенный диагноз синдрома Бругада (нарушение проводимости, синкопе, внезапная сердечная смерть в возрасте до 5 лет) [361].

При проведении молекулярной аутопсии умершей внезапной необъясненной сердечной смертью девушки найдена ранее не описанная мутация гена *RYR2* (c.6497G>A, p.Gly2166Glu). Мутации гена найдены связанными с катехоламинергической желудочковой тахикардией, которая может приводить к синкопе и внезапной сердечной смерти [323]. В случае 34-летнего здорового мужчины умершего также внезапной, предположительно аритмической, смертью найдена другая мутация того же гена *RYR2* (c.13769A>G) в гетерозиготном состоянии. По данным предиктивного программного обеспечения (DANN, GERP, FATHMM, MutationAssessor, MutationTaster, PROVEAN, FATHMMMKL, SIFT) мутация является патогенной. Смерть мужчины произошла во время привычной для него физической активности легкой интенсивности [33]. В семье с историей внезапной необъясненной смерти, синкопе, индуцируемой тредмил-тестом злокачественной желудочковой тахикардии у трех членов семьи найдена мутация c.490C>T (p.P164S) гена *RYR2*, у одного члена семьи найдена мутация c.5576G>A p.R1859H гена *SCN5A* [362].

В Японии в случае семьи с семейной историей ДКМП, внезапной смерти, нарушений ритма (ФП, брадикардия) у трех членов семьи найдена возможно причинная мутация c.475G>T, p.E159* гена *LMNA*. Известно, что другие мутации гена ассоциированы с повышенным риском летальных желудочковых аритмий, приводящих к внезапной сердечной смерти [83].

В случае 17-летней девушки умершей внезапно во сне найдено два гетерозиготных варианта гена *SCN5A* – A572D и H558R. Отец и сестра пробанда

не являются носителями мутаций, мать умерла несердечной смертью. Мутация A572D является редкой и найдена ассоциированной с риском LQTS. Более распространенный вариант H558R известен как модифицирующий фенотип вариант при наличии других вариантов гена *SCN5A* и влияет на длину интервала QT. Исследователи предполагают, что сочетание этих двух вариантов гена *SCN5A* может вызывать LQTS3-подобный синдром [189].

В семье с историей внезапной смерти и ДКМП обнаружена новая мутация c.72777_72783del (p.Phe24259Leufs*51) в гене *TTN*, классифицированная как патогенная [92]. В семье с ДКМП, ФП, внезапной смертью найдена патогенная мутация Trp467* гена *LMNA* [137].

В семье с историей LQTS и внезапной необъясненной смерти найдены мутации G527A (p.W176X) и c.G1765A (p.G589S) гена *KCNQ1*. Мужчина с LQTS оказался компаунд-гетерозиготой по данным мутациям. Некоторые живые члены семьи были носителями одной из этих мутаций в гетерозиготной форме [96].

В случае 37-летнего мужчины, аутопсия которого была негативной 14 лет назад, проведенное полноэкзомное секвенирование (ДНК выделена из ткани миокарда левого желудочка) позволило обнаружить потенциально патогенные варианты (c.12168G>T гена *RYR2*, c.11821C>T (rs397517804) гена *TTN,* c.1255C>T (rs368770848) гена *MYBPC3* и c.848T>C (rs113994167) гена *ACADVL)*. Алгоритм WebGestalt показал, что такая комбинация вариантов связана с развитием неблагоприятной аритмии [357].

Новая мутация N1774H в гене *SCN5A* была идентифицирована в случае 19-летней девушки, умершей внезапной аритмической смертью. По данным электрофизиологического анализа мутация может приводить как к потере функции, так и к ее усилению. Последующий семейный скрининг выявил, что у всех носителей этой миссенс-мутации наблюдался удлиненный интервал QT [142].

В недавнем исследовании была показана значимость повторного анализа данных полноэкзомного секвенирования. В анализ включены 51 случай редких идиопатических заболеваний и 50 случаев внезапной необъясненной смерти

молодых (до 45 лет). По результатам исследования подтверждены прошлые находки и в четырех случаях найдены новые диагностические варианты, что подчеркивает необходимость проведения повторного анализа данных в связи с постоянным развитием биоинформатики и генетики [268].

Помимо исследований методами секвенирования следующего поколения всё еще встречаются исследования с применением секвенирования по Сэнгеру. Так проведено секвенирование экзонов гена *DSG2* у 25 лиц умерших от ARVC и 25 лиц, умерших внезапной необъясненной смертью. 2 новые мутации гена найдены в случае ARVC и 2 новые мутации найдены в случае внезапной необъясненной смерти. Таким образом, возможно мутации гена *DSG2* могут быть связаны с фатальными аритмиями у пациентов с морфологически нормальным сердцем [226]. В этом же исследовании ранее было проведено секвенирование экзонов гена *PKP2,* в 6 случаях внезапной необъясненной смерти найдены мутации гена, 3 вероятно патогенные (p.E540, p.S615T, S615F), 4 ранее не описанные (p.P665S, p.Y217TfsX45, p.E540, p.S615T) [246].

Одновременно с полногеномным исследованием можно провести и полнотранскриптомное исследование, как это было сделано в Дании. Было повторно исследовано 13 случаев внезапной аритмической смерти и внезапной необъясненной смерти новорожденных. Обнаружено 23 вероятных варианта в регуляторной последовательности генов сердца, включая вариант промотора гена *NEXN* (c.-194A>G), который связан со сниженной экспрессией самого гена и гипертрофией миокарда [366].

Таким образом, огромное количество полиморфизмов и мутаций генов найдены как имеющие отношения к внезапной сердечной смерти. Однако, независимый вклад отдельных молекулярно-генетических маркеров в феномен внезапной сердечной смерти невелик. Существуют попытки оценить общий вклад нескольких полиморфизмов генов в развитие внезапной сердечной смерти, однако пока больших успехов в этом направлении достичь не удалось. Для изучения общего эффекта генетических вариантов, выявленных ранее как ассоциированных с внезапной сердечной смертью 966 случаев внезапной сердечной смерти из

проекта Oregon-SUDS и 1926 контрольных случаев с ИБС из исследования WTCCC были включены в исследовательский проект. Была сгенерирована шкала генетического риска из ранее ассоциированных вариантов с внезапной сердечной смертью или изменениями электрокардиограммы. В исследование было включено 55 молекулярно-генетических маркеров, связанных с внезапной сердечной смертью фенотипов, идентифицированных в GWAS, и 14 маркеров внезапной сердечной смерти. По результатам исследования высокий общий риск внезапной сердечной смерти был обнаружен для 14 однонуклеотидных полиморфизмов (таблица 2). Два из 14 полиморфизмов показали высокий индивидуальный риск внезапной сердечной смерти (rs3010396 гена *CASQ2*, rs6730157 гена *RAB3*). После учета этих двух полиморфизмов повышенный кумулятивный риск всей шкалы потерял свою статистическую значимость [104].

Таблица 2 – Однонуклеотидные полиморфизмы повышенного кумулятивного риска внезапной сердечной смерти

Однонуклеотидный полиморфизм	Ближайший ген
rs1042714	*ADRB2*
rs12567209	*NOS1AP*
rs16847548	*NOS1AP*
rs2283222	*KCNQ1*
rs11720524	*SCN5A*
rs3010396	*CASQ2*
rs9862154	*GPD1L*
rs10918859	*NOS1AP*
rs6730157	*RAB3GAP1*
rs10503929	*NRG1*
rs41312391	*SCN5A*
rs2200733	*PITX2*
rs4665058	*BAZ2B*
rs2824292	*CXADR*

1.3 Исследования метилирования ДНК при сердечно-сосудистых заболеваниях, лежащих в основе внезапной сердечной смерти

Эпигенетические изменения, в том числе метилирование ДНК, являются важным механизмом, с помощью которого окружающая среда способна влиять на геном. Эпигенетические модификации не связаны с изменением последовательности нуклеотидов ДНК, но могут влиять на экспрессию генов и вносить свой вклад в развитие заболеваний. В последние два десятилетия проведено множество исследований по поиску связи между метилированием ДНК и ССЗ. Метилирование ДНК обычно рассматривается в контексте CpG-динуклеотидной последовательности (CpG-сайтов), и представляет собой добавление метильной группы к цитозину в этом цитозин-фосфат-гуаниновом динуклеотиде [215]. В соматических клетках млекопитающих большинство CpG-сайтов метилированы (70–90 %) [126]. Но CpG-сайты в регионах повышенной CpG плотности (CpG-островки) обычно описаны как сайты со сниженным уровнем метилирования. ДНК-метилирование промотора гена является важным фактором для регуляции транскрипции [32]. Известно, что гипометилирование промотора гена увеличивает его экспрессию, тогда как гиперметилирование – снижает [164]. Метилирование ДНК стабилизирует хроматиновую структуру во время транскрипции, может очень сильно варьировать в разных тканях и в течение жизни человека [215], также метилирование ДНК зависит от возраста, пола, этнической принадлежности, курения [130]. При анализе научных публикаций (35 статей), касающихся метилирования ДНК было показано, что уровень метилирования ДНК, действительно, различен в зависимости от пола, в том числе и при сердечно-сосудистой патологии (показаны половые различия между уровнем метилирования ДНК при нарушениях липидного обмена, инсульте), также различия найдены и в метилировании отдельных генов при наличии сердечно-сосудистой патологии в зависимости от пола, что по мнению авторов может объяснять половые различия риска сердечно-сосудистой патологии [310]. Метилирование ДНК вовлечено в инактивацию X-хромосомы,

активность мобильных ретро элементов, клеточную дифференцировку, программирование, выживаемость, смерть, импритинг родительских генов, активность иммунной системы [330]. За метилирование ДНК ответственны метилтрансферазы, включая DNMT1, DNMT2, DNMT3a и DNMT3b. DNMT3a и DNMT3b ответственны за метилирование ДНК de novo. DNMT1 необходима во время репликации ДНК для копирования информации о паттерне метилирования с материнской на дочернюю цепь. Пассивное изменение статуса метилирования возможно с помощью выключения функции DNMT1. Активное изменение паттерна метилирования возможно несколькими путями. Дезаминирование превращает 5-метилированный цистин в тимин, который в случае репарации корректируется в неметилированный цистин. Другой путь включает в себя ферменты TET1, TET2, TET3, которые могут добавить гидроксильную группу в метильную группу, превращая 5-метилцитозин в 5-гидроксиметилцитозин, расщепляемый тимин-ДНК-гликозилазой. Несмотря на существующие механизмы, в большинстве тканей ДНК метилирование CpG-сайтов стабильно [370]. Экспрессия генов в случае метилирования может быть изменена разными путями. Первым описанным способом блокирования экспрессии генов была невозможность взаимодействия транскрипционных факторов с ДНК в случае метилированных CpG-сайтов [330]. Вторым путем является взаимодействие с метилированными CpG-сайтами протеинов метилсвязывающего домена, включая MCP2, MBD1, MBD2, MBD4, которые считывают метилирование CpG-сайтов, что останавливает или подавляет транскрипцию [126].

Существует несколько основных подходов к изучению метилирования ДНК: измерение глобального уровня метилирования ДНК, исследование метилирования отдельных генов-кандидатов, полноэпигеномный анализ метилирования ДНК, в том числе полноэпигеномные ассоциативные исследования (epigenome-wide association studies (EWAS)) [56]. Накопленные знания позволяют предполагать, что эпигенетические изменения, такие как нарушения метилирования ДНК могут помочь выявить альтернативное объяснение патофизиологии ССЗ [101]. Кроме изучения метилирования

отдельных генов, связанных с развитием того или иного заболевания, изучается уровень полногеномного метилирования, в том числе и с помощью современных технологий секвенирования следующего поколения [127]. Предшествующие полногеномные ассоциативные исследования выявили множество однонуклеотидных полиморфизмов, локализованных в некодирующих регионах, но, тем не менее, связанных с заболеваниями, предполагается, что эпигенетические механизмы могут объяснить часть этих находок [128].

В отношении метилирования ДНК для каждого сердечно-сосудистого фенотипа проведено множество исследований. В отношении внезапной сердечной смерти найдено небольшое исследование, в ходе которого было изучено метилирование ДНК при внезапной необъясненной смерти (9 человек) и внезапной смерти при эпилепсии (14 человек). Обнаружено 6 дифференциально метилированных локуса, расположенных поблизости от генов, кодирующих членов семьи глутатион S-трансферазы (GST). Показано, что метилирование ДНК ассоциировано с уровнем экспрессии гена *GSTT1*. Полученные результаты свидетельствуют о схожести метилирования изученных подвидов внезапной сердечной смерти за исключением локусов поблизости генов *GST* [114].

Наиболее изученной нозологией в отношении метилирования ДНК является ИБС, являющаяся основной причиной внезапной сердечной смерти во взрослом возрасте [350].

Было показано, что глобальное гиперметилирование ДНК связано с ИБС. В одном из исследований идентифицировано 72 гиперметилированных региона у лиц с ИБС, дальнейшее углубленное изучение выявило 6 CpG-сайтов, включающих интронный регион гена *C1QL4*, регуляторные регионы генов *CCDC47* и *TGFBR3*, метилирование которых ассоциировано с ИБС [165]. В исследовании полногеномного метилирования при ИБС выявлены критические гены и последовательности, такие как ABCA1, DDAH2, LINE-1 и Alu, метилирование которых также связано с риском ИБС. LINE-1 и Alu представляют собой крупные, высококопийные ретротранспозоны человеческого генома. Уровень метилирования этих элементов значимо отличается у пациентов с ИБС и

лиц из контрольной группы [343, 344]. В исследовании «случай-контроль» на группе лиц с ИБС (178 человек) и контрольной группе (156 человек) показана ассоциация с исследуемой нозологией метилирования промотора гена *CTH* [129]. Ген *CTH* (cystathionine gamma-lyase) кодирует цитоплазматический энзим, который превращает цистатион в цистеин, в Китае было показано, что инсерционно-делеционный полиморфизм rs113044851 гена снижает риск внезапной сердечной смерти [54]. С ИБС показана ассоциация уровня метилирования гена *PTX3*, играющего роль в развитии воспаления и атерогенезе, уровень метилирования гена был значимо ниже в группе ИБС по сравнению с контрольной группой [241]. Ген играет роль в процессе ангиогенеза, ремоделировании тканей, показана ассоциация метилирования промотора гена с ИБС, есть данные по связи уровня белка с острым коронарным синдромом (ОКС), в том числе фатальным ОКС, хронической сердечной недостаточностью, в том числе и ее исходами, включающими сердечную смерть [244, 258]. С риском ИБС связано метилирование генов *IL6, COMT, GCK, GALNT2, TNNT1, PLA2G7, MMP9, FOXP3, ANGPTL2, ABCG1* [39, 124, 125, 127, 179, 208, 261]. В 2017 году было проведен анализ научных статей, посвященных метилированию ДНК при ИБС, в него была включена 51 научная статья. По результатам проведенного анализа был сделан вывод, что вклад глобального метилирования ДНК в развитие ИБС сомнителен, но ассоциация метилирования некоторых генов-кандидатов с ИБС может рассматриваться как подтвержденная (гиперметилирование генов *ESRα, ABCG1, FOXP3*, гипометилирование гена *IL-6*), анализ полноэпигеномных ассоциативных исследований позволил идентифицировать 84 гена, дифференциально метилированных при ИБС (треть из этих генов ассоциирована с ожирением) [56]. В полноэпигеномном ассоциативном исследовании в 2018 году выявлено 52 CpG-сайта, связанных с ИБС, часть из которых локализованы в генах кальциевой регуляции (*ATP2B2, CASR, GUCA1B, HPCAL1*), связаны с кальцификацией атеросклеротических бляшек (*PTPRN2*), функцией почек (*CDH23, HPCAL1*) [76]. По результатам недавнего пилотного полноэпигеномного ассоциативного исследования у лиц с ИБС и лиц из контрольной группы

выявлено 429 дифференциально метилированных регионов (222 гипометилированных и 207 гиперметилированных), по результатам исследования составлена панель максимально отличающихся по статусу метилирования локусов, в панель вошли в основном гены системы HLA и воспаления [116]. В крупном российском исследовании был изучен статус метилирования промоторных регионов генов *TXNRD1, GSTP1, GCLM*, 4-6 экзонов гена *MPO* при ИБС, артериальной гипертензии, остром нарушении мозгового кровообращения [8]. В крупном исследовании Miao L et al. при ИБС в сравнении с контрольной группой найдено 11 дифференциально метилированных локусов, локализованных в генах *BDNF, BTRC, CDH5, CXCL12, EGFR, IL-6, ITGB1, PDGFRB, PIK3R1, PLCB1, PTPRC* [190]. В недавнем исследовании Zhang X et al. идентифицированы потенциальные биомаркеры ИБС (*FN1, PTEN, POLR3A*), экспрессия которых связана с уровнем метилирования ДНК и риском ИБС [184]. В одном из исследований была показана ассоциация метилирования гена *F2RL3* (F2R like thrombin or trypsin receptor 3) со смертностью у лиц с ИБС (когортное проспективное исследование KAROLA) [313].

Наиболее тяжелыми формами ИБС являются острый коронарный синдром (ОКС) и инфаркт миокарда. Аритмии после перенесенного инфаркта миокарда и ОКС остаются частой причиной внезапной сердечной смерти, которая чаще всего при ОКС случается на госпитальном этапе [4]. Изучение глобального метилирования ДНК при ОКС выявило, что у пациентов с ОКС (190 человек) уровень метилирования ДНК выше по сравнению со здоровыми лицами того же пола и возраста (75 человек) [134]. При проведении исследования полногеномного метилирования при ОКС было выявлено 19 гиперметилированных локусов и 17 гипометилированных генов, которые могут быть вероятными маркерами ОКС, но подтверждение связи метилирования с нозологией с применением метилспецифической ПЦР в исследовании случай-контроль было проведено только для локуса *SMAD3* [167]. В другом полноэпигеномном исследовании, материалом для которого послужила цельная кровь 102 пациентов с ОКС и 101 человека в контрольной группе, найдено 47

CpG-сайтов, ассоциированных с ОКС, из них 26 показали свою ассоциацию с уровнем экспрессии соответствующих генов, включая гены *IL6R, FASLG, CCL18* [160]. Показано, что у лиц, перенесших ОКС ген *ANGPTL2* (ген кодирует циркулирующий в крови провоспалительный протеин) гипометилирован, а уровень протеина в крови повышен по сравнению со здоровыми лицами соответствующего пола и возраста [208]. Повышенный уровень метилирования высоко консервативной области гена *FOXP3* (FOXP3-TSDR), связанной с функционированием регуляторных Т-клеток, ассоциирован с повышенным риском неблагоприятных исходов (кардиоваскулярной смерти, инфаркта миокарда, повторных хирургических вмешательств на коронарных сосудах) у пациентов с ОКС, степенью тяжести атеросклероза за счет снижения функции и количества регуляторных Т-клеток, что в свою очередь приводит к прогрессированию атеросклероза [123]. Снижение экспрессии и гиперметилирование гена *FOXP3* ассоциировано с ИБС [56, 90]. В полноэпигеномном ассоциативном исследовании сердечно-сосудистой патологии в Швеции найдено 211 дифференциально метилированных CpG-сайтов при инфаркте миокарда (196 генов, 42 из которых связаны с функцией сердца по данным литературы), включая гены *RYR2, KCNN1,* связанные с ионным транспортом, и гены кардиогенеза (в том числе ген *GDF15*) [132]. В крупном многошаговом исследовании на базе проектов KORA, NAS, InCHIANTI, было найдено 9 CpG-островков, измененных после перенесенного инфаркта миокарда, локализованных в генах *DHCR24, KCNN1, ALKBH1, LRP8* [48]. При инфаркте миокарда исследовано метилирование промотора гена *ALDH2*, который играет важную роль в защите миокарда от ишемии, найдена ассоциация инфаркта миокарда с метилированием *GDF15* [166]. Показана ассоциация инфаркта миокарда с метилированием гена *GNAS-AS1* у мужчин и женщин, гена *INS-IGF2* у женщин [178]. В полноэпигеномном ассоциативном исследовании «случай-контроль» (206 лиц с инфарктом миокарда и 206 человек в контрольной группе), проведенном на базе проекта EPICOR, у мужчин найдено три дифференциально метилированных локуса (промотор гена *TCN2*, 5'UTR участок гена *CBS*, ген *AMT*),

у женщин – два (ген *PON1*, 5'UTR участок гена *CBS*), метилирование которых снижено при инфаркте миокарда [67]. С инфарктом миокарда также связано гипометилирование промотора гена *IL6* [179].

Гены, метилирование которых может иметь интерес в отношении исследований их метилирования при внезапной сердечной смерти собраны в таблице 3.

Для некоторых синдромов нарушения ритма сердца были проведены исследования метилирования ДНК. Так изучено метилирование гена *KCNQ1* в когорте пациентов с удлиненным интервалом QT [115]. При наличии полиморфизма H558R (rs1805124) гена *SCN5A* у лиц с синдромом Бругада уровень экспрессии гена *SCN5A* выше, а уровень его метилирования ниже по сравнению с лицами без полиморфизма H558R и с синдромом Бругада (ДНК для исследования выделена из ткани правого предсердия у 30 лиц с синдромом Бругада) [172].

Таблица 3 – Гены-кандидаты для изучения метилирования при внезапной сердечной смерти

№	Ген (символ)	Официальное полное имя гена, цитогенетическая локализация	Связь метилирования гена с ИБС	Обоснование возможной связи с внезапной сердечной смертью
1	*CTH*	cystathionine gamma-lyase, 1p31.1	Гиперметилирование промотора гена ассоциировано с повышенным риском ИБС [129]	rs113044851 гена снижает риск внезапной сердечной смерти [54]
2	*PLCB1*	phospholipase C beta 1, 20p12.3	Метилирование CpG-сайта cg27178677 гена ассоциировано с ИБС [190]	rs16994849 гена ассоциирован с внезапной сердечной смертью [1]
3	*PTX3*	pentraxin 3, 3q25.32	Гипометилирование промотора гена ассоциировано с ИБС, более высоким уровнем белка PTX3 в плазме крови [241]	Уровень белка PTX3 в плазме крови выше в группе с фатальным ОКС на фоне коронарного тромбоза по сравнению с контрольной группой [258], у лиц с развившимися конечными точками на фоне хронической сердечной недостаточности [244]
4	*MMP9*	matrix metallopeptidase 9, 20q13.12	Метилирование гена ассоциировано с риском ИБС, возрастом ее начала, факторами риска ИБС [343]	Уровень MMP-9 в плазме крови рассматривается как маркер риска внезапной сердечной смерти [237]
5	*FN1*	fibronectin 1, 2q35	Гиперметилирование промотора гена ассоциировано с ИБС [184]	Экспрессия гена выше у лиц с внезапной сердечной смертью, сахарным диабетом второго типа и сохраненной фракцией выброса левого желудочка по сравнению с лицами умершими по другой причине [237]

Продолжение таблицы 3

№	Ген (символ)	Ген (официальное полное имя, цитогенетическая локализация)	Связь метилирования гена с ИБС	Обоснование возможной связи с внезапной сердечной смертью
6	*F2RL3*	F2R like thrombin or trypsin receptor 3, 19p13.11	Метилирование гена ассоциировано с кардиоваскулярной смертностью при ИБС [138]	
7	*ABCB1*	ATP binding cassette subfamily B member 1, 7q21.12	Метилирование промотора гена ассоциировано с риском ишемических событий (в том числе сердечной смерти, инфаркта миокарда, ишемического инсульта) при интракраниальном стенозе [5959]	
8	*FOXP3*	forkhead box P3, Xp11.23	Гиперметилирование гена ассоциировано с ИБС [56]	Гиперметилирование консервативной области гена FOXP3-TSDR связано риском кардиоваскулярной смерти после ОКС [160]
9	*GDF15*	growth differentiation factor 15, 19p13.11	Метилирование гена ассоциировано с риском инфаркта миокарда [166, 366]	Повышенный уровень GDF15 увеличивает риск внезапной сердечной смерти после ОКС, инфаркта миокарда и при дилатационной кардиомиопатии [147, 63, 146]
10	*IL6*	interleukin 6, 7p15.3	Гипометилирование промотора гена ассоциировано с риском ИБС, инфаркта миокарда [179]	Уровень интерлейкина-6 ассоциирован с риском внезапной сердечной смерти [188]
11	*CASR*	calcium sensing receptor, 3q13.33-q21.1	Метилирование гена ассоциировано с ИБС [76]	rs1801725 гена ассоциирован с длиной интервала QT [73]

Также показано, что при ФП гиперметилирован LINC00472 (long intergenic non-protein coding RNA 472), экспрессия которого как считается, связана с экспрессией РНК miR-24, которая в свою очередь регулирует экспрессию гена JPH2 (junctophilin 2), влияющего на экспрессию гена RYR2, участвующего в патогенезе ФП. Кроме повышенного уровня метилирования LINC00472 в исследовании Wang LY et al. найдено повышение уровня экспрессии miR-24 и снижение экспрессии LINC00472 [206]. С ФП ассоциировано гиперметилирование гена *PITX2* (paired like homeodomain 2) [65]. В проведенных исследованиях численность групп невысока, образцы ДНК для исследования были получены из миокарда правого [119] или левого предсердия [65, 163, 206], венозной крови [215].

Таким образом, из генов, метилирование которых ассоциировано с нарушениями ритма, для внезапной сердечной смерти наиболее перспективным будет изучение метилирования генов *SCN5A* и *KCNQ1*, связанных с LQTS – частой причиной необъясненной внезапной смерти, полиморфизмы которых ассоциированы с внезапной сердечной смертью.

В одном из ранних исследований ДКМП найден 51 гиперметилированный промотор и 6 гипометилированных промоторов генов, ассоциированных с ДКМП и экспрессией самих генов, среди которых гены *AURKB, BTNL9, CLDN5* и *TK1*, которые ранее не были описаны как причастные к ДКМП [108]. Проведенное эпигеномное ассоциативное исследование позволило выявить 59 локусов, метилирование которых значимо ассоциировано с ДКМП [131].

При ишемической кардиомиопатии выявлено гиперметилирование гена *ASB1*, статус метилирования гена ассоциирован с фракцией выброса левого желудочка, ударным объемом, конечно-систолическим и конечно-диастолическим размером левого желудочка [52]. Еще три гена (*SLC2A1, MPV17L, PLEC*) с разным статусом метилирования были выявлены при ишемической кардиомиопатии в исследовании B. Li et al. [337]. Таргетное бисульфитное секвенирование у пациентов с сердечной недостаточностью на фоне ишемической, ДКМП и ГКМП выявило 195 уникальных дифференциально

метилированных региона (5 для обструктивной ГКМП, 151 для ДКМП, 55 для ишемической кардиомиопатии), последующий анализ экспрессии выявил 6 генов (*HEY2, MSR1, MYOM3, COX17, CTGF, MMP2*), экспрессия которых связана с паттерном их метилирования и сердечной недостаточностью [332].

До сих пор остается не ясным как гены с критической ролью в патогенезе внезапной сердечной смерти взаимодействуют на клеточном уровне. Открытие метилирования ДНК позволило начать изучение связи между генетической информацией, заложенной в последовательности ДНК, и фенотипом заболевания. Полученные в ходе исследования метилирования ДНК данные могут помочь пролить свет на механизм реализации генетической информации в патогенезе того или иного заболевания. С точки зрения некоторых нозологий показано, что в ряде случаев (например, при атеросклерозе, ИБС) анализ метилирования ДНК отдельных генов, также, как и результаты изучения полногеномного метилирования, могут быть использованы как диагностические маркеры развития заболевания, его тяжести, прогноза. И если для многих ССЗ проводятся такого рода эпигенетические исследования, то по данным мировой литературы, для внезапной сердечной смерти таких исследований выполнено не было. Однако изучено метилирование ДНК при заболеваниях, лежащих в основе внезапной сердечной смерти (ИБС, кардиомиопатии, нарушения ритма). Исследования посвящены как измерению общего уровня метилирования ДНК, так и полноэпигеномным исследованиям и исследованиям метилирования отдельных генов. Анализ результатов данных исследований позволяет выявить гены, являющиеся перспективными кандидатами для изучения метилирования ДНК при внезапной сердечной смерти. Кроме изучения метилирования отдельных генов-кандидатов при внезапной сердечной смерти значимым может стать проведение полноэпигеномного ассоциативного исследования, которое поможет выявить уникальные дифференциально метилированные локусы для внезапной сердечной смерти, метилирование которых ранее не было изучено для сердечно-сосудистых заболеваний, лежащих в ее основе. Изучение уровня глобального метилирования

ДНК также позволит расширить научные знания об эпигенетических изменениях при внезапной сердечной смерти.

Возможно, что данные полученные в ходе изучения метилирования ДНК при внезапной сердечной смерти всеми возможными способами позволят продвинуться глубже в понимании механизмов ее развития, в том числе в отношении связи с развитием внезапной сердечной смерти генов, их полиморфных вариантов и мутаций. Кроме того, изучение метилирования ДНК способно помочь не только лучше понять механизм развития заболеваний, но и необходимо для разработки систем диагностики, профилактики и лечения заболеваний.

1.4 Другие генетические исследования внезапной сердечной смерти

Митохондриальная дисфункция может быть связана с развитием разнообразных изменений в организме, в том числе с развитием ССЗ, таких как кардиомиопатии, сердечная недостаточность, аритмии. Количество копий митохондриальной ДНК в отношении к ядерной ДНК является маркером митохондриальной дисфункции. Известно, что сниженное количество копий митохондриальной ДНК ассоциировано с диабетом, хронической болезнью почек, ИБС, смертностью в общей популяции. В проспективном исследовании в США на базе проекта the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) (группа 11093 человека в возрасте 45-64 года) созданном в 1987-1989 годах для исследования детерминант атеросклероза и его клинических исходов, а также факторов риска ССЗ, проведено исследование митохондриальной ДНК. Количество копий митохондриальной ДНК было измерено у 11093 участников проекта ARIC. По истечению 20,4 лет был обнаружен 361 случай внезапной сердечной смерти в исследуемой когорте [260]. Показано, что количество копий митохондриальной ДНК в периферической крови было обратно ассоциировано с риском внезапной сердечной смерти, независимо от ИБС, факторов риска ИБС, частоты сердечных сокращений, длины интервала QT и длительности QRS [57]. В российском

исследовании показано, что количество копий митохондриальной ДНК в ткани миокарда у мужчин, умерших внезапной сердечной смертью, меньше, чем у умерших внезапно от других причин (особенно в возрасте старше 50 лет) [19]. В отличие от исследования на базе ARIC ДНК была выделена в группе внезапной сердечной и несердечной смерти из ткани миокарда умерших.

1.5 Заключение

Внезапная сердечная смерть является актуальной и значимой проблемой современной медицины, что связано с высокой распространенностью сердечно-сосудистых заболеваний и большой долей внезапной сердечной смерти в структуре смертности населения от сердечно-сосудистой патологии. Кроме того, в зоне риска находятся преимущественно мужчины среднего (работоспособного) возраста, что делает внезапную сердечную смерть еще и социально-экономической проблемой. При этом большое количество лиц умерших внезапной сердечной смертью ранее не имели диагностированного ССЗ, что делает вопрос диагностики предрасположенности к внезапной сердечной смерти достаточно острым. В настоящее время ведется огромное количество исследований молекулярно-генетической основы данной нозологии. Остаются популярными исследования дизайна «случай-контроль». Список полиморфизмов, которые имеют отношение к развитию внезапной сердечной смерти, достаточно велик и постоянно пополняется за счет вновь выявленных полиморфизмов в ходе крупных зарубежных и российских исследований. В зарубежных странах NGS-технологии обеспечивают беспрецедентную возможность для скрининга генетических вариантов генов за короткий промежуток времени с низкой стоимостью, предоставляя возможность найти причинную мутацию развития того или иного заболевания. Множество исследований наглядно иллюстрирует, что NGS методы могут быть эффективным подходом, интегрированным в посмертное судебно-медицинское исследование. Учитывая огромное количество информации, генерируемой NGS, строгая стратегия фильтрации вариантов в сочетании с

многодисциплинарным сотрудничеством имеет решающее значение для определения потенциальной патогенной роли идентифицированных вариантов в причине смерти [91, 334]. За рубежом полученные данные активно используются для медико-генетического консультирования, проведения профилактических мероприятий еще до развития клинических симптомов заболевания, лечебных действий на ранних этапах течения болезни. Кроме того, нельзя не отметить и научную ценность данных полученных в ходе исследований методами NGS. В результате проведения NGS исследований становится возможным выявление новых молекулярно-генетических маркеров того или иного заболевания, которые не были известны до проведения исследований или связь которых ранее с изучаемой нозологией даже не подозревалась. Однако, NGS – это не совершенный инструмент для молекулярно-генетического исследования, но развивающийся метод, позволяющий выявить новые мутации/полиморфизмы, которые могут иметь отношение к тому или иному заболеванию. Существующие трудности при проведении исследований методом NGS сопряжены с огромным числом редких вариантов с неизвестной клинической значимостью, связь которых с заболеванием требует последующей проверки в рутинной практике. И зачастую связь таких редких вариантов с исследуемой нозологией не находит подтверждения при проведении крупных исследований. В России же исследования методами NGS только набирают обороты.

Существуют попытки собрать информацию о молекулярно-генетической основе в одно целое, используя данные предыдущих исследований.

Анализируя публикации, депонированные в базах данных PubMed и Gene-Cloud Biotechnology Information (GCBI), Wei J и др. собрали гены, генетически связанные с внезапной сердечной смертью. Для анализа биологических процессов и биохимических путей генов, связанных с внезапной сердечной смертью, был проведен функциональный анализ. Для построения молекулярных сетей, специфичных для внезапной сердечной смерти, использовались кластерный алгоритм Маркова и алгоритм минимального дерева Штейнера. Было собрано 257 генов, которые, как сообщалось ранее, были связаны с внезапной сердечной

смертью. Большинство биологических процессов и биохимических путей, в которые вовлечены эти гены, были связаны с сердечными заболеваниями, некоторые гены были связаны с некардиальными причинами внезапной сердечной смерти. Полученные данные сгруппированы в два кластера патогенеза. Один - связан с сигнальным путем кальция, а другой - с сигнальным путем МАРК. Более того, были сделаны выводы о двух различных специфичных для внезапной сердечной смерти молекулярных сетях, а также были идентифицированы 23 новых гена, потенциально связанных с внезапной сердечной смертью[181].

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Этапы исследовательской работы

Этап 1. Исследование ассоциации с внезапной сердечной смертью однонуклеотидных полиморфизмов, выявленных по результатам полногеномного аллелотипирования.

Этап 2. Исследование мутаций, выявленных методом полноэкзомного секвенирования в зарубежных исследованиях.

Этап 3. Экзомное секвенирование.

Этап 4. Исследование ассоциации с внезапной сердечной смертью однонуклеотидных полиморфизмов, выявленных при анализе результатов экзомного секвенирования.

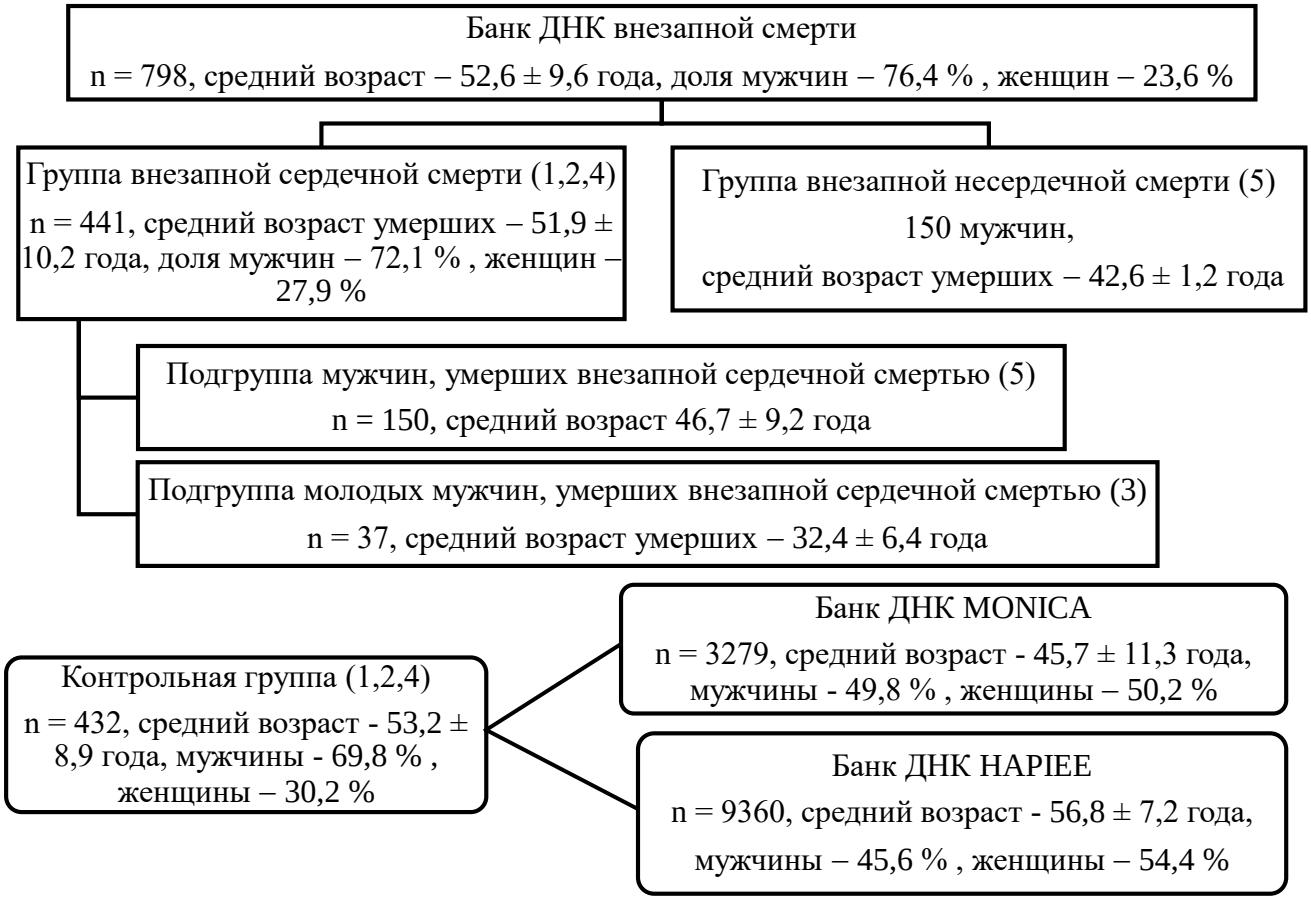
Этап 5. Исследование ассоциации с внезапной сердечной смертью метилирования отдельных генов.

2.2 Общая характеристика банка ДНК внезапной смерти, группы внезапной сердечной смерти и контрольных групп

В исследовании использован архивный анонимный банк ДНК лиц умерших внезапной смертью и банки ДНК международных исследований MONICA (Multinational MONItoring of trends and determinants in CArdiovascular disease) и HAPIEE (Health, Alcohol and Psychosocial factors In Eastern Europe) (рисунок 3).

В банк ДНК внезапной смерти (n = 798, средний возраст – 52,6 ± 9,6 года, минимальный возраст - 20 лет, максимальный возраст – 86 лет, доля мужчин - 76,4 %, женщин - 23,6 %) включены внезапно умершие вне лечебных учреждений жители Октябрьского района города Новосибирска, судебно-медицинское исследование которых проведено на базе ГБУЗ НСО "Новосибирское областное клиническое бюро судебно-медицинской экспертизы". Банк ДНК внезапной

смерти формировался сплошным включением случаев внезапной смерти в несколько этапов (1999-2005 годы, 2012 год, 2018-2019 годы). Биоматериалом для выделения ДНК являлась ткань миокарда (массой 5–10 г), забранная в ходе судебно-медицинского исследования, которая в дальнейшем хранилась при температуре -20^{0}С до этапа выделения ДНК.



Примечание: 1 – исследование однонуклеотидных полиморфизмов, выявленных по результатам полногеномного аллелотипирования; 2 – исследование мутаций, выявленных методом полноэкзомного секвенирования в зарубежных исследованиях; 3 – экзомное секвенирование; 4 – исследование однонуклеотидных полиморфизмов, выявленных при анализе результатов экзомного секвенирования; 5 – исследование ассоциации с внезапной сердечной смертью метилирования отдельных генов.

Рисунок 3 – Группы, включенные в исследование

Из банка ДНК внезапной смерти сформирована группа внезапной сердечной смерти и контрольная группа лиц умерших внезапной несердечной смертью.

Группа внезапной сердечной смерти (n = 441, средний возраст умерших – 51,9 ± 10,2 года, доля мужчин – 72,1 %, женщин – 27,9 %) сформирована с использованием критериев внезапной сердечной смерти ВОЗ и Европейского Общества Кардиологов. В группу включены образцы ДНК из банка ДНК внезапной смерти. Основным патологоанатомическим диагнозом в 89,9 % случаев был диагноз «острое нарушение кровообращения», в 6,0 % случаев – «острая коронарная недостаточность», в 2,9 % случаев – «острая сердечно-сосудистая недостаточность», 1,2 % случаев – «внезапная сердечная смерть». Из группы исключены лица с патологоанатомическими диагнозами – инфаркт миокарда (смерть от инфаркта миокарда не относится к внезапной сердечной смерти по МКБ-10), ДКМП/ГКМП (которые являются отдельной нозологической подгруппой внезапной сердечной смерти), лица, находящиеся в состоянии наркотического опьянения (которое могло способствовать развитию внезапного летального исхода), тяжелого или смертельного отравления алкоголем (которое могло стать причиной внезапной смерти). Для группы внезапной сердечной смерти отсутствуют данные истории жизни и болезни. Для анализа в группе внезапной сердечной смерти доступны следующие данные судебно-медицинского исследования: патологоанатомический диагноз, размеры и масса сердца, толщина межжелудочковой перегородки, толщина миокарда правого и левого желудочков, наличие признаков атеросклероза (количество, размер, цвет, консистенция локализация атеросклеротических бляшек, сужение просвета коронарных артерий), наличие признаков гипертрофии кардиомиоцитов. Согласно данным аутопсии у 58 % умерших наблюдались признаки атеросклероза. У 41,4 % из лиц с атеросклерозом описаны атеросклеротические бляшки коронарных артерий и аорты, у 8,9 % – атеросклеротические бляшки только аорты, у 49,7 % –только в коронарных артериях. У лиц с описанными атеросклеротическими бляшками в коронарных артериях в 66,7 % случаев бляшки описаны как плотные, в 33,3 % –

как эластичные; в 64,8 % случаев – крупные, 35,2 % – мелкие; в 34,6 % случаев – желтые, 39,5 % – серо-желтые, 25,9 % – сероватые; в 56,6 % случаев – множественные, 30,2 % – среднее количество, 13,2 % – единичные. Сужение просвета коронарных артерий до 50 % зафиксировано в 50,4 % случаев, сужение на 50 % – в 16,1 % случаев, 50–75 % – 32,2 % случаев, более 75 % – в 1,3 % случаев. У лиц с описанными атеросклеротическими бляшками в аорте в 41,6 % случаев бляшки описаны как плотные, в 58,4 % – как эластичные; в 55,4 % случаев - крупные, 44,6 % – мелкие; в 54,7 % случаев – желтые, 35,0 % – серо-желтые, 10,3 % – сероватые; в 42,7 % случаев - множественные, 7,0 % – среднее количество, 50,3 % – единичные.

В исследованиях ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов с внезапной сердечной смертью дизайна «случай-контроль» (этап 1, 2, 4 исследовательской работы) количество отгенотипированных лиц в группе внезапной сердечной смерти варьирует от 350 до 441 в связи с разной эффективностью систем генотипирования, недостаточной концентрацией и качеством архивной ДНК для некоторых систем, наличием в некоторых образцах ингибиторов, а также тем, что в ходе исследования некоторые образцы ДНК были использованы полностью.

Группа внезапной несердечной смерти (150 мужчин, средний возраст умерших – 42,6 ± 1,2 года) сформирована также из банка ДНК внезапной смерти. В нее включены лица, умершие внезапно, но не вследствие сердечно-сосудистой патологии (в основном, смерть которых произошла вследствие несчастных случаев). Группа внезапной несердечной смерти включена в исследование метилирования генов в качестве контрольной группы. В качестве группы случая в исследовании метилирования генов использована подгруппа мужчин из группы внезапной сердечной смерти (n = 150, средний возраст 46,7 ± 9,2 года). Группы статистически значимо не отличаются по возрасту. Подбор контрольной группы из банка ДНК лиц умерших внезапно и использование ДНК выделенной из ткани

миокарда, как в группе внезапной сердечной смерти, так и в группе контроля продиктовано доказанной тканеспецифичностью метилирования ДНК.

Для проведения экзомного секвенирования из группы внезапной сердечной смерти отобрано 37 молодых мужчин до 45 лет (средний возраст умерших – 32,4 ± 6,4 года, минимальный возраст 20 лет).

Банк ДНК исследований MONICA (n = 3279, средний возраст – 45,7 ± 11,3 года, минимальный возраст - 24 года, максимальный возраст – 65 лет, доля мужчин – 49,8 %, женщин - 50,2 %) и HAPIEE (n = 9360, средний возраст – 56,8 ± 7,2 года, минимальный возраст – 40 лет, максимальный возраст – 73 года, доля мужчин - 45,6 %, женщин – 54,4 %) сформирован во время проведения этих исследований. Забор венозной крови для молекулярно-генетического исследования осуществлялся в пробирки с 0,5М ЭДТА. Пробирки с кровью хранились при температуре -20^0 С до этапа выделения ДНК.

Проект MONICA (Multinational Monitoring of Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) представляет собой проект ВОЗ, прошедший в 1980–1990 гг. в 31 исследовательском центре 21 страны. Одним из таких центров стал НИИ терапии СО РАМН (ключевые исследователи – Малютина С.К., Никитин Ю. П.). Целью проекта было изучение трендов сердечно-сосудистой смертности, заболеваемости ИБС и цереброваскулярными заболеваниями, оценка факторов риска и показателей здоровья в связи с изучаемыми трендами [202]. Обследование включало в себя анкетирования, опросы, сбор семейного анамнеза, двукратное измерение артериального давления, антропометрию, исследование липидного профиля крови, регистрацию ЭКГ в покое в 12 стандартных отведениях с последующей оценкой двумя независимыми специалистами по кодированию согласно Миннесотскому коду [18].

Проект HAPIEE (Health, Alcohol and Psychosocial factors In Eastern Europe) – мультицентровое исследование, оценивающее влияние на здоровье пищевых привычек, употребления алкоголя, психосоциальных факторов. Одним из центров исследования стал НИИ терапии СО РАМН (ключевые исследователи –

Малютина С.К., Никитин Ю. П.). Обследование включало в себя анкетирования, опросы, измерение артериального давления, антропометрию, биохимическое исследование крови, регистрацию ЭКГ в покое в 12 стандартных отведениях с последующей оценкой двумя независимыми специалистами по кодированию согласно Миннесотскому коду [13].

Индекс массы тела рассчитывался по формуле:

ИМТ = масса тела (кг)/ рост^2 (м^2)

Исследование крови участников проектов MONICA, HAPIEE на биохимические параметры выполнено в лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН. Определение уровня общего холестерина, ХС-ЛПВП, триглицеридов выполнено на биохимическом анализаторе KoneLab (США) с использованием наборов «Biocon» (Германия) прямым энзиматическим методом. Концентрацию ХС-ЛПНП вычисляли с использованием формулы Фридвальда. Концентрацию глюкозы сыворотки крови измеряли глюкозооксидазным методом.

Из банков ДНК исследований MONICA и HAPIEE сформирована группа контроля для исследований однонуклеотидных полиморфизмов генов (этап 1, 3, 5 исследовательской работы) (n = 432, средний возраст – 53,2 ± 8,9 года, мужчины – 69,8 %, женщины – 30,2). В контрольную группу включена ДНК живых (на момент проведения исследований MONICA и HAPIEE) жителей Октябрьского района города Новосибирска соответствующего пола и возраста (методика подбора примерно 1:1 к группе внезапной сердечной смерти), участников международных исследований MONICA и HAPIEE. Группы контроля и внезапной сердечной смерти статистически значимо не отличаются друг от друга по полу и возрасту. В исследованиях ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов с внезапной сердечной смертью дизайна «случай-контроль» (этап 1, 3, 5 исследовательской работы) количество отгенотипированных лиц в группе внезапной сердечной смерти варьирует от 362 до 441 в связи с разной

эффективностью систем генотипирования, недостаточной концентрацией и качеством архивной ДНК для некоторых систем, наличием в некоторых образцах ингибиторов, а также тем, что в ходе исследования некоторые образцы ДНК были использованы полностью.

В случае ассоциации ОНП с внезапной сердечной смертью (этапы 1, 4) с целью оценки возможного патогенетического механизма, посредством которого полиморфизм вносит свой вклад в развитие феномена внезапной сердечной смерти, в контрольной группе изучена ассоциация ОНП с данными клинического, антропометрического, клинико-лабораторного исследований, в группе внезапной сердечной смерти - с данными судебно-медицинского исследования.

В контрольной группе в анализ включены следующие параметры: уровень общего холестерина, ХС-ЛПВП, ХС-ЛПНП, триглицеридов, индекс атерогенности, систолическое и диастолическое артериальное давление, пульсовое давление, окружность талии, индекс массы тела, уровень глюкозы плазмы крови натощак, частота сердечных сокращений.

В группе внезапной сердечной смерти в анализ включены следующие данные судебно-медицинского исследования: размеры и масса сердца, толщина межжелудочковой перегородки, толщина миокарда правого и левого желудочков, наличие признаков атеросклероза (атеросклеротические бляшки аорты и коронарных сосудов), наличие признаков гипертрофии кардиомиоцитов.

2.3 Выделение ДНК

Ткань миокарда 1–2 г тщательно измельчали скальпелем. В случае выделения ДНК из венозной крови специальной пробоподготовки не требовалось. Для лизиса клеток и ингибирования клеточных нуклеаз добавляли к биоматериалу 900 мкл теплого 5М раствора гуанидина тиоционата (гуанидин, 5М NaCl, 0,5М ЭДТА, β-меркаптоэтанол, 10 % SDS, 0,1М трис-HCl), инкубировали смесь при температуре 65^0С в течение суток. Проводили процедуру фенол-хлороформной экстракции ДНК путем добавления к лизированным клеткам 900 мкл смеси

фенол-хлороформа (1:1), центрифугировали смесь 10 минут 12000 оборотов в минуту, процедуру с образовавшейся водной фазой повторяли дважды. К полученной водной фазе добавляли 700 мкл смеси хлороформ-изоамиловый спирт (24:1), центрифугировали смесь 5 минут 12000 оборотов в минуту. После отделения водной фазы от органической для осаждения ДНК к ней добавляли до 1/5 от объема полученной фазы раствора 5М NaCl и равный объем изопропилового спирта. Инкубировали смесь при –40^{0}С 30 минут. Центрифугировали полученную смесь 15 минут 13400 оборотов в минуту. После слива содержимого пробирки к полученному осадку ДНК для отмывания добавляли 1 мл 75 % C_2H_5OH, центрифугировали 13400 оборотов в минуту, процедуру отмывания проводили дважды. Полученный осадок сушили в термостате 56^{0}С 20–25 минут. ДНК разводили деионизированной водой до концентрации 1,0 мкг/мкл.

2.4 Исследование однонуклеотидных полиморфизмов, выявленных по результатам полногеномного аллелотипирования (этап 1)

В ходе проведения полногеномного аллелотипирования получен список ОНП, которые с высокой вероятностью могут быть новыми молекулярно-генетическими маркерами внезапной сердечной смерти. Полногеномный анализ был проведен по принципу «случай-контроль» на платформе Illumina Omni1S, имеющей 1,2 млн маркеров на планшете на пулированной (смешанной) ДНК. В исследование была включена выборка мужчин умерших внезапной сердечной смертью (из группы внезапной сердечной смерти) в количестве 200 человек. В качестве группы контроля была использована ДНК пилотов. При сравнении частот аллелей между группой внезапной сердечной смерти и контрольной выборкой выявили наборы ОНП, достоверно отличающиеся друг от друга по частоте [12].

Выявленные таким способом ОНП 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 исследований имеет большую научную ценность, поскольку помогает выявить новые молекулярно-генетические маркеры нозологии, ассоциация которых с ней ранее даже и не подозревалась.

Из списка возможных новых молекулярно-генетических маркеров внезапной сердечной смерти выбраны представляющие научный интерес ОНП генов. Критериями отбора ОНП генов для исследования являлись: локализация в геноме (экзон/интрон гена, межгенное пространство); функциональная характеристика варианта (несинонимичные замены, синонимичные замены); литературные данные по связи других ОНП гена, в котором локализован выбранный для исследования вариант, с внезапной сердечной смертью, сердечно-сосудистой патологией или другой патологией, которая играет роль в патогенезе внезапной сердечной смерти; частота редкого аллеля выбранного ОНП в популяции (от 0,1 и больше); теоретическая оценка технических трудностей генотипирования по выбранному однонуклеотидному варианту. Согласно указанным критериям для исследования были выбраны 22 ОНП (таблица 4).

Некоторые из выбранных ОНП принадлежат генам, другие же находятся в межгенных пространствах. Многочисленные мировые исследования показали, что генетические варианты в РНК-некодирующих регионах ассоциированы с заболеваниями человека. Однако до сих пор определить точный механизм вклада интронных и межгенных ОНП в развитие заболеваний не представляется возможным. Уровень экспрессии некодирующих РНК транскриптов во многих исследованиях показал тканевую и временную специфичность, что подтверждает существование строгой регуляции экспрессии данных участков. Доказано, что аномальная экспрессия некоторых РНК-некодирующих регионов тесно коррелирует с формированием злокачественных новообразований, метастатической активностью. Кроме того, многие межгенные и интронные

однонуклеотидные полиморфизмы локализованы рядом или непосредственно в регуляторных регионах. То есть, такие полиморфизмы могут быть связаны с регуляторными элементами и влиять на патогенез заболеваний [345].

2.5 Исследование мутаций, выявленных методом полноэкзомного секвенирования в зарубежных исследованиях (этап 2)

Постоянно пополняется список мутаций, найденных в зарубежных исследованиях методами секвенирования следующего поколения (NGS) как причинные мутации развития внезапной сердечной смерти. Некоторые из этих мутаций, найденные как возможно причинные в отдельных случаях внезапной сердечной смерти, были отобраны для проверки в исследовании дизайна «случай-контроль» в данном исследовании. Было предположено, что некоторые случаи внезапной сердечной смерти, включенные в исследование, также могут быть связаны с этими мутациями. Перечень выбранных мутаций представлен в таблице 5.

2.6 Исследование однонуклеотидных полиморфизмов, выявленных при анализе результатов экзомного секвенирования как вероятные молекулярно-генетические маркеры внезапной сердечной смерти (этап 4)

Выполнено экзомное секвенирование группы мужчин (37 человек) умерших внезапной сердечной смертью в возрасте до 45 лет. При анализе результатов экзомного секвенирования получен список возможных новых молекулярно-генетических маркеров (ОНП, частота редкого аллеля которых полученная по результатам экзомного секвенирования в группе внезапной сердечной смерти значимо отличается от популяционной частота для европеоидной расы по данным базы gnomAD) (таблица 6). Список содержит ОНП генов-кандидатов внезапной сердечной смерти и заболеваний, лежащих в ее основе (ишемической болезни сердца, нарушений ритма сердца). Отобранные ОНП ранее не были изучены в отношении внезапной сердечной смерти.

Таблица 4 – Выбранные для верификации в качестве новых молекулярно-генетических маркеров внезапной сердечной смерти однонуклеотидные полиморфизмы (этап 1)

№	refSNP	Ген (символ, официальное полное имя)	Локализация (номер хромосомы)	HGVS Names	Частота редкого аллеля по данным GnomAD
1	rs34554140	-	9	g.36759700A>T	0,082 (T)
2	rs6670279	-	1	g.109945285T>A	0,2 (T)
3	rs6874185	-	5	g.176716663C>T	0,24 (T)
4	rs10867772	-	9	g.81557229T>A	0,38 (A)
5	rs4700290	-	5	g.58466221A>G	0,33 (G)
6	rs75555045	*SCG5*, secretogranin V	15	g.32689033C>T, c.490-2677C>T	0,05 (T)
7	rs12904699	*OR4F6*, olfactory receptor family 4 subfamily F member 6	15	g.101802951A>G	0,32 (A)
8	rs7164665	LOC112268142	15	g.78661577T>C	0,18 (C)
9	rs71461059	-	12	g.17615282G>A	0,09 (A)
10	rs6762529	*NAALADL2*, N-acetylated alpha-linked acidic dipeptidase like 2	3	g.175546149T>C c.1654-29892T>C	0,35 (T)
11	rs62116755	*GACAT3*, gastric cancer associated transcript 3	2	g.16071334C>T	0,13 (T)
12	rs12170546	*PARVB*, parvin beta	22	g.44026453T>C c.112+2002T>C	0,35 (C)

Продолжение таблицы 4

№	refSNP	Ген (символ, официальное полное имя)	Локализация (номер хромосомы)	HGVS Names	Частота редкого аллеля по данным GnomAD
13	rs16994849	*PLCB1*, phospholipase C beta 1	20	g.8510214A>G c.247-118080A>G	0,16 (G)
14	rs78143315	*PDCD6IP*, programmed cell death 6 interacting protein	3	g.33802093G>A, c.209+3156G>A	0,04 (A)
15	rs6582147	-	9	g.73366734T>G	0,25 (T)
16	rs10010305	-	4	g.12045670C>T	0,11 (T)
17	rs2136810	*ARAP2*, ArfGAP with RhoGAP domain, ankyrin repeat and PH domain 2	4	g.36007345A>G	0,16 (A)
18	rs17797829	-	4	g.6894879G>A	0,16 (A)
19	rs13246896	*HDAC9*, histone deacetylase 9	7	g.18804071A>T c.2313+10619A>T	0,24 (T)
20	rs35089892	*CAMK2B*, calcium/calmodulin dependent protein kinase II beta	7	g.44269260G>A c.161-6196C>T	0,21 (A)
21	rs7172856	LOC107984727	15	g.101254948G>A	0,12 (A)
22	rs61999948	-	15	g.23870050C>T	0,22 (T)

Примечание: HGVS Names - номенклатура Human Genome variation Society (2011 год), RefSNP - Reference SNP (National Center for Biotechnology Information (NCBI)), GnomAD - genome aggregation database

Критериями отбора ОНП генов для исследования являлись: частота редкого аллеля полученная по результатам экзомного секвенирования в группе внезапной сердечной смерти значимо отличается от популяционной частоты для европеоидной расы по данным базы gnomAD, функциональная характеристика ОНП (несинонимичные замены, синонимичные замены), литературные данные по связи других ОНП гена, в котором локализован выбранный для исследования вариант, с внезапной сердечной смертью, сердечно-сосудистой патологией или другой патологией, которая играет роль в патогенезе внезапной сердечной смерти; частота редкого аллеля выбранного ОНП в популяции (от 0,1 и больше); теоретическая оценка технических трудностей генотипирования по выбранному ОНП.

2.7 Методика молекулярно-генетического анализа (этапы 1, 2, 4)

Дизайн исследования «случай-контроль». Группа внезапной сердечной смерти (n = 441, средний возраст умерших – 51,9 ± 10,2 года, доля мужчин – 72,1 %, женщин - 27,9 %) сформирована из банка ДНК внезапной смерти. Контрольная группа сформирована из банков ДНК исследований MONICA и HAPIEE (n = 432, средний возраст – 53,2 ± 8,9 года, мужчины – 69,8 %, женщины – 30,2 %).

Генотипирование групп по выбранным ОНП проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов в 5 % полиакриламидном геле с последующим окрашиванием бромистым этидием (EtBr) по авторским протоколам. Последовательность праймеров, температурный режим ПЦР, использованные рестриктазы, длины продуктов после амплификации и рестрикции представлены в таблицах приложения (таблицы А.1, А.2, А.3 в приложении А). Температурный режим ПЦР включал в себя 1 цикл предварительного прогрева 95^0 5 минут и 1 завершающий цикл 72^0 7 минут. Для рестрикции использовали 10 единиц активности рестриктазы.

Таблица 5 – Выбранные для верификации у лиц умерших внезапной сердечной смертью мутации (этап 2)

№	refSNP	Ген (символ, официальное полное имя)	Локализация (номер хромосомы)	HGVS Names	Частота редкого аллеля, GnomAD	Примечание
1	rs767084399	*TTN*, titin	2	c.12901G>A, p.Asp4301Asn	0,000004	женщина, 25 лет, внезапная аритмическая смерть во сне [255]
2	rs727505175			c.66479T>C, p.Ile22160Thr	0,00001	мужчина, 29 лет, внезапная сердечная смерть на фоне ИБС [255]
3	rs796866952			c.13283−37657_1328337656insAGA, p.Glu9928_Tyr9929insGlu	0,011	женщина, 19 лет, внезапная необъясненная смерть [255]
4	rs199586997	*CACNA1C*, calcium voltage-gated channel subunit alpha1 C	12	c.512C>T, p.Thr171Met	0,00002	мужчина, 26 лет, внезапная аритмическая смерть [255]
5	rs777325314	*MYH7*, myosin heavy chain 7	14	c.5230G>T, p.Ala1744Ser	0,000008	
6	rs3218713			c.746G>A, p.Arg249Gln	-	женщина, 16 лет, внезапная смерть, R249Q-MYH7-ассоциированная кардиомиопатия [97]

Продолжение таблицы 5

№	refSNP	Ген (символ, официальное полное имя)	Локализация (номер хромосомы)	HGVS Names	Частота редкого аллеля (GnomAD)	Примечание
7	rs730880254	*JPH2*, junctophilin 2	20	c.565G>A, p.Ala189Thr	0,0008	мужчина, 22 года, внезапная аритмическая смерть [255]
8	rs757541730	*VCL*, vinculin	10	c.1301C>A, p.Ser434Tyr	0,00001	мужчина, 14 лет, внезапная необъясненная смерть [255]
9	rs768299786	*RYR2*, ryanodine receptor 2	1	c.13655A>G, p.His4552Arg	0,00002	женщина, 27 лет, внезапная смерть на фоне интоксикации [255]
10	-	*SCN5A*, sodium voltage-gated channel alpha subunit 5	3	c.4485C>A, p.Tyr1495stop	-	мужчина, 48 лет, внезапная сердечная смерть [363]
Примечание: HGVS Names - номенклатура Human Genome variation Society (2011 год), RefSNP - Reference SNP (National Center for Biotechnology Information (NCBI)), GnomAD - genome aggregation database						

Таблица 6 – Выбранные для верификации в качестве новых молекулярно-генетических маркеров внезапной сердечной смерти однонуклеотидные полиморфизмы (этап 4)

№	refSNP	Ген (символ, официальное полное имя)	Локализация (номер хромосомы)	HGVS Names	Частота редкого аллеля по данным gnomAD	Частота редкого аллеля по данным экзомного секвенирования
1	rs34643859	*KCNS1* (potassium voltage-gated channel modifier subfamily S member 1)	20	g.45098726T>C, c.77-31A>G	0,30 (C)	0,17
2	rs12804550	*SCN4B* (sodium voltage-gated channel beta subunit 4)	11	g.118141145G>A, c.191+62C>T	0,18 (A)	0,12
3	rs4514993	*SCN11A* (sodium voltage-gated channel alpha subunit 11)	3	c.1474-60T>A	0,11 (A)	0,21
4	rs1008832	*CACNA1C* (calcium voltage-gated channel subunit alpha1 C)	12	c.1114-487A>G	0,37 (G)	0,13
5	rs4027402	*SYNE2* (spectrin repeat containing nuclear envelope protein 2)	14	c.6851C>T, p.Ala2284Val	0,12 (C)	0,23
6	rs2340917	*TMEM43* (transmembrane protein 43)	3	c.536T>C, p.Met179Thr	0,29 (C)	0,43
7	rs58225473	*CACNB2* (calcium voltage-gated channel auxiliary subunit beta 2)	10	c.1800T>G, p.Asp600Glu	0,18 (G)	0,27

Примечание: HGVS Names - номенклатура Human Genome variation Society (2011 год), RefSNP - Reference SNP (National Center for Biotechnology Information (NCBI)), gnomAD - Genome Aggregation Database

Проверка корректной работы методик ПЦР проведена с помощью секвенирования по Сэнгеру.

2.8 Статистический анализ (этапы 1, 2, 4)

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

В случае ассоциации ОНП с внезапной сердечной смертью в контрольной группе изучена ассоциация ОНП с данными клинического, антропометрического, клинико-лабораторного исследований, в группе внезапной сердечной смерти – с данными судебно-медицинского исследования. Нормальность распределения параметров судебно-медицинского, клинического, антропометрического, лабораторных исследований проверяли с использованием теста Колмогорова-Смирнова. Описательная статистика для переменных с нормальным распределением представлена средним значением и стандартным отклонением от него, для переменных, не подчиняющихся нормальному распределению, использованы значения медианы (Me), 25-го и 75-го процентиля (Q25-Q75). При нормальном распределении расчеты производились с использованием теста ANOVA. Для оценки корректности выбранного метода расчета использовали тест Левена на гомогенность дисперсий. Для определения, какие именно группы

отличаются друг от друга по среднему значению использовали тест Дункана. В случае отклонения от нормального распределения использовали тест Крускалла-Уоллиса и тест Манна-Уитни. В случае номинальной и порядковой шкалы данных использовались таблицы сопряженности и тест хи-квадрат по Пирсону с поправкой на правдоподобие. В качестве уровня значимости также использован $p < 0,05$.

При разделении групп по возрасту использовали группы в возрасте до 50 лет включительно и старше 50 лет. В младшей возрастной группе чаще всего причиной внезапной сердечной смерти являются каналопатии, кардиомиопатии, миокардиты, в старшей возрастной группе – доминируют хронические дегенеративные заболевания (ИБС, заболевания клапанов сердца, СН), заболеваемость которыми прогрессивно нарастает после 50 лет. Поэтому для разделения групп по возрасту был выбран возраст 50 лет, так как предполагается, что влияние генетических факторов будет наиболее значительным именно в младшей возрастной группе, поскольку с возрастом усиливается вклад неблагоприятных средовых воздействий.

2.9 Экзомное секвенирование (этап 3)

Группа исследования: аутопсийный материал 37 внезапно умерших внезапной сердечной смертью мужчин в возрасте от 20 до 45 лет (средний возраст 32,4 ± 6,4 года). Экзомный анализ был выполнен на платформе Illumina (Illumina, Calif., USA). Для приготовления библиотек использовали набор SureSelect Focused Exome (Agilent, США) (4800 генов, оптимизирован для выявления вариантов, связанных с заболеваниями). Биоинформационный анализ данных секвенирования был выполнен в системе NGSWizard на платформе Genomenal и включал: картирование данных на геном человека (версия GRCh38), контроль качества, удаление дупликатов, выявление однонуклеотидных вариантов и инсерций/делеций в анализируемых участках. Аннотация полученных вариантов производилась с использованием базы данных gnomAD и ClinVar. При анализе

также учитывались данные тестирования in silico с помощью программ PolyPhen-2, Mutation Taster, SIFT, PROVEAN, FATHMM, LIST. Варианты были выбраны на основе следующих критериев: локализация варианта в кодирующих участках (миссенс или нонсенс замены), замены сайтов сплайсинга с частотой редкого аллеля менее 1 %, отсутствие гомозигот (согласно данным gnomAD). При анализе также учитывались данные тестирования in silico с помощью выбранных программы и отбирались варианты, патогенность которых была предсказана как минимум в трех случаях. Варианты неопределенного значения и варианты с противоречивой интерпретацией (uncertain significance и Conflicting interpretations of pathogenicity согласно базе данных ClinVar) также были включены в анализ. Варианты с частотой встречаемости более 0,01 % и синонимичные варианты были исключены из анализа для аутосомно-доминантных заболеваний, как рекомендовано в руководстве по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования (2019) [17].

Поиск функционально-значимых замен проводился, в первую очередь, в генах, ассоциированных с внезапной сердечной смертью, синдромами нарушения ритма сердца, кардиомиопатиями.

Список проанализированных генов (таблица А.4 в приложении А) содержит гены:

– упомянутые в Консенсусе экспертов о состоянии генетического тестирования на сердечные заболевания, как связанные с LQTS, катехоламинергической полиморфной желудочковой тахикардией, синдромом Бругада, синдромом укороченного интервала QT (SQTS), нарушениями сердечной проводимости, ФП, синдромом слабости синусового узла (СССУ), ГКМП, ДКМП, аритмогенной кардиомиопатией [360]

– включенные в кардиологическую панель TruSight Cardio Sequencing Panel (Illumina, США).

– связанные по данным GeneReviews с LQTS, ДКМП и/или ГКМП, синдромом Бругада, нарушениями обмена липидов, ARVC, CPVT

– связанные с генетически обусловленными нарушениями метаболизма липопротеинов, о которых упоминается в рекомендациях по коррекции дислипидемий: модификация уровня липидов с целью уменьшения сердечно-сосудистого риска Европейского общества кардиологов (*LDLR, APOB, PCSK9, USF1, APOE, LPL, APOC2, APOA5, GPIHBP1, LMF1, ABCA1, LCAT, GPD1, APOC3*) [25] Включение в перечень исследуемых генов, ассоциированных с нарушениями липидного обмена, обусловлено тем фактом, что гиперлипидемия является второстепенным фактором риска внезапной сердечной смерти [13], в ряде исследований показано, что изменения липидного гомеостаза (повышенный уровень общего холестерина, триглицеридов, холестерина липопротеинов низкой плотности, пониженный уровень холестерина липопротеинов высокой плотности) ассоциированы с риском внезапной сердечной смерти [14-17]. И несмотря на то, что изменения в генах липидного обмена не могут непосредственно привести к внезапной сердечной смерти, но могут быть рассмотрены с точки зрения предрасполагающих к внезапной сердечной смерти состояний (атеросклероз, ишемическая болезнь сердца).

– кодирующие белки саркомера, которые входят в обязательное генетическое тестирование в рекомендациях по диагностике и лечению ГКМП Европейского общества кардиологов (*MYL3, TPM1, TNNI3, MYH7, MYBPC3*) [23]

– входящие в перечень генов ACMG SF v3.0 Американского колледжа медицинской генетики и геномики для сердечно-сосудистых состояний (катехоламинергическая полиморфная желудочковая тахикардия, ARVC, ДКМП, ГКМП, LQTS1 и 2, синдром Бругада) [43].

Для некоторых из выявленных вариантов (с небольшой глубиной прочтения) было проведено подтверждающее прямое автоматическое секвенирование. Для этого была проведена полимеразная цепная реакция по

оригинальным методикам, полученные продукты амплификации подвергали очистке от солей, не включившихся праймеров и дезоксинуклеотидтрифосфатов с помощью суспензии магнитных частиц КлинМаг ДНК (ЗАО Евроген, Москва). Секвенирование образцов осуществляли при помощи наборов BigDye® Terminator v3.1 (Applied Biosystems, США) методом капиллярного электрофореза на аппарате Hitachi 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США) с применением полимера POP-7. Анализ результатов секвенирования осуществляли с помощью программ SeqScape v.2.7, Sequence Scanner.

2.10 Метилирование CpG-островков отдельных генов с внезапной сердечной смертью (этап 5)

Дизайн исследования построен по принципу «случай-контроль». В группу случая отобрано 150 мужчин (средний возраст 46,7 ± 9,2 года) из группы внезапной сердечной смерти. В контрольную группу включено 150 мужчин (средний возраст 42,6 ± 1,2 года) умерших внезапно (методика подбора по возрасту 1:1), но не вследствие сердечно-сосудистой патологии, отобранных также из банка ДНК внезапной смерти. Подбор контрольной группы из банка ДНК лиц умерших внезапно и использование ДНК выделенной из ткани миокарда, как в группе внезапной сердечной смерти, так и в группе контроля продиктовано доказанной тканеспецифичностью метилирования ДНК [221].

Оценка статуса метилирования гена *ABCA1, HMGCR, F2RL3, CDKN2A* проведена методом метил-специфической полимеразной цепной реакции на бисульфит-конвертированной ДНК. Для бисульфитной конверсии образцов ДНК использованы наборы EZ DNA Methylation Kit (“Zymo research”, USA). Концентрация ДНК для бисульфитной конверсии была измерена на спектрофотометре Epoch (Bio-Tek Instruments, США) и доведена до значения 250 нг/мкл. Конверсия проведена в соответствии с протоколом фирмы производителя. Метилспецифическая ПЦР проведена в двух пробирках: с праймерами, специфичными к метилированному и неметилированному аллелю, с применением

откорректированных методик, описанных в исследовании Ghaznavi H. и соавторов (2018), Peng P. и соавторов (2014), Indumathi B., и соавторов (2014) [39, 167, 263] с последующим анализом фрагментов в 5 % полиакриламидном геле с окрашиванием бромистым этидием (EtBr) (таблица А.5 в приложении А).

Для оценки работоспособности систем и эффективности конверсии ДНК использованы наборы контролей (метилированной и неметилированной ДНК) Human Methylated & Non-methylated DNA Set (“Zymo research”, USA).

Полученные результаты статистически обработаны с помощью пакета программ SPSS 16.0. Сравнение групп по статусу метилирования выполнялось с помощью таблиц сопряжённости с использованием критерия хи-квадрат по Пирсону. В случае четырёхпольных таблиц применяли точный двусторонний критерий Фишера с поправкой Йетса на непрерывность. Относительный риск внезапной сердечной смерти вычисляли как отношение шансов с использованием точного двухстороннего критерия Фишера и критерия хи-квадрат по Пирсону. В качестве уровня значимости использован $p < 0,05$.

2.11 Финансирование исследовательской работы

Проведенная исследовательская работа выполнена в рамках следующих проектов:

1. Именная стипендия Правительства Новосибирской области для проведения перспективных научных исследований и разработок 2016–2017 гг.

2. Грант РФФИ мол_а «Исследование ассоциации новых молекулярно-генетических маркеров внезапной сердечной смерти выявленных методом секвенирования следующего поколения (NGS) в зарубежных исследованиях с внезапной сердечной смертью в российской популяции», номер проекта 16-34-00147, руководитель Иванова А.А., 2016–2017 гг.

3. Стипендия Президента Российской Федерации молодым ученым и аспирантам, осуществляющим перспективные научные исследования и

разработки по приоритетным направлениям модернизации российской экономики «Верификация новых молекулярно-генетических маркеров внезапной сердечной смерти, выявленных в ходе собственного полногеномного ассоциативного исследования», 2018–2020 гг.

4. Грант РФФИ и Правительства Новосибирской области (р_мол_а) «Изменение метилирования отдельных генов в ткани миокарда как фактор риска внезапной сердечной смерти у жителей города Новосибирска», номер проекта 19-415-543001, руководитель Иванова А.А., 2019–2021 гг.

5. Грант РФФИ офи_м «Изучение генетического вклада в развитие феномена внезапной сердечной смерти», номер проекта 17-29-06026, руководитель Максимов В.Н., 2018-2020 гг.

6. Грант Правительства Новосибирской области «Исследование новых молекулярно-генетических маркеров внезапной сердечной смерти, выявленных при анализе результатов полноэкзомного секвенирования» руководитель Иванова А.А., 2019 г.

7. Грант Правительства Новосибирской области «Верификация новых молекулярно-генетических маркеров внезапной сердечной смерти, выявленных по результатам полноэкзомного секвенирования», руководитель Иванова А.А., 2021 г.

8. Грант РФФИ Экспансия «Роль метилирования ДНК в развитии сердечно-сосудистых заболеваний, приводящих к внезапной сердечной смерти», номер проекта 20-115-50004, руководитель Иванова А.А., 2020–2021 гг.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Исследование ассоциации с внезапной сердечной смертью однонуклеотидных полиморфизмов, выявленных по результатам полногеномного аллелотипирования

В контрольной группе наблюдаемые частоты генотипов изучаемых однонуклеотидных полиморфизмов соответствуют ожидаемым частотам в соответствии с равновесием Харди-Вайнберга (таблица 7), кроме однонуклеотидного полиморфизма rs17797829, для которого критерий хи-квадрат выходит за границы уровня статистической значимости ($p < 0,05$).

Таблица 7 – Соответствие в контрольной группе наблюдаемых частот генотипов однонуклеотидных полиморфизмов равновесию Харди-Вайнберга

№	Однонуклеотидный полиморфизм	χ^2
1	rs34554140	0,98
2	rs6670279	0,009
3	rs6874185	3,39
4	rs10867772	3,6
5	rs4700290	1,3
6	rs75555045	0,26
7	rs12904699	3,53
8	rs7164665	0,01
9	rs71461059	0,5
10	rs6762529	0,61
11	rs62116755	0,78
12	rs12170546	0,14
13	rs16994849	1,54
14	rs78143315	0,08
15	rs6582147	2,43

Продолжение таблицы 7

№	Однонуклеотидный полиморфизм	χ^2
16	rs10010305	3,68
17	rs2136810	0,25
18	rs17797829	4,09
19	rs13246896	2,32
20	rs35089892	0,31
21	rs7172856	1,4
22	rs61999948	2,9

При разделении группы контроля по возрасту частоты генотипов варианта rs17797829 в группе лиц младше 50 лет соответствуют ожидаемым согласно равновесию Харди-Вайнберга (χ^2 = 0,24), а в группе лиц старше 50 лет критерий хи-квадрат выходит за границы уровня статистической значимости (χ^2 = 4,44), что может говорить о выбывании носителей определенного генотипа варианта с возрастом из популяции.

Согласно доступной научной литературе изучаемые однонуклеотидные полиморфизмы не были включены в какие-либо российские или зарубежные исследования.

3.1.1 Однонуклеотидный полиморфизм rs34554140

По частотам генотипов однонуклеотидного полиморфизма rs34554140 найдены статистически значимые различия между группой внезапной сердечной смерти и контрольной группой (p = 0,005): доля носителей генотипа AA в группе внезапной сердечной смерти (87,2 %) значимо больше по сравнению с контрольной группой (78,7 %) (AA vs AT + TT: ОШ = 1,85, 95 % ДИ 1,26–2,71, p = 0,002); доля носителей генотипа AT в группе внезапной сердечной смерти (12,0 %) значимо меньше по сравнению с контрольной группой (20,6 %) (AT vs AA + TT: ОШ = 0,53, 95 % ДИ 0,36–0,78, p = 0,001) (таблица 8, рисунок 4).

Таблица 8 – Частоты генотипов и аллелей rs34554140 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе

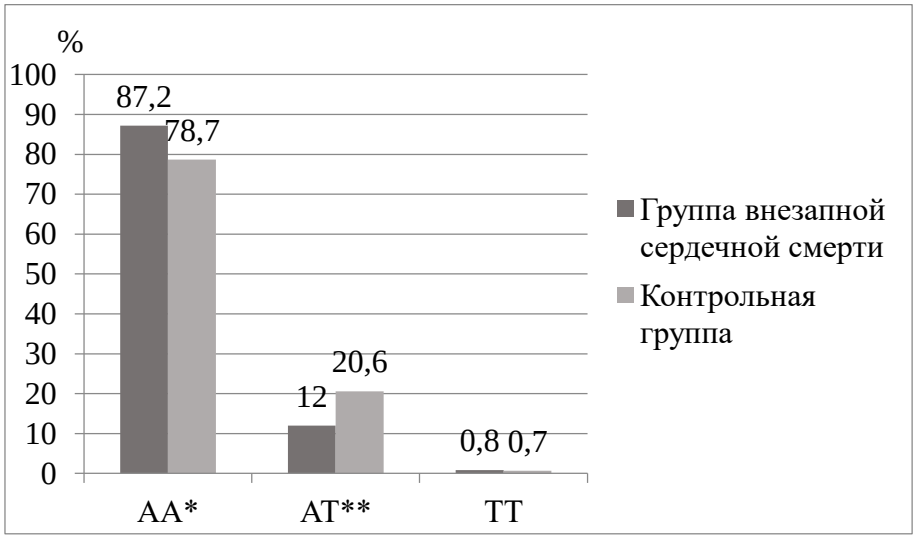
Группа	Генотип/аллель	Группа внезапной сердечной смерти		Контрольная группа		p
		n	%	n	%	
без разделения по полу и возрасту	AA*	334	87,2	321	78,7	0,005
	AT*	46	12,0	84	20,6	
	TT	3	0,8	3	0,7	
	A	714	93,2	726	89,0	0,04
	T	52	6,8	90	11,0	
до 50 лет	AA*	118	88,1	99	70,7	0,002
	AT*	15	11,2	39	27,9	
	TT	1	0,7	2	1,4	
	A	251	93,7	237	84,6	0,01
	T	17	6,3	43	15,4	
мужчины	AA*	230	87,1	227	78,0	0,016
	AT*	32	12,1	62	21,3	
	TT	2	0,8	2	0,7	
	A	492	93,2	516	88,7	0,009
	T	36	6,8	66	11,3	
женщины	AA*	91	92,9	84	80,0	0,023
	AT*	6	6,1	20	19,0	
	TT	1	1,0	1	1,0	
	A	188	95,9	188	89,5	0,021
	T	8	4,1	22	10,5	

Примечание: n – число индивидов, p – значимость различий, * указывает на статистически значимые различия при использовании модели «генотип 1 vs генотип 2 + генотип 3»

При разделении групп по полу и возрасту выявленные различия сохраняются в группе мужчин, женщин, лиц младше 50 лет ($p < 0,05$). В группе мужчин AA vs AT + TT: ОШ = 1,91, 95 % ДИ 1,21–3,01, p = 0,005; AT vs AA + TT:

ОШ = 0,51, 95 % ДИ 0,32–0,81, p = 0,005. В группе женщин AA vs AT + TT: ОШ = 3,25, 95 % ДИ 1,31–8,04, p = 0,008; AT vs AA + TT: ОШ = 0,28, 95 % ДИ 0,11–0,72, p = 0,006. В группе лиц младше 50 лет AA vs AT + TT: ОШ = 3,05, 95 % ДИ 1,62–5,78, p = 0,001; AT vs AA + TT: ОШ = 0,33, 95 % ДИ 0,17–0,63, p = 0,001. По частотам аллелей варианта rs34554140 также найдены статистически значимые различия: аллель A является аллелем риска внезапной сердечной смерти без разделения групп по полу и возрасту (ОШ = 1,7, 95 % ДИ 1,19–2,43, p = 0,04), полученная значимость сохраняется в группе мужчин, женщин, лиц в возрасте до 50 лет.

Однонуклеотидный полиморфизм rs34554140 (g.36759700A>T) локализован на 9 хромосоме, частота редкого аллеля T составляет около 0,11 для лиц европеоидной расы [289].



Примечание: * – AA vs AT + TT: ОШ = 1,85, 95 % ДИ 1,26–2,71, p = 0,002; ** – AT vs AA + TT: ОШ = 0,53, 95 % ДИ 0,36–0,78, p = 0,001.

Рисунок 4 – Частоты генотипов rs34554140 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе

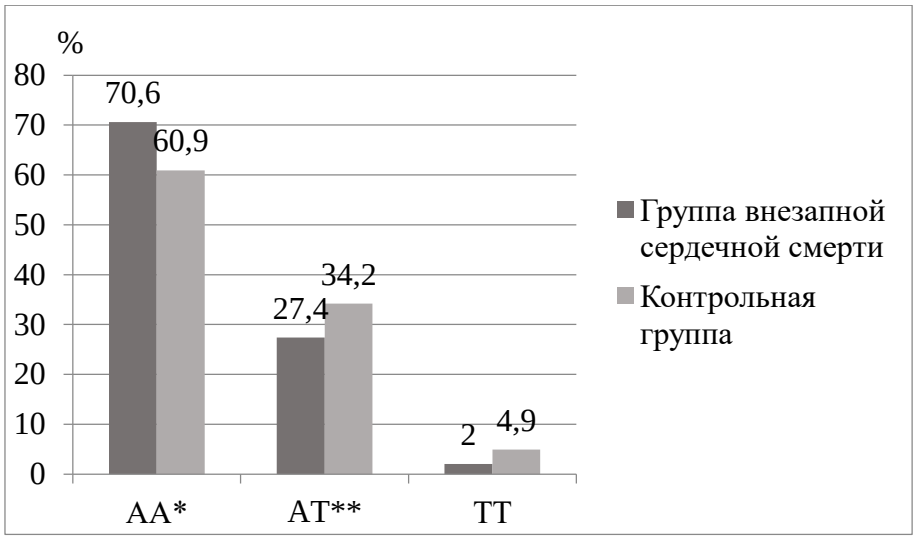
Полиморфизм rs34554140 расположен в межгенном пространстве, значимых в отношении развития сердечно-сосудистой патологии генов рядом с полиморфизмом – нет. Гены, локализованные рядом с полиморфизмом – ген *MELK* (maternal embryonic leucine zipper kinase), функция которого не известна, и ген *PAX5* (paired box 5), ассоциированный с развитием лимфом и локус LOC105376030. Согласно полученным данным частота редкого аллеля T в контрольной группе также составила 0,11, генотип AA полиморфизма является генотипом риска внезапной сердечной смерти, а генотип AT ассоциирован с протективным эффектом в ее отношении. При этом генотипы сохраняют свою ассоциацию с внезапной сердечной смертью как в группе мужчин, так и в группе женщин, а также лиц младше 50 лет. Ассоциации полиморфизма с какими-либо антропометрическими данными, данными биохимического или судебно-медицинского исследования найдено не было. Таким образом, нельзя на данном этапе исследования предположить механизм вклада полиморфизма в развитие внезапной сердечной смерти. Однако можно сделать вывод, что однонуклеотидный полиморфизм rs34554140 действительно является новым молекулярно-генетическим маркером внезапной сердечной смерти.

3.1.2 Однонуклеотидный полиморфизм rs6670279

По частотам генотипов однонуклеотидного полиморфизма rs6670279 найдены статистически значимые различия между группой внезапной сердечной смерти и контрольной группой (p = 0,005): доля носителей генотипа AA значимо больше в группе внезапной сердечной смерти (70,6 %) по сравнению с контрольной группой (60,9 %) (AA vs AT + TT: ОШ = 1,54, 95 % ДИ 1,15–2,06, p = 0,005); доля носителей генотипа AT в группе внезапной сердечной смерти (27,4 %) значимо меньше по сравнению с контрольной группой (34,2 %) (AT vs AA + TT: ОШ = 0,73, 95 % ДИ 0,54–0,98, p = 0,047) (рисунок 5).

При разделении групп по полу и возрасту выявленные различия сохраняются в группе мужчин (AT vs AA + TT: ОШ = 0,64, 95 % ДИ 0,44–0,94, p =

0,024), лиц старше 50 лет (AA vs AT + TT: ОШ = 2,01, 95 % ДИ 1,36–2,98, p = 0,0004; AT vs AA + TT: ОШ = 0,56, 95 % ДИ 0,38–0,84, p = 0,006), в группе мужчин старше 50 лет (AA vs AT + TT: ОШ = 2,03, 95 % ДИ 1,27–3,24, p = 0,004; AT vs AA + TT: ОШ = 0,57, 95 % ДИ 0,35–0,93, p = 0,027) (таблица 9).



Примечание: * – AA vs AT + TT: ОШ = 1,54, 95 % ДИ 1,15–2,06, p = 0,005; ** – AT vs AA + TT: ОШ = 0,73, 95 % ДИ 0,54–0,98, p = 0,047.

Рисунок 5 – Частоты генотипов rs6670279 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе

Частота аллеля A больше в группе внезапной сердечной смерти по сравнению с контрольной группой (ОШ = 2,75, 95 % ДИ 1,19–6,33, p = 0,021), выявленные различия сохраняются в группе мужчин, лиц старше 50 лет, мужчин старше 50 лет. Таким образом, аллель A варианта rs6670279 – аллель риска внезапной сердечной смерти.

В контрольной группе выявлена статистически значимая ассоциация однонуклеотидного полиморфизма rs6670279 с окружностью талии (p = 0,047 в тесте ANOVA). У носителей генотипа AA среднее значение окружности талии

равно 95,5 ± 1,4см, у носителей генотипа AT - 89,5 ± 1,4см, у носителей генотипа TT - 99,1 ± 8,9см. При разделении групп по полу выявленная ассоциация генотипов полиморфизма с окружностью талии не сохраняется.

Таблица 9 – Частоты генотипов и аллелей rs6670279 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе

Группа	Генотип/аллель	Группа внезапной сердечной смерти		Контрольная группа		p
		n	%	n	%	
без разделения по полу и возрасту	AA*	278	70,6	248	60,9	0,005
	AT*	108	27,4	139	34,2	
	TT	8	2,0	20	4,9	
	A	664	84,3	635	78,0	0,021
	T	124	15,7	179	22,0	
мужчины	AA	197	74,1	181	62,6	0,011
	AT*	63	23,7	94	32,5	
	TT	6	2,3	14	4,9	
	A	457	85,9	456	78,9	0,003
	T	75	14,1	122	21,1	
старше 50 лет	AA*	164	73,9	146	58,4	0,001
	AT*	52	23,4	88	35,2	
	TT	6	2,7	16	6,4	
	A	380	85,6	380	76,0	<0,001
	T	64	14,4	120	24,0	
мужчины старше 50 лет	AA*	118	75,2	106	59,9	0,01
	AT*	34	21,7	58	32,8	
	TT	5	3,1	13	7,3	
	A	270	86,0	270	76,3	0,002
	T	44	14,0	84	23,7	

Примечание: n – число индивидов, p – значимость различий, * указывает на статистически значимые различия при использовании модели «генотип 1 vs генотип 2 + генотип 3»

Найдена ассоциация генотипов полиморфизма rs6670279 с толщиной миокарда правого желудочка в группе внезапной сердечной смерти (таблица 10). У носителей генотипа AA толщина миокарда правого желудочка значимо меньше по сравнению с носителями генотипов TT и AT (p = 0,013 в тесте Манна-Уитни).

Таблица 10 – Толщина миокарда правого желудочка в зависимости от генотипа rs6670279

Генотип	Толщина миокарда правого желудочка Me (Q25-Q75), см
AA	0,4 (0,3–0,5)
AT + TT	0,5 (0,4–0,6)
Примечание: Me – медиана, Q25 – 25-й процентиль, Q75 – 75-й процентиль	

Однонуклеотидный полиморфизм rs6670279 (g.109945285T>A) локализован на 1 хромосоме, частота редкого аллеля T составляет около 0,23 для лиц европеоидной расы [295]. Полиморфизм расположен в межгенном пространстве, значимых в отношении развития сердечно-сосудистой патологии генов рядом с полиморфизмом не расположено. Гены, локализованные рядом с полиморфизмом – ген *CSF1* (colony stimulating factor 1), вовлеченный в развитие плаценты, и ген *AHCYL1* (adenosylhomocysteinase like 1), который возможно участвует в преобразовании S-аденозил-L-гомоцистеина в L-гомоцистеин и аденозин. Согласно полученным нами данным частота редкого аллеля T в контрольной группе составила 0,22, генотип AA полиморфизма является генотипом риска внезапной сердечной смерти, а генотип AT ассоциирован с протективным эффектом в ее отношении. При разделении групп по полу и возрасту выявленная ассоциация генотипов с внезапной сердечной смертью сохраняется в группе мужчин, лиц старше 50 лет и в группе мужчин старше 50 лет.

Выявлена ассоциация генотипов полиморфизма с окружностью талии в контрольной группе. У носителей генотипа AT, обладающего протективным эффектом в отношении внезапной сердечной смерти, окружность талии значимо

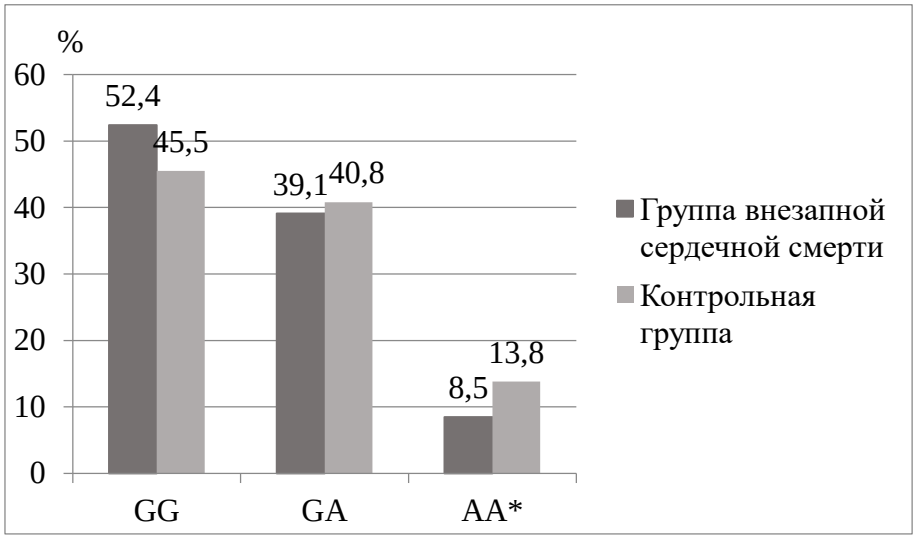
меньше, чем у носителей двух других генотипов. Но значимость величины окружности талии зависит от пола [369], поэтому был проведен анализ ассоциации окружности талии с генотипами полиморфизма отдельно в группе мужчин и группе женщин. В отдельных половых группах ассоциация подтверждена не была. То есть с большой долей вероятности ассоциация полиморфизма с окружностью талии является случайной находкой и не имеет какого-либо научного значения.

Найдена ассоциация полиморфизма rs6670279 с толщиной миокарда правого желудочка в группе внезапной сердечной смерти: у носителей генотипа AA, который является генотипом риска внезапной сердечной смерти, толщина миокарда правого желудочка значимо меньше по сравнению с носителями генотипов TT и AT. Сделать какое-либо предположение по связи толщины миокарда с риском внезапной сердечной смерти на данный момент не представляется возможным, так как фактором риска внезапной сердечной смерти может выступать гипертрофия миокарда [271], таким образом, полученная ассоциация не укладывается в систему существующих факторов риска внезапной сердечной смерти и, возможно, является случайной находкой и не имеет отношения к внезапной сердечной смерти. То есть однонуклеотидный полиморфизм rs6670279 действительно является новым молекулярно-генетическим маркером внезапной сердечной смерти, а ассоциация полиморфизма с толщиной миокарда правого желудочка требует дополнительной проверки в группе фокусной по изменению толщины миокарда правого желудочка.

3.1.3 Однонуклеотидный полиморфизм rs12904699

Однонуклеотидный полиморфизм rs12904699 (g.101802951A>G) принадлежит межгенному пространству между геном *OR4F6* (olfactory receptor family 4 subfamily F member 6, 15q26.3) и не охарактеризованным локусом LOC105371030. Частота редкого аллеля A полиморфизма в европеоидной популяции составляет около 0,35 [278]. При сравнении группы внезапной сердечной смерти и контрольной группы были найдены статистически значимые

различия по частотам генотипов полиморфизма rs12904699. В группе внезапной сердечной смерти доля генотипа AA однонуклеотидного полиморфизма rs12904699 статистически значимо меньше (8,5 %), чем в контрольной группе (13,8 %) (AA vs GG + GA: ОШ = 0,57, 95 % ДИ 0,36–0,89, p = 0,014) (Рисунок 6).



Примечание: * – AA vs GG + GA: ОШ = 0,57, 95 % ДИ 0,36–0,89, p = 0,014.

Рисунок 6 – Частоты генотипов rs12904699 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе

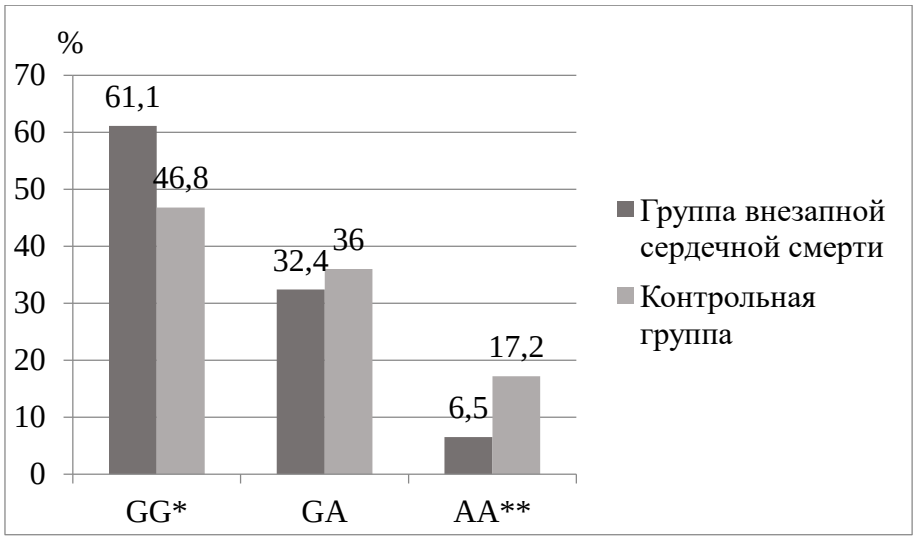
При разделении групп по полу и возрасту выявленные статистически значимые различия для генотипа AA сохраняются в группе женщин (AA vs GG + GA: ОШ = 0,34, 95 % ДИ 0,14–0,84, p = 0,02), группе старше 50 лет (AA vs GG + GA: ОШ = 0,43, 95 % ДИ 0,24–0,78, p = 0,015), группе мужчин старше 50 лет (AA vs GG + GA: ОШ = 0,46, 95 % ДИ 0,23–0,90, p = 0,023) (таблица 11). В подгруппе женщин умерших внезапной сердечной смертью частота генотипа GG полиморфизма rs12904699 статистически значимо больше (61,1 %) по сравнению с контрольной группой того же пола (46,8 %) (GG vs GA + AA: ОШ = 1,78, 95 % ДИ 1,04–3,05, p = 0,04) (рисунок 7).

Аллель G является аллелем риска внезапной сердечной смерти (ОШ = 1,33, 95 % ДИ 1,08–1,64, p = 0,008), статистически значимые различия по частотам аллелей сохраняются в группе женщин, лиц старше 50 лет, группе мужчин старше 50 лет.

Таблица 11 – Частоты генотипов и аллелей rs12904699 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе

Группа	Генотип/аллель	Группа внезапной сердечной смерти		Контрольная группа		p
		n	%	n	%	
без разделения по полу и возрасту	GG	216	52,4	185	45,5	0,026
	AG	161	39,1	166	40,8	
	AA*	35	8,5	56	13,8	
	G	593	72,0	536	65,8	0,008
	A	231	28,0	278	34,2	
старше 50 лет	GG	131	52,6	121	46,0	0,015
	AG	100	40,2	102	38,8	
	AA*	18	7,2	40	15,2	
	G	362	73,0	344	65,4	0,012
	A	136	27,0	182	34,6	
мужчины старше 50 лет	GG	84	48,8	74	41,3	0,05
	AG	74	43,0	76	42,5	
	AA*	14	8,2	29	16,2	
	G	242	70,3	224	62,6	0,031
	A	102	29,7	134	37,4	
женщины	GG*	66	61,1	52	46,8	0,024
	AG	35	32,4	40	36,0	
	AA*	7	6,5	19	17,2	
	G	167	77,3	144	64,9	0,004
	A	49	22,7	78	35,1	

Примечание: n – число индивидов, p – значимость различий, * указывает на статистически значимые различия при использовании модели «генотип 1 vs генотип 2 + генотип 3»



Примечание: * – GG vs GA + AA: ОШ = 1,78, 95 % ДИ 1,04–3,05, p = 0,04; ** – AA vs GG + GA: ОШ = 0,34, 95 % ДИ 0,14–0,84, p = 0,02.

Рисунок 7 – Частоты генотипов rs12904699 в группе женщин

Однонуклеотидный полиморфизм rs12904699 подтвердил свою роль молекулярно-генетического маркера внезапной сердечной смерти. Генотип AA полиморфизма rs12904699 ассоциирован с протективным эффектом в отношении внезапной сердечной смерти, а генотип GG полиморфизма является генотипом риска внезапной сердечной смерти в группе женщин.

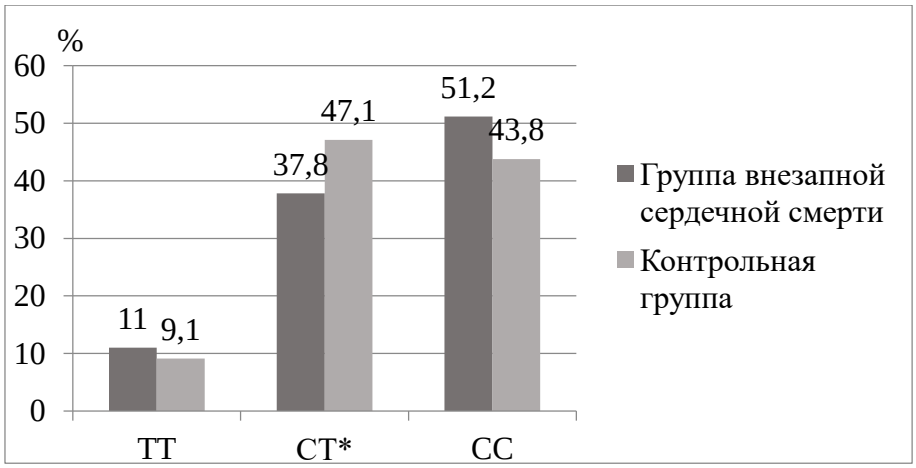
Кроме того, в группе внезапной сердечной смерти выявлена ассоциация генотипов полиморфизма rs12904699 с толщиной миокарда правого желудочка (p = 0,005). У носителей генотипа GA толщина миокарда правого желудочка значимо меньше по сравнению с носителями генотипов AA и GG (GA vs AA + GG) (таблица 12). Полученная ассоциация полиморфизма rs12904699 с толщиной миокарда правого желудочка вероятнее всего не связана с развитием внезапной сердечной смерти, а может быть ассоциирована с какими-либо другими заболевания сердца и сосудов, которые могут приводить к изменению толщины миокарда.

Таблица 12 – Толщина миокарда правого желудочка в группе внезапной сердечной смерти в зависимости от генотипа rs12904699

Генотип	Толщина миокарда правого желудочка Me (Q25–Q75), см
GA	0,4 (0,3–0,4)
AA + GG	0,5 (0,375–0,6)
Примечание: Me – медиана, Q25 – 25-й процентиль, Q75 – 75-й процентиль	

3.1.4 Однонуклеотидный полиморфизм rs6762529

По частотам генотипов и аллелей однонуклеотидного полиморфизма rs6762529 не найдено статистически значимых различий между группой внезапной сердечной смерти и контрольной группой (p > 0,05) (таблица 13). Статистически значимые различия по частотам генотипов полиморфизма обнаружены при разделении групп по возрасту: в возрастной группе старше 50 лет доля носителей гетерозиготного генотипа CT однонуклеотидного полиморфизма rs6762529 в группе внезапной сердечной смерти статистически значимо меньше (37,8 %) по сравнению с контрольной группой (47,1 %) (CT vs TT + CC: ОШ = 0,69, 95 % ДИ 0,48–0,97, p = 0,035) (рисунок 8).



Примечание: * – CT vs TT + CC: ОШ = 0,69, 95 % ДИ 0,48–0,97, p = 0,035.

Рисунок 8 – Частоты генотипов rs6762529 у лиц старше 50 лет

Найдены отличия по значению индекса атерогенности в контрольной группе в зависимости от генотипа однонуклеотидного полиморфизма rs6762529 (p = 0,006) (таблица 14). У носителей гетерозиготного генотипа CT индекс атерогенности значимо ниже по сравнению с носителями гомозиготных генотипов CC и TT. Выявленная ассоциация уровня атерогенности с генотипом полиморфизма rs6762529 сохраняется и в группе старше 50 лет (p = 0,016).

Однонуклеотидный полиморфизм rs6762529 (c.1654-29892T>C) локализован в интроне кодирующего белок гена NAALADL2 (N-acetylated alpha-linked acidic dipeptidase like 2, 3q26.31). Частота редкого аллеля T полиморфизма для европейской популяции составляет около 0,28 [268].

Таблица 13 – Частоты генотипов и аллелей rs6762529 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе

Группа	Генотип/аллель	Группа внезапной сердечной смерти		Контрольная группа		p
		n	%	n	%	
без разделения по полу и возрасту	TT	38	9,1	37	8,9	0,34
	CT	165	39,6	186	44,5	
	CC	214	51,3	195	46,7	
	T	241	28,9	260	31,1	0,34
	C	593	71,1	576	68,9	
старше 50 лет	TT	28	11,0	25	9,1	0,097
	CT*	96	37,8	129	47,1	
	CC	130	51,2	120	43,8	
	T	152	29,9	179	32,7	0,35
	C	356	70,1	369	67,3	

Примечание: n – число индивидов, p – значимость различий, * указывает на статистически значимые различия при использовании модели «генотип 1 vs генотип 2 + генотип 3»

Таблица 14 – Индекс атерогенности в контрольной группе в зависимости от генотипа rs6762529

Генотип	Индекс атерогенности Me (Q25–Q75)
TT + CC	3,06 (2,24–3,87)
CT	2,60 (2,04–3,32)
Примечание: Me – медиана, Q25 – 25-й процентиль, Q75 – 75-й процентиль	

Ген *NAALADL2* включает в себя 29 экзонов, размер гена насчитывает около 1,37 Mb. Показано, что в пределах гена находится точка разрыва для транслокации, ассоциированной с развитием синдрома Корнелии де Ланге - редкого синдрома нарушения развития [36]. Редкий аллель полиморфизма rs3914501 гена связан с развитием синдрома Корнелии де Ланге и болезни Кавасаки [183]. С болезнью Кавасаки также связан однонуклеотидный полиморфизм rs17531088 гена *NAALADL2* [35]. Интересно, что в состав фенотипических характеристик синдрома Корнелии де Ланге входят и пороки сердца (дефекты перегородок, стеноз легочной артерии, коарктация аорты) [98]. Тогда как синдром (болезнь) Кавасаки представляет собой системный васкулит новорожденных и детей [186]. Кроме того, однонуклеотидный полиморфизм rs3914501 гена *NAALADL2* по данным GWAS ассоциирован с поражением кишечника при болезни Бехчета. При этом снижение экспрессии гена *NAALADL2* при исследованиях как in vitro, так и in vivo вызывало усиление воспалительной реакции в кишечнике. В Японии полиморфизм rs62285902 гена *NAALADL2* найден как маркер болезни Крона по данным полногеномного ассоциативного исследования [186]. Обнаружено, что гиперэкспрессия гена *NAALADL2* при раке толстой кишки и простаты играет значимую роль в развитии и прогрессировании онкологического процесса [180]. Полиморфизм rs78943174 выявлен как ассоциированный с агрессивностью рака простаты, учитывавшейся по шкале Глисона [69]. По результатам полногеномного ассоциативного исследования на о. Тайвань полиморфизмы rs3914502 и rs2222447 гена *NAALADL2* выявлены как

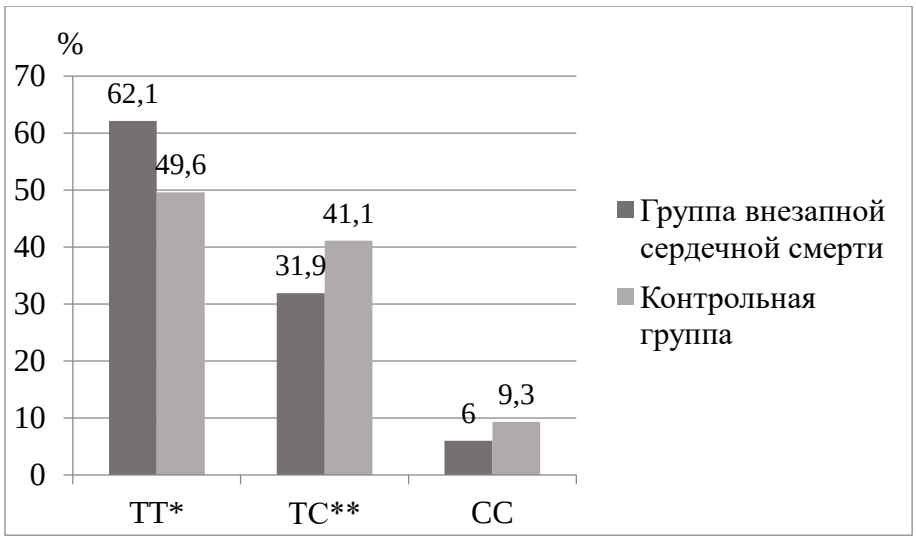
новые молекулярно-генетические маркеры расстройств аутистического спектра [161]. Уникальная делеция 3q26.31 размером 0,65 Mb, затрагивающая ген *NAALADL2*, была идентифицирована в семейном случае фенотипического синдрома делеции 22q11.2, но при отсутствии цитогенетического дефекта 22 хромосомы. Синдром делеции локуса 22q11.2 включает в себя разнообразные клинические проявления, включая синдром Ди Джорджи и велокардиофациальный синдром. Ключевые фенотипические характеристики синдрома включают поражение сердца, лицевые дизморфии (необычная форма ушей, длинная спинка носа с широкой верхней частью, микрогнатия, монголоидный разрез глаз), небно-глоточную недостаточность, расщелину неба. У лиц с наиболее распространенным фенотипом наблюдается Т-клеточный иммунодефицит и персистирующая гипокальциемия. Психиатрические нарушения более характерны для взрослого возраста. У пробанда с делецией 3q26.31 при фенотипической картине синдрома делеции 22q11.2 была выявлена микрогнатия, короткая глазная щель, трудности в обучении и задержка развития. Такой же цитогенетический дефект был выявлен у сибсов пробанда (сестра с двусторонней расщелиной верхней губы и неба, брат с врожденным пороком сердца) [168]. Таким образом, однонуклеотидные полиморфизмы гена *NAALADL2* и мутации, затрагивающие ген по данным зарубежных исследований, ассоциированы с различными патологиями, в том числе с дефектами сердца и кровеносных сосудов (синдром Корнелии де Ланге, синдром Кавасаки, делеция 3q26.31).

Согласно результатам проведенного исследования, однонуклеотидный полиморфизм rs6762529 гена *NAALADL2* подтвердил свою ассоциацию с внезапной сердечной смертью. Генотип CT полиморфизма является протективным в отношении внезапной сердечной смерти для лиц старше 50 лет. В контрольной группе выявлена ассоциация индекса атерогенности с однонуклеотидным полиморфизмом rs6762529: у носителей гетерозиготного генотипа CT значение индекса атерогенности значимо ниже по сравнению с носителями двух других генотипов. Выявленная закономерность сохраняется и в группе старше 50 лет, где

по результатам проведенного исследования генотип CT выявлен как протективный в отношении внезапной сердечной смерти. Таким образом, возможно, патогенетический механизм вклада однонуклеотидного полиморфизма rs6762529 в развитие внезапной сердечной смерти обусловлен изменениями липидного обмена, но для подтверждения данной гипотезы необходимо провести дополнительные исследования.

3.1.5 Однонуклеотидный полиморфизм rs12170546 гена *PARVB*

В группе внезапной сердечной смерти доля носителей генотипа TT полиморфизма rs12170546 гена *PARVB* статистически значимо больше (62,1 %), а генотипа TC значимо меньше (31,9 %), чем в контрольной группе (49,6 %, 41,1 %, соответственно) (TT vs TC + CC: ОШ = 1,66, 95 % ДИ 1,25–2,21, p = 0,001; TC vs TT + CC: ОШ = 0,67, 95 % ДИ 0,50–0,90, p = 0,009, соответственно) (рисунок 9, таблица 15).



Примечание: * – TT vs TC + CC: ОШ = 1,66, 95 % ДИ 1,25–2,21, p = 0,001; ** – TC vs TT + CC: ОШ = 0,67, 95 % ДИ 0,50–0,90, p = 0,009.

Рисунок 9 – Частоты генотипов rs12170546 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе

Таблица 15 – Частоты генотипов и аллелей rs12170546 гена *PARVB* в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе

Группа	Генотип/аллель	Группа внезапной сердечной смерти		Контрольная группа		p
		n	%	n	%	
без разделения по полу и возрасту	TT*	239	62,1	192	49,6	0,002
	TC*	123	31,9	159	41,1	
	CC	23	6,0	36	9,3	
	T	601	78,1	543	70,2	<0,001
	C	169	21,9	231	29,8	
мужчины	TT*	181	65,6	119	49,4	0,001
	TC*	80	29,0	99	41,1	
	CC	15	5,4	23	9,5	
	T	442	80,1	337	69,9	<0,001
	C	110	19,9	145	30,1	
Примечание: n – число индивидов, p – значимость различий, * указывает на статистически значимые различия при использовании модели «генотип 1 vs генотип 2 + генотип 3»						

При разделении групп по полу и возрасту данные различия сохраняются только в группе мужчин. В группе мужчин для генотипа TT отношение шансов составляет 1,95 (95 % ДИ 1,37–2,78, p = 0,0002), а для генотипа TC – 0,59 (95 % ДИ 0,41-0,84, p = 0,004).

В группе внезапной сердечной смерти частота аллеля T больше по сравнению с контрольной группой (ОШ = 1,51, 95 % ДИ 1,2–1,9, p < 0,001), то есть аллель T варианта rs12170546 гена *PARVB* – аллель риска внезапной сердечной смерти. Выявленные различия сохраняются в группе мужчин.

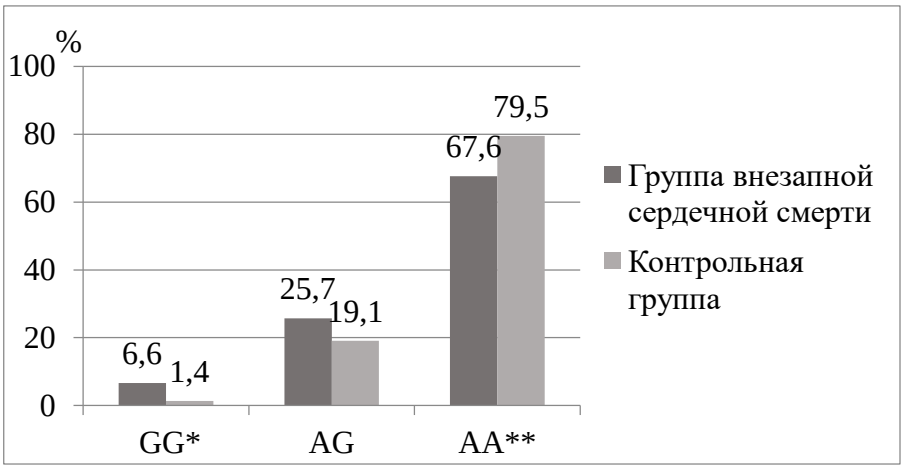
Однонуклеотидный полиморфизм rs12170546 локализован в интроне гена *PARVB* (c.112 + 2002T>C), частота редкого аллеля C в популяции составляет около 0,35. Ген *PARVB* (parvin beta, 22q13.31) кодирует β-парвин, являющийся частью актинсвязывающих протеинов, которые играют роль в организации цитоскелета и клеточной адгезии [238]. Белок PARVB состоит из 364 аминокислот.

Альтернативный сплайсинг гена *PARVB* приводит к синтезу двух протеинов, состоящих из 350 и 313 аминокислот [308]. В отличие от α- парвина и γ-парвина β-парвин экспрессируется преимущественно в сердце и скелетной мускулатуре [239]. В селезенке и тромбоцитах экспрессируются в основном короткие формы β-парвина [308]. Изменения в гене играют роль в развитии рестеноза после проведения чрескожного коронарного вмешательства. Показана ассоциация с рестенозом для ряда полиморфизмов гена *PARVB*, наиболее статистически значимая ассоциация выявлена для полиморфизма rs139107 ($p < 0,001$). Экстраклеточное ремоделирование, миграция и пролиферация гладкомышечных клеток сосудов считаются ключевыми процессами в развитии рестеноза. А β-парвин является модулятором клеточной выживаемости и играет важную роль в ангиогенезе [239]. Белок PARVB также имеет отношение к опухолевой супрессии [238]. Полученные нами результаты позволяют сделать вывод, что генотип TT полиморфизма rs12170546 гена *PARVB* является генотипом риска внезапной сердечной смерти, а генотип TC обладает протективным эффектом в ее отношении. При этом при разделении групп по полу и возрасту различия сохраняются в группе мужчин, что говорит о наибольшем развитии эффекта генотипов полиморфизма в отношении внезапной сердечной смерти именно в группе мужчин.

3.1.6 Однонуклеотидный полиморфизм rs16994849 гена *PLCB1*

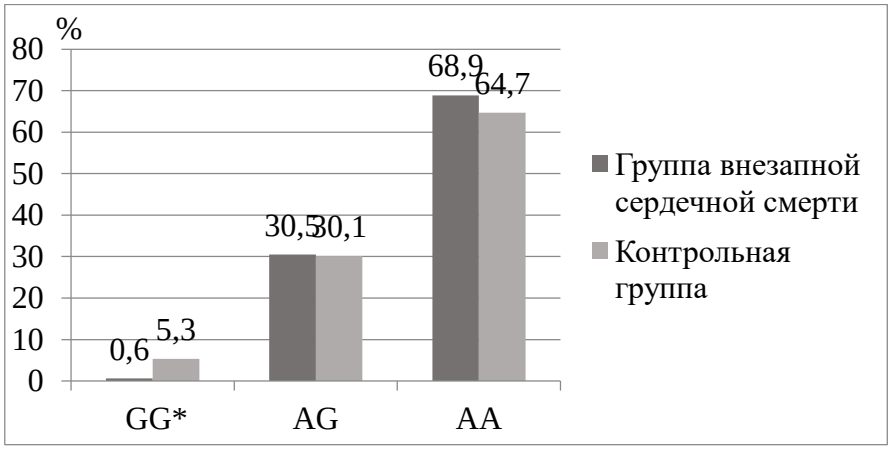
В возрастной категории до 50 лет в группе внезапной сердечной смерти частота носителей генотипа GG полиморфизма rs16994849 гена *PLCB1* статистически значимо выше (6,6 %), а генотипа AA ниже (67,6 %) по сравнению с контрольной группой (1,4 %, 79,5 %, соответственно) (GG vs AG + AA: ОШ = 4,92, 95 % ДИ 1,01–23,20, $p = 0,032$; AA vs GG + AG: ОШ = 0,54, 95 % ДИ 0,31–0,93, $p = 0,029$, соответственно) (таблица 16, рисунок 10). В группе мужчин старше 50 лет умерших внезапной сердечной смертью доля носителей генотипа GG полиморфизма rs16994849 гена *PLCB1* значимо меньше (0,6 %), чем в

контрольной группе (5,3 %) соответствующего пола и возраста (GG vs AG + AA: ОШ = 0,11, 95 % ДИ 0,01–0,91, p = 0,024) (рисунок 11). В группе лиц до 50 лет аллель G является генотипом риска для внезапной сердечной смерти (ОШ = 2,0, 95 % ДИ 1,21–3,16, p = 0,006).



Примечание: * – GG vs AG + AA: ОШ = 4,92, 95 % ДИ 1,01–23,20, p = 0,032; ** – AA vs GG + AG: ОШ = 0,54, 95 % ДИ 0,31–0,93, p = 0,029.

Рисунок 10 – Частоты генотипов rs16994849 в группе младше 50 лет



Примечание: * – GG vs AG + AA: ОШ = 0,11, 95 % ДИ 0,01–0,91, p = 0,024.

Рисунок 11 – Частоты генотипов rs16994849 в группе мужчин старше 50 лет

Таблица 16 – Частоты генотипов и аллелей rs16994849 гена *PLCB1* в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе

Группа	Генотип/аллель	Группа внезапной сердечной смерти		Контрольная группа		p
		n	%	n	%	
без разделения по полу и возрасту	GG	11	2,9	11	2,9	0,32
	AG	106	28,0	88	23,3	
	AA	261	69,0	279	73,8	
	G	128	16,9	110	14,6	0,21
	A	628	83,1	646	85,4	
младше 50 лет	GG*	9	6,6	2	1,4	0,025
	AG	35	25,7	27	19,1	
	AA*	92	67,6	112	79,5	
	G	53	19,5	31	11,0	0,06
	A	219	80,5	251	89,0	
мужчины старше 50 лет	GG*	1	0,6	7	5,3	0,047
	AG	50	30,5	40	30,1	
	AA	113	68,9	86	64,7	
	G	52	15,9	54	20,3	0,16
	A	276	84,1	212	79,7	

Примечание: n – число индивидов, p – значимость различий, * указывает на статистически значимые различия при использовании модели «генотип 1 vs генотип 2 + генотип 3»

Однонуклеотидный полиморфизм rs16994849 локализован в интроне гена *PLCB1* (c.247-118080A>G), частота редкого аллеля G в европейской популяции составляет около 0,14. Ген *PLCB1* (phospholipase C beta 1, 20p12.3) кодирует одну из четырех изоформ фермента фосфолипазы бета, который катализирует образование инозитол 1,4,5-трифосфата и диацилглицерола из фосфатидилинозитол 4,5-бифосфата. Эта реакция играет важную роль во внутриклеточной передаче многих экстраклеточных сигналов [248]. Гиперэкспрессия гена вызывает развитие гипертрофии кардиомиоцитов. В ряде крупных исследований показана связь вариантов гена *PLCB1* с уровнем

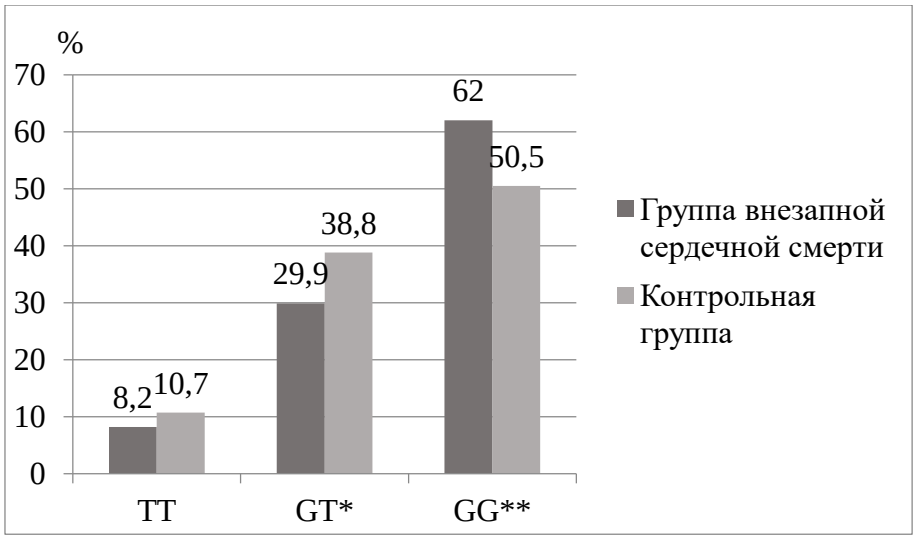
аполипопротеина B, холестерина, ЛПВП в крови, индексом массы тела и инсультом. Варианты в гене *PLCB1* связывают с предрасположенностью к образованию аневризм коронарных артерий у пациентов с синдромом Кавасаки [159].

Согласно результатам исследования выявлено, что генотип GG полиморфизма rs16994849 гена *PLCB1* является генотипом риска, а генотип AA обладает протективным эффектом в отношении внезапной сердечной смерти для лиц младше 50 лет. В группе мужчин старше 50 лет генотип GG полиморфизма связан с протективным эффектом в отношении внезапной сердечной смерти. Таким образом, полученные нами данные об ассоциации генотипа GG полиморфизма с внезапной сердечной смертью являются достаточно противоречивыми, что может быть связано с недостаточно большими по численности возрастными группами. Поэтому для того, чтобы сделать однозначные выводы об ассоциации полиморфизма rs16994849 гена *PLCB1* с внезапной сердечной смертью необходимо провести дополнительное исследование с увеличением численности групп.

3.1.7 Однонуклеотидный полиморфизм rs6582147

По частотам генотипов однонуклеотидного полиморфизма rs6582147 обнаружены статистически значимые различия между группой внезапной сердечной смерти и контрольной группой (таблица 17). Доля носителей генотип GT однонуклеотидного полиморфизма rs6582147 значимо меньше в группе внезапной сердечной смерти (29,9 %) по сравнению с контрольной группой (38,8 %) (GT vs GG + TT: ОШ = 0,671, 95 % ДИ 0,496–0,909, p = 0,011), а доля носителей генотипа GG полиморфизма значимо больше в группе внезапной сердечной смерти (62,0 %) по сравнению с контрольной группой (50,5 %) (GG vs GT + TT: ОШ = 1,60, 95 % ДИ 1,20–2,14, p = 0,002) (рисунок 12). Статистическая значимость полученных результатов сохраняется в старшей возрастной группе (старше 50 лет) (GT vs GG + TT: ОШ = 0,60, 95 % ДИ 0,41–0,88, p = 0,011; GG vs

GT + TT: ОШ = 1,73, 95 % ДИ 1,19–2,51, p = 0,005), группе мужчин (GT vs GG + TT: ОШ = 0,63, 95 % ДИ 0,44–0,91, p = 0,013; GG vs GT + TT: ОШ = 1,92, 95 % ДИ 1,29–2,57, p = 0,001), группе мужчин старше 50 лет (GT vs GG + TT: ОШ = 0,55, 95 % ДИ 0,34–0,88, p = 0,014; GG vs GT + TT: ОШ = 1,93, 95 % ДИ 1,23–3,01, p = 0,005).



Примечание: * – GT vs GG + TT: ОШ = 0,671, 95 % ДИ 0,496–0,909, p = 0,011; ** – GG vs GT + TT: ОШ = 1,60, 95 % ДИ 1,20–2,14, p = 0,002.

Рисунок 12 – Частоты генотипов rs6582147 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе

Частота аллеля G больше в группе внезапной сердечной смерти по сравнению с контрольной группой (ОШ = 1,43, 95 % ДИ 1,14–1,81, p = 0,002). Значимость различий сохраняется в группе лиц старше 50 лет, мужчин, группе мужчин старше 50 лет.

Кроме того, в группе внезапной сердечной смерти найдена ассоциация полиморфизма rs6582147 с толщиной межжелудочковой перегородки (p = 0,013)

(таблица 18). У носителей генотипа GT толщина межжелудочковой перегородки больше, чем у носителей генотипа TT и GG (p = 0,004).

Таблица 17 – Частоты генотипов и аллелей rs6582147 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе

Группа	Генотип/аллель	Группа внезапной сердечной смерти		Контрольная группа		p
		n	%	n	%	
без разделения по полу и возрасту	TT	29	8,2	43	10,7	0,007
	GT*	106	29,9	156	38,8	
	GG*	220	62,0	203	50,5	
	T	164	23,1	242	30,1	0,002
	G	546	76,9	562	69,9	
старше 50 лет	TT	17	8,0	25	9,9	0,014
	GT*	61	28,8	102	40,3	
	GG*	134	63,2	126	49,8	
	T	95	22,4	152	30,0	0,009
	G	329	77,6	354	70,0	
мужчины	TT	20	7,8	29	10,4	0,012
	GT*	72	28,0	106	38,1	
	GG*	165	64,2	143	51,5	
	T	112	21,8	164	29,5	0,004
	G	402	78,2	392	70,5	
мужчины старше 50 лет	TT	12	7,7	18	10,5	0,015
	GT*	41	26,5	68	39,5	
	GG*	102	65,8	86	50,0	
	T	65	21,0	104	30,2	0,007
	G	245	79,0	240	69,8	

Примечание: n – число индивидов, p – значимость различий, * указывает на статистически значимые различия при использовании модели «генотип 1 vs генотип 2 + генотип 3»

Таблица 18 – Толщина межжелудочковой перегородки в группе внезапной сердечной смерти в зависимости от генотипа rs6582147

Генотип	Толщина межжелудочковой перегородки Me (Q25–Q75), см
GT	1,5 (1,2–1,875)
TT + GG	1,25 (1,1–1,475)
Примечание: Me – медиана, Q25 – 25-й процентиль, Q75 – 75-й процентиль.	

Однонуклеотидный вариант rs6582147 (g.73366734T>G) локализован на 12 хромосоме. Полиморфизм расположен в межгенном пространстве, рядом с ним нет генов, имеющих отношение к кардиальной патологии, только неохарактеризованные локусы. Частота редкого аллеля T в популяции составляет около 0,20. Согласно результатам проведенного подтверждающего исследования «случай-контроль», генотип GT однонуклеотидного полиморфизма rs6582147 связан с протективным эффектом в отношении внезапной сердечной смерти, а генотип GG полиморфизма ассоциирован с повышенным риском внезапной сердечной смерти. При этом полученная ассоциация при разделении групп по полу и возрасту сохраняется в группе старше 50 лет, группе мужчин и группе мужчин старше 50 лет. Кроме того, в группе внезапной сердечной смерти найдена ассоциация генотипа GT полиморфизма rs6582147 с большей толщиной межжелудочковой перегородки по сравнению с носителями генотипов TT и GG. Толщина межжелудочковой перегородки не является единственным и строго специфичным критерием какого-либо патологоанатомического диагноза, поэтому делать вывод об ассоциации полиморфизма rs6582147 с ГКМП или гипертрофией миокарда другого генеза пока преждевременно, тем более учитывая тот факт, что лица с патологоанатомическим диагнозом «гипертрофическая кардиомиопатия» были исключены из группы внезапной сердечной смерти.

На данный момент полученные ассоциации, вероятнее всего, не имеют отношения к внезапной сердечной смерти, а являются случайной находкой. Так как, например, гипертрофия миокарда является фактором риска внезапной

сердечной смерти [10], а согласно полученным данным генотип GT однонуклеотидного полиморфизма rs6582147 является одновременно и протективным в отношении внезапной сердечной смерти, и ассоциирован с большей толщиной межжелудочковой перегородки

3.1.8 Однонуклеотидный полиморфизм rs2136810

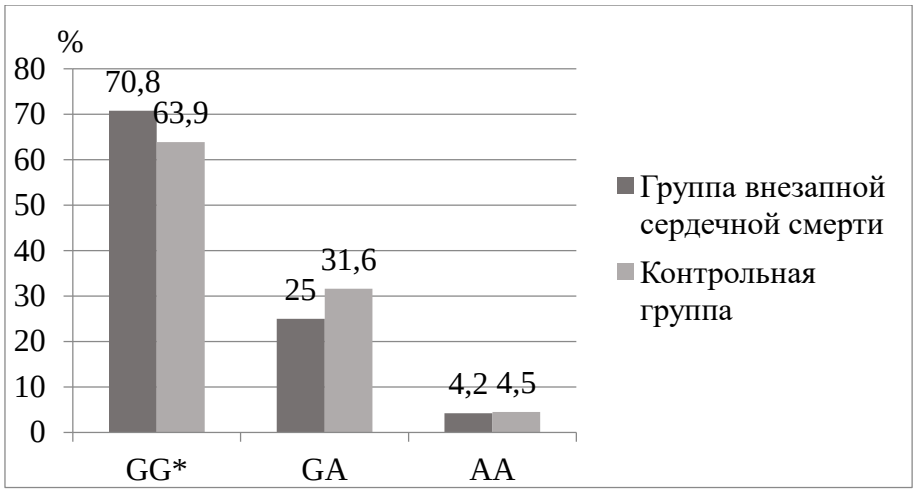
Частота генотипа GG однонуклеотидного полиморфизма rs2136810 выше в группе внезапной сердечной смерти (70,8 %) по сравнению с контрольной группой (63,9 %) (GG vs GA + AA: ОШ = 1,37, 95 % ДИ 1,005–1,87, p = 0,049) (таблица 19, рисунок 13).

Таблица 19 – Частоты генотипов и аллелей rs2136810 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе

Группа	Генотип/аллель	Группа внезапной сердечной смерти		Контрольная группа		p
		n	%	n	%	
без разделения по полу и возрасту	GG*	255	70,8	239	63,9	0,126
	GA	90	25,0	118	31,6	
	AA	15	4,2	17	4,5	
	G	600	83,3	596	79,7	0,081
	A	120	16,7	152	20,3	
старше 50 лет	GG	158	72,8	155	64,6	0,115
	GA*	49	22,6	75	31,3	
	AA	10	4,6	10	4,2	
	G	365	84,1	385	80,2	0,142
	A	69	15,9	95	19,8	

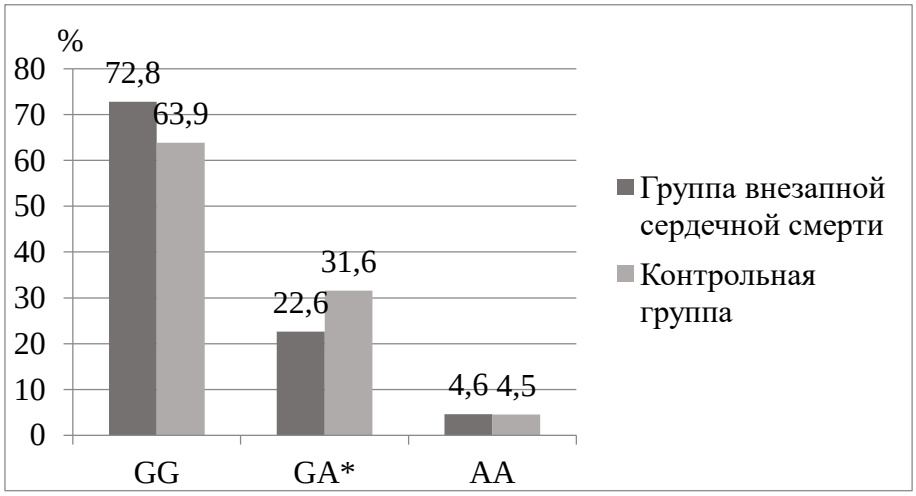
Примечание: n – число индивидов, p – значимость различий, * указывает на статистически значимые различия при использовании модели «генотип 1 vs генотип 2 + генотип 3»

У лиц старше 50 лет частота генотипа GA в группе внезапной сердечной смерти значимо ниже (22,6 %), чем в контрольной группе (31,3 %) (GA vs GG + AA: ОШ = 0,64, 95 % ДИ 0,42–0,98, p = 0,045) (рисунок 14).



Примечание: * – GG vs GA + AA: ОШ = 1,37, 95 % ДИ 1,005–1,87, p = 0,049.

Рисунок 13 – Частоты генотипов rs2136810 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе



Примечание: * – GA vs GG + AA: ОШ = 0,64, 95 % ДИ 0,42–0,98, p = 0,045.

Рисунок 14 – Частоты генотипов rs2136810 в группе старше 50 лет

У носителей генотипа AA полиморфизма rs2136810 в группе контроля индекс массы тела больше, чем у носителей генотипа GG и GA (p = 0,011) (таблица 20).

Таблица 20 – Индекс массы тела в контрольной группе в зависимости от генотипа rs2136810

Генотип	Индекс массы тела, Me (Q25–Q75), кг/м^2
AA	30,02 (28,26–32,40)
GG + GA	26,42 (23,74–29,91)
Примечание: Me – медиана, Q25 – 25-й процентиль, Q75 – 75-й процентиль	

Однонуклеотидный полиморфизм rs2136810 (g.36007345A>G) локализован в гене *ARAP2* (4p14). Ген *ARAP2* (ArfGAP with RhoGAP domain, ankyrin repeat and PH domain 2, 4p14) кодирует протеин centaurin-delta-1, который играет роль в локальной адгезии и регуляции динамики местной адгезии [51]. Данных о связи мутаций, полиморфизмов гена с какой-либо кардиальной патологией нет.

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

3.1.9 Однонуклеотидный полиморфизм rs10010305

Носители генотипа CT однонуклеотидного полиморфизма rs10010305 статистически чаще встречаются в группе мужчин умерших внезапной сердечной смертью (18,8 %) по сравнению с контрольной группой мужчин (11,6 %) (CT vs TT + CC: ОШ = 1,77, 95 % ДИ 1,09–2,90, p = 0,027) (рисунок 15).

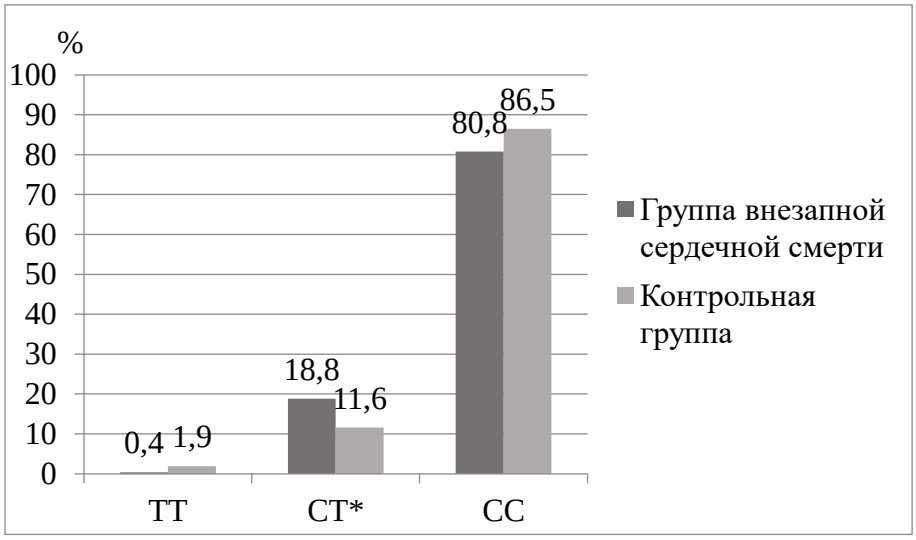
Данная закономерность также значима в группе лиц старшего возраста (старше 50 лет) (CT vs TT + CC: ОШ = 1,72, 95 % ДИ 1,04–2,85, p = 0,041) и в группе мужчин старше 50 лет (CT vs TT + CC: ОШ = 2,17, 95 % ДИ 1,11–4,22, p = 0,023) (таблица 21).

Таблица 21 – Частоты генотипов и аллелей rs10010305 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе

Группа	Генотип/аллель	Группа внезапной сердечной смерти		Контрольная группа		p
		n	%	n	%	
без разделения по полу и возрасту	TT	1	0,3	6	1,5	0,05
	CT	68	19,1	56	14,4	
	CC	287	80,6	326	84,0	
	T	70	9,8	68	8,8	0,531
	C	642	90,2	708	91,2	
старше 50 лет	TT	0	0	4	1,6	0,022
	CT*	42	19,4	31	12,3	
	CC	175	80,6	218	86,2	
	T	42	9,7	39	7,7	0,296
	C	392	90,3	467	92,3	
мужчины	TT	1	0,4	5	1,9	0,021
	CT*	49	18,8	30	11,6	
	CC	210	80,8	224	86,5	
	T	51	9,8	40	7,7	0,272
	C	469	90,2	478	92,3	
мужчины старше 50 лет	TT	0	0	3	1,9	0,018
	CT*	29	18,1	15	9,3	
	CC	131	81,9	144	88,9	
	T	29	9,1	21	6,5	0,241
	C	291	90,9	303	93,5	

Примечание: n – число индивидов, p – значимость различий, * указывает на статистически значимые различия при использовании модели «генотип 1 vs генотип 2 + генотип 3»

Однонуклеотидный вариант rs10010305 (g.12045670C>T) локализован на 4 хромосоме в межгенном пространстве, рядом с полиморфизмом лежат неохарактеризованные локусы. Частота редкого аллеля T в популяции составляет около 0,1.



Примечание: * – CT vs TT + CC: ОШ = 1,77, 95 % ДИ 1,09–2,90, p = 0,027.

Рисунок 15 – Частоты генотипов rs10010305 в группе мужчин

Генотип CT однонуклеотидного полиморфизма rs10010305 является генотипом риска внезапной сердечной смерти в группе мужчин, группе лиц старшего возраста и группе мужчин старше 50 лет.

3.1.10 Однонуклеотидный полиморфизм rs17797829

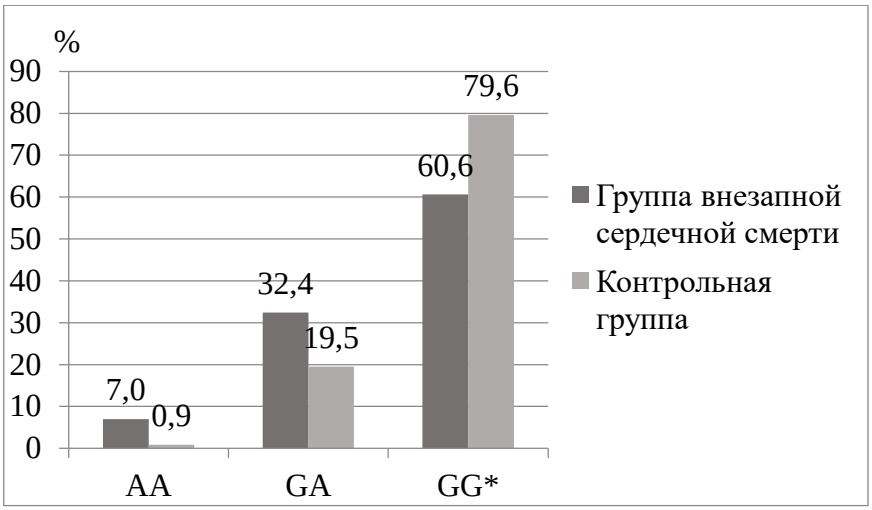
В группе женщин вероятность встретить носительниц генотипа GG однонуклеотидного полиморфизма rs17797829 меньше в группе внезапной сердечной смерти (60,6 %) по сравнению с контрольной группой (79,6 %) (GG vs AA + GA: ОШ = 0,39, 95 % ДИ 0,20–0,76, p = 0,007) (рисунок 16, таблица 22). В группе женщин старше 50 лет кроме статистической значимости по частотам генотипа GG (GG vs AA + GA: ОШ = 0,38, 95 % ДИ 0,17–0,84, p = 0,016) зафиксировано статистически значимое различие по частотам генотипа AA (AA

vs GA + GG: ОШ = 2,74, 95 % ДИ 2,18–3,45, p = 0,02): в группе внезапной сердечной смерти частота генотипа AA (8,0 %) значимо больше, чем в контрольной группе (0) (рисунок 17). В группе женщин и группе женщин старше 50 лет аллель A является аллелем риска внезапной сердечной смерти (ОШ = 2,55, 95 % ДИ 1,43–4,53, p = 0,002; ОШ = 2,84, 95 % ДИ 1,42–5,67, p = 0,004, соответственно).

Таблица 22 – Частоты генотипов и аллелей rs17797829 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе

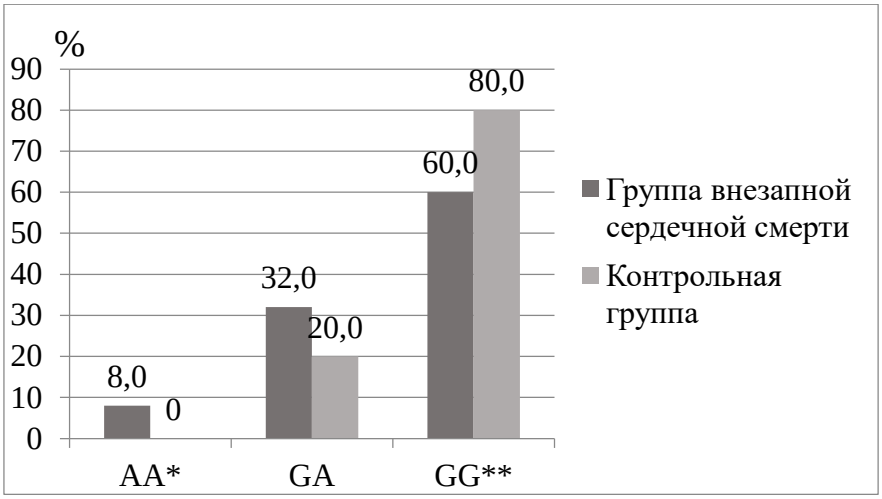
Группа	Генотип /аллель	Группа внезапной сердечной смерти		Контрольная группа		p
		n	%	n	%	
без разделения по полу и возрасту	AA	12	3,4	11	2,8	0,25
	GA	87	24,9	79	20,2	
	GG	251	71,7	302	77,0	
	A	111	15,9	101	12,9	0,102
	G	587	84,1	683	87,1	
женщины	AA	5	7,0	1	,9	0,06
	GA	23	32,4	22	19,5	
	GG*	43	60,6	90	79,6	
	A	33	23,2	24	10,6	0,02
	G	109	76,8	202	89,4	
женщины старше 50 лет	AA*	4	8,0	0	0	0,07
	GA	16	32,0	16	20,0	
	GG*	30	60,0	64	80,0	
	A	24	24,0	16	10,0	0,04
	G	76	76,0	144	90,0	

Примечание: n – число индивидов, p – значимость различий, * указывает на статистически значимые различия при использовании модели «генотип 1 vs генотип 2 + генотип 3»



Примечание: * – GG vs AA + GA: ОШ = 0,39, 95 % ДИ 0,20–0,76, p = 0,007

Рисунок 16 – Частоты генотипов rs17797829 в группе женщин



Примечание: * – AA vs GA + GG: ОШ = 2,74, 95 % ДИ 2,18–3,45, p = 0,02; ** – GG vs AA + GA: ОШ = 0,38, 95 % ДИ 0,17–0,84, p = 0,016.

Рисунок 17 – Частоты генотипов rs17797829 в группе женщин старше 50 лет

В группе внезапной сердечной смерти отмечено статистически значимое различие между носителями разных генотипов полиморфизма rs17797829 по

массе сердца (p = 0,042). У носителей генотипа AA масса сердца значимо меньше (299,2 ± 31,79г) по сравнению с носителями генотипов GA и GG (420,25 ± 105,95г).

Полиморфизм rs17797829 локализован в межгенном пространстве 4 хромосомы, рядом с полиморфизмом локализован ген *KIAA0232* (4p16.1), варианты которого по данным полногеномного ассоциативного исследования ассоциированы с количеством тромбоцитов [162] и ген *TBC1D14* (TBC1 domain family member 14).

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

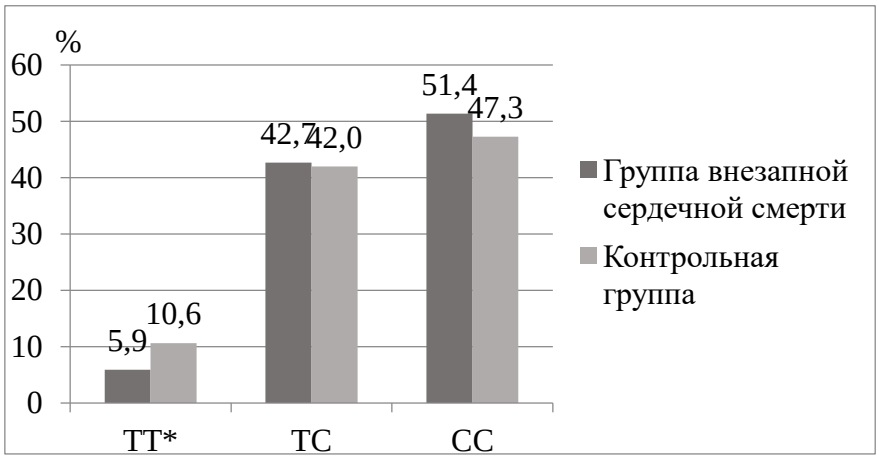
3.1.11 Однонуклеотидный полиморфизм rs35089892 гена *CAMK2B*

По частотам генотипов полиморфизма rs35089892 гена *CAMK2B* выявлены статистически значимые различия между группами (таблица 23). В контрольной группе частота носителей генотипа TT значимо больше (10,6 %), чем в группе внезапной сердечной смерти (5,9 %) (TT vs TC + CC: ОШ = 0,52, 95 % ДИ 0,31–0,89, p = 0,018) (рисунок 18). При разделении групп по полу и возрасту различия сохраняются в группе старше 50 лет (TT vs TC + CC: ОШ = 0,43, 95 % ДИ 0,22–0,86, p = 0,020): генотип TT полиморфизма обладает протективным эффектом в отношении внезапной сердечной смерти, с наибольшим развитием эффекта в старшей возрастной группе (после 50 лет).

Таблица 23 – Частоты генотипов и аллелей rs35089892 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе

Группа	Генотип/аллель	Группа внезапной сердечной смерти		Контрольная группа		p
		n	%	n	%	
без разделения по полу и возрасту	TT*	23	5,9	40	10,6	0,05
	TC	167	42,7	158	42,0	
	CC	201	51,4	178	47,3	
	T	213	27,2	238	31,6	0,064
	C	569	72,8	514	68,4	
старше 50 лет	TT*	13	5,6	27	11,9	0,05
	TC	96	41,0	85	37,6	
	CC	125	53,4	114	50,4	
	T	122	26,1	139	30,8	0,125
	C	346	73,9	313	69,2	

Примечание: n – число индивидов, p – значимость различий, * указывает на статистически значимые различия при использовании модели «генотип 1 vs генотип 2 + генотип 3»



Примечание: * – TT vs TC + CC: ОШ = 0,52, 95 % ДИ 0,31–0,89, p = 0,018.

Рисунок 18 – Частоты генотипов rs35089892 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе

Однонуклеотидный полиморфизм rs35089892 локализован в интроне гена *CAMK2B* (c.161-6196C>T), частота редкого аллеля A около 0,155.

Ген *CAMK2B* (calcium/calmodulin dependent protein kinase II beta, 7p13) кодирует бета субъединицу кальций/кальмодулинзависимой протеинкиназы II, члена семейства серин/треонинпротеинкиназ и подсемейства Ca^{2+} /кальмодулинзависимых протеинкиназ. В клетках млекопитающих данная протеинкиназа состоит и четырех цепей: альфа, бета, гамма, дельта. Ген *CAMK2B* кодирует бета цепь фермента. Различные изоформы бета цепи связывают с разной клеточной локализацией и различной степенью взаимодействия с кальмодулином [81]. Полиморфизмы гена *CAMK2B*, не были ранее изучены в отношении какой-либо сердечно-сосудистой патологии. Однако известно, что кальций/кальмодулинзависимая протеинкиназа II играет роль в развитии ССЗ, а именно ФП, сердечной недостаточности [5, 117]. 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 ретикулюме. 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 ретикулюма посредством сердечных рианодиновых рецепторов (RyR2). Повышение уровня цитоплазматических ионов кальция позволяет произойти сердечному сокращению в момент систолы. Диастолическое уменьшение ионов кальция связано с их возвращением в саркоплазматический ретикулюм 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) [180]. Таким образом, кальций/кальмодулинзависимая протеинкиназа II играет значимую роль в нормальной работе сердца, а изменения в ее функционировании могут привести к развитию сердечной патологии, в первую очередь нарушений ритма сердца. Полученные результаты свидетельствуют об ассоциации одного из полиморфизмов гена, кодирующего бета цепь кальций/кальмодулинзависимой протеинкиназы II, с внезапной сердечной смертью.

3.1.12 Однонуклеотидный полиморфизм rs61999948

Доля мужчин носителей генотипа TT однонуклеотидного полиморфизма rs61999948 в группе внезапной сердечной смерти (6,3 %) статистически значимо меньше, чем доля мужчин носителей генотипа TT в группе контроля (12,6 %) (TT vs CT + CC: ОШ = 0,47, 95 % ДИ 0,26–0,85, p = 0,011) (таблица 24). Полученная значимость сохраняется в группе лиц младше 50 лет (TT vs CT + CC: ОШ = 0,34, 95 % ДИ 0,16–0,74, p = 0,007), в группе мужчин младше 50 лет (TT vs CT + CC: ОШ = 0,19, 95 % ДИ 0,06–0,57, p = 0,002). Для лиц младше 50 лет доля носителей генотипа CC rs61999948 статистически значимо больше в группе внезапной сердечной смерти (59,0 %) по сравнению с контрольной группой (42,6 %) (CC vs TT + CT: ОШ = 1,94, 95 % ДИ 1,21–3,12, p = 0,006) (рисунок 19). Выявленная ассоциация генотипа CC с внезапной сердечной смертью сохраняется и в группе мужчин младше 50 лет (CC vs TT + CT: ОШ = 2,51, 95 % ДИ 1,45–4,34, p = 0,001). Аллель C в группе лиц младше 50 лет – аллель риска внезапной сердечной смерти

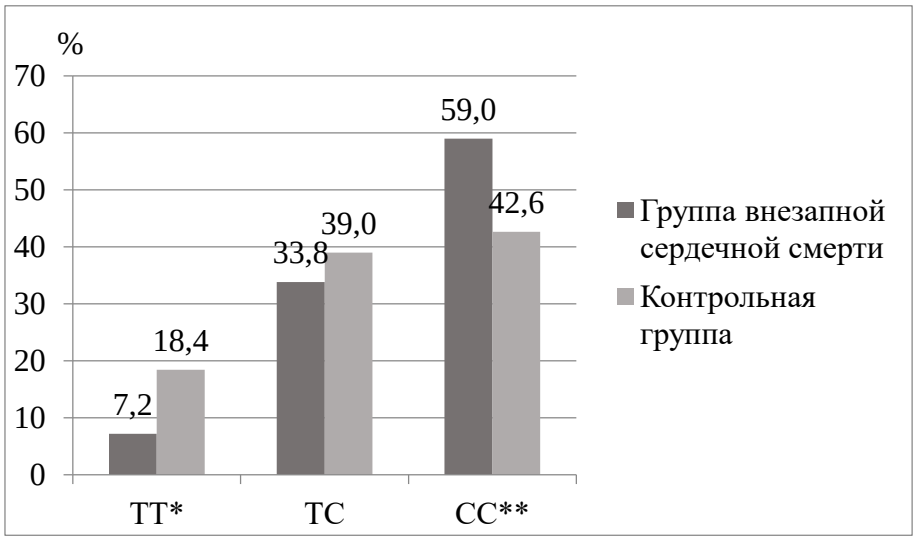
(ОШ = 1,93, 95 % ДИ 1,34–2,77, p = 0,001). Выявленная значимость сохраняется для мужчин и мужчин младше 50 лет.

Таблица 24 – Частоты генотипов и аллелей rs61999948 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе

Группа	Генотип/аллель	Группа внезапной сердечной смерти		Контрольная группа		p
		n	%	n	%	
без разделения по полу и возрасту	TT	35	8,8	52	12,5	0,182
	CT	157	39,3	165	39,7	
	CC	208	52,0	199	47,8	
	T	227	28,4	269	32,3	0,085
	C	573	71,6	563	67,7	
младше 50 лет	TT*	10	7,2	26	18,4	0,004
	CT	47	33,8	55	39,0	
	CC*	82	59,0	60	42,6	
	T	67	24,1	107	37,9	0,001
	C	211	75,9	175	62,1	
мужчины	TT*	17	6,3	38	12,6	0,024
	CT	106	39,3	121	40,2	
	CC	147	54,4	142	47,2	
	T	140	25,9	197	32,7	0,013
	C	400	74,1	405	67,3	
мужчины младше 50 лет	TT*	4	3,9	20	17,7	<0,001
	CT	33	32,0	46	40,7	
	CC*	66	64,1	47	41,6	
	T	41	19,9	86	38,1	<0,001
	C	165	80,1	140	61,9	

Примечание: n – число индивидов, p – значимость различий, * указывает на статистически значимые различия при использовании модели «генотип 1 vs генотип 2 + генотип 3»

В группе внезапной сердечной смерти выявлена статистически значимая ассоциация однонуклеотидного полиморфизма rs61999948 с атеросклерозом по данным судебно-медицинского исследования. В группе без признаков атеросклеротического поражения коронарных сосудов и аорты доля носителей генотипа ТТ значимо больше (13,5 %), чем в группе лиц с атеросклеротическим поражением коронарных сосудов и аорты (5,7 %) (ОШ = 2,57, 95 % ДИ 1,25–5,27, p = 0,011).



Примечание: * – ТТ vs СТ + СС: ОШ = 0,34, 95 % ДИ 0,16–0,74, p = 0,007; ** – СС vs ТТ + СТ: ОШ = 1,94, 95 % ДИ 1,21–3,12, p = 0,006.

Рисунок 19 – Частоты генотипов rs61999948 в группе лиц младше 50 лет

Однонуклеотидный полиморфизм rs61999948 (g.23870050 C>T) относится к межгенному пространству 15 хромосомы между неохарактеризованным локусом и геном *NDN* (necdin, MAGE family member), имеющим отношение к развитию синдрома Прадера-Вилли. Частота редкого аллеля Т для европейской популяции составляет около 0,25 [294]. По результатам верифицирующего исследования подтверждена ассоциация полиморфизма rs61999948 с внезапной сердечной смертью: генотип ТТ полиморфизма является протективным в отношении

внезапной сердечной смерти в группе мужчин, лиц младше 50 лет, группе мужчин младше 50 лет; генотип CC полиморфизма ассоциирован с повышенным риском внезапной сердечной смерти в группе младше 50 лет, группе мужчин младше 50 лет. В группе внезапной сердечной смерти найдена ассоциация генотипа TT полиморфизма с атеросклерозом: для носителей генотипа TT риск развития атеросклероза значимо ниже по сравнению с носителями двух других генотипов. Известно, что во взрослой популяции лидирующей причиной развития внезапной сердечной смерти является ишемическая болезнь сердца. В патогенезе ишемической болезни сердца играют роль многие факторы, в том числе и нарушения липидного обмена. Нарушение липидного гомеостаза с формированием гиперхолестеринемии, гипертриглицеридемии ведет к развитию атеросклероза, являющегося субстратом ишемической болезни сердца и внезапной сердечной смерти [294]. Таким образом, вероятно, механизм реализации вклада генотипа TT в феномен внезапной сердечной смерти связан с защитной ролью в отношении развития атеросклероза, но данная гипотеза требует дальнейших исследований и подтверждения.

3.1.13 Однонуклеотидные полиморфизмы rs6874185, rs10867772, rs4700290, rs75555045, rs7164665, rs71461059, rs62116755, rs78143315, rs13246896, rs7172856

Не обнаружено статистически значимых различий по частотам генотипов и аллелей rs6874185, rs10867772, rs4700290, rs75555045, rs7164665, rs71461059, rs62116755, rs78143315, rs13246896, rs7172856 между группой внезапной сердечной смерти и контрольной группой ($p > 0,05$) (таблица 25), в том числе при разделении групп по полу и возрасту.

Однонуклеотидный полиморфизм rs6874185 (g.176716663C>T) локализован на 5 хромосоме между неохарактеризованным локусом и геном *TSPAN17* (tetraspanin 17), функция которого пока неизвестна. Частота редкого аллеля T составляет около 0,25 для лиц европеоидной расы [297]. Согласно полученным данным частота редкого аллеля T в контрольной группе составила 0,19.

Таблица 25 – Частоты генотипов и аллелей rs6874185, rs10867772, rs4700290, rs75555045, rs7164665, rs71461059, rs62116755, rs78143315, rs13246896, rs7172856 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе

№	Однонуклеотидный полиморфизм	Генотип/аллель	Группа внезапной сердечной смерти		Контрольная группа		p
			n	%	n	%	
1	rs6874185	TT	15	3,4	9	2,3	0,65
		CT	151	34,2	133	34,3	
		CC	275	62,4	246	63,4	
		T	181	20,5	151	19,5	0,67
		C	701	79,5	625	80,5	
2	rs10867772	AA	58	14,8	63	15,7	0,65
		TA	178	45,3	171	41,9	
		TT	157	39,9	173	42,4	
		A	294	37,4	297	36,5	0,72
		T	492	62,6	517	63,5	
3	rs4700290	AA	172	47,4	180	46,2	0,94
		AG	160	44,1	177	45,4	
		GG	31	8,5	33	8,4	
		A	504	69,4	537	68,8	0,82
		G	222	30,6	243	31,2	
4	rs75555045	TT	3	0,8	3	0,8	0,95
		CT	54	14,5	54	13,7	
		CC	316	84,7	337	85,5	
		T	60	8,0	60	7,6	0,78
		C	686	92,0	728	92,4	
5	rs7164665	TT	327	78	331	76,1	0,21
		TC	77	18,4	95	21,8	
		CC	15	3,6	9	2,1	
		T	731	87,2	757	87,0	0,94
		C	107	12,8	113	13,0	

Продолжение таблицы 25

№	Однонуклеотидный полиморфизм	Генотип/аллель	Группа внезапной сердечной смерти		Контрольная группа		p
			n	%	n	%	
6	rs71461059	AA	3	0,7	4	0,9	0,83
		GA	74	16,9	76	18	
		GG	361	82,4	343	81,1	
		A	80	9,1	84	9,9	0,62
		G	796	90,9	762	90,1	
7	rs62116755	TT	18	4,6	14	3,8	0,81
		CT	109	28,2	103	27,7	
		CC	260	67,2	255	68,5	
		T	145	18,7	131	17,6	0,60
		C	629	81,3	613	82,4	
8	rs78143315	AA	1	0,3	1	0,3	0,80
		GA	38	9,8	32	8,4	
		GG	349	89,9	347	91,3	
		A	40	5,2	34	4,5	0,55
		G	736	94,8	726	95,5	
9	rs13246896	AA	212	55,4	196	56,3	0,97
		AT	138	36,0	123	35,4	
		TT	33	8,6	29	8,3	
		A	562	73,4	515	74,0	0,81
		T	204	26,6	181	26,0	
10	rs7172856	AA	0	0	0	0	0,66
		GA	44	10,1	45	11,1	
		GG	393	89,9	360	88,9	
		A	44	5,0	45	5,6	0,66
		G	830	95,0	765	94,4	

Примечание: n – количество человек, p – значимость различий

Однонуклеотидный полиморфизм rs10867772 (g.81557229T>A) локализован на 9 хромосоме. Частота редкого аллеля A полиморфизма для европейской популяции составляет около 0,36 [238]. Наиболее близко расположенным геном к полиморфизму rs10867772 является ген *TLE1* (TLE family member 1, transcriptional corepressor), для которого связь с сердечно-сосудистой патологией не изучалась [352].

Однонуклеотидный полиморфизм rs4700290 (g.58466221A>G) локализован на 5 хромосоме. Частота редкого аллеля G для европейской популяции составляет около 0,34 [292]. Полиморфизм локализован в межгенном участке между генами *PLK2* (polo like kinase 2) и *GAPT* (GRB2 binding adaptor protein, transmembrane) [145, 249]. Plk2 индуцирует апоптоз и гибель клеток в ответ на ишемическое, реперфузионное повреждение во время операций на сердце [250]. Также Plk2 выступает в качестве координатора клеточной пролиферации и дифференцировки в отношении кардиальных клеток предшественников [251].

Однонуклеотидный полиморфизм rs75555045 (c.490-2677C>T) принадлежит гену *SCG5* (secretogranin V, 15q13.3) [304]. Ген *SCG5* кодирует секретируемый шаперон (нейроэндокринный белок 7B2), который препятствует агрегации других секретируемых протеинов, включая протеины, ассоциированные с нейродегенеративными и метаболическими заболеваниями. Нейроэндокринный белок 7B2 наиболее известен в связи с его ролью в переноске и активации прогормона конвертазы 2, кодируемого геном *PCSK2* [306]. Фосфорилирование нейроэндокринного белка 7B2 ингибирует его функцию шаперона, снижает активацию прогормона конвертазы 2 [236]. Ген экспрессируется во многих тканях, но преимущественно в головном мозге, надпочечниках, толстой кишке, яичках, поджелудочной железе [306]. Частота редкого аллеля T полиморфизма rs75555045 гена *SCG5* в европеоидной популяции около 0,0736 [304].

Однонуклеотидный полиморфизм rs7164665 (g.78661577T>C) локализован на 15 хромосоме, принадлежит к одному из интронов некодирующего РНК локуса LOC112268142. Частота редкого аллеля C для европейской популяции варьирует от 0,09 до 0,15 [299].

Однонуклеотидный полиморфизм rs71461059 (g.17615282G>A) локализован на 12 хромосоме. Частота редкого аллеля A полиморфизма для европейской популяции составляет около 0,1 [298].

Однонуклеотидный полиморфизм rs62116755 (g.16071334C>T) локализован в интроне гена *GACAT3*. Частота редкого аллеля T в европейской популяции составляет около 12 %. Ген *GACAT3* (gastric cancer associated transcript 3, 2p24.3) не является протеинкодирующим геном, его продуктом является транскрипт, ассоциированный с раком желудка [144]. Длинные некодирующие РНК играют важную роль в возникновении и развитии онкологических заболеваний. Длина таких транскриптов составляет более 200 нуклеотидов, они регулируют экспрессию генов на разных уровнях [275]. Показана связь транскрипта, кодируемого геном *GACAT3* с размером опухоли, метастазированием и стадией по классификации TNM у пациентов с раком желудка. Однако роль GACAT3 в патогенезе данной нозологии пока остается не известной [236].

Однонуклеотидный полиморфизм rs78143315 локализован в интроне гена *PDCD6IP* (c.209+3156G>A). Частота редкого аллеля A в европейской популяции составляет около 4 %. Ген *PDCD6IP* (programmed cell death 6 interacting protein, 3p22.3) кодирует протеин, который играет роль в цитокинезе, формировании внутриполостных эндосом. Гиперэкспрессия гена может блокировать апоптоз [240]. Ген *PDCD6IP* относят к генам онкологической предрасположенности [47].

Однонуклеотидный полиморфизм rs13246896 локализован в интроне гена *HDAC9* (c.2313+10619A>T), частота редкого аллеля T около 0,21. 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 [174]. HDAC9 связывается с транскрипционным фактором MEF26, подавляя его активность и с транскрипционным фактором TRIM29, изменяя его связь с p53 [311]. 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 [252]. Известные полиморфизмы гена связаны с ишемической болезнью сердца, ишемическим острым нарушением мозгового кровообращения (ОНМК). Показано, что однонуклеотидные полиморфизмы rs2389995 и rs2240419 ассоциированы с ОНМК ишемического генеза в исследовании случай-контроль в Китае [255]. Носители аллеля A полиморфизма rs2240419 имеют больший риск острого коронарного синдрома, чем носители аллеля G [252]. 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 [62, 175].

Полиморфизм rs7172856 (g.101254948G>A) принадлежит к не кодирующему РНК локусу LOC107984727. Частота редкого аллеля A полиморфизма для европейской популяции составляет около 0,06 [300].

Согласно полученным результатам, однонуклеотидные полиморфизмы rs6874185, rs10867772, rs4700290, rs75555045, rs7164665, rs71461059, rs62116755, rs78143315, rs13246896, rs7172856 не ассоциированы с внезапной сердечной смертью. То есть однонуклеотидные полиморфизмы rs6874185, rs10867772, rs4700290, rs75555045, rs7164665, rs71461059, rs62116755, rs78143315, rs13246896, rs7172856 не являются молекулярно-генетическими маркерами внезапной сердечной смерти. Полученный отрицательный результат еще раз подтверждает необходимость проверки результатов исследований, выполненных новыми молекулярно-генетическими методами, в подтверждающих исследованиях с использованием рутинных методик молекулярно-генетического исследования.

Таким образом, по результатам первого этапа научно-исследовательской работы, были выявлены однонуклеотидные варианты, ассоциированные с внезапной сердечной смертью. Некоторые варианты (rs6874185, rs10867772, rs4700290, rs75555045, rs7164665, rs71461059, rs62116755, rs78143315, rs13246896, rs7172856) не подтвердили свою ассоциацию с внезапной сердечной смертью, несмотря на то, что по результатам полногеномного аллелотипирования они с большой долей вероятности могли быть новыми молекулярно-генетическими маркерами внезапной сердечной смерти. Все однонуклеотидные варианты, включенные в первый этап работы, по данным доступной научной литературы не были изучены в отношении связи с каким-либо заболеванием или состоянием, поэтому сопоставить полученные результаты с данными мировых или российских исследований не представляется возможным.

По итогам проведенного исследования с повышенным риском внезапной сердечной смерти ассоциированы: генотип AA полиморфизмов rs34554140 и rs6670279, генотип TT полиморфизма rs12170546 гена *PARVB*, генотип GG однонуклеотидного полиморфизма rs6582147, генотип GG полиморфизма rs2136810 гена *ARAP2*. С протективным эффектом в отношении внезапной сердечной смерти ассоциированы: генотип AT полиморфизмов rs34554140 и rs6670279, генотип TC полиморфизма rs12170546 гена *PARVB*, генотип GT однонуклеотидного полиморфизма rs6582147, генотип AA полиморфизма rs12904699 гена OR4F6, генотип TT полиморфизма rs35089892 гена *CAMK2B*.

Для лиц младше 50 лет генотип GG полиморфизма rs16994849 гена *PLCB1* является генотипом риска внезапной сердечной смерти, а генотип AA обладает протективным эффектом в отношении внезапной сердечной смерти. Для лиц старше 50 лет с протективным эффектом в отношении внезапной сердечной смерти ассоциирован генотип GA полиморфизма rs2136810 гена *ARAP2*, генотип CT полиморфизма rs6762529 гена *NAALADL2*. В группе мужчин старше 50 лет генотип GG полиморфизма rs16994849 гена *PLCB1* полиморфизма связан с протективным эффектом в отношении внезапной сердечной смерти.

В группе женщин генотипом риска внезапной сердечной смерти является генотип GG полиморфизма rs12904699 гена OR4F6; генотип GG однонуклеотидного полиморфизма rs17797829 является протективным в отношении. В группе женщин старше 50 лет кроме генотипа GG полиморфизма rs17797829 с внезапной сердечной смертью ассоциирован генотип AA полиморфизма rs17797829, который является генотипом риска внезапной сердечной смерти.

Генотип CT однонуклеотидного полиморфизма rs10010305 является генотипом риска внезапной сердечной смерти в группе мужчин, лиц старше 50 лет и мужчин старше 50 лет.

Генотип TT полиморфизма rs61999948 является протективным в отношении внезапной сердечной смерти в группе мужчин, лиц младше 50 лет, группе мужчин младше 50 лет; генотип CC полиморфизма ассоциирован с повышенным риском внезапной сердечной смерти в группе младше 50 лет, группе мужчин младше 50 лет. Для носителей генотипа TT риск развития атеросклероза значимо ниже по сравнению с носителями двух других генотипов.

У носителей гетерозиготного генотипа CT полиморфизма rs6762529 гена NAALADL2 значение индекса атерогенности значимо ниже по сравнению с носителями двух других генотипов.

3.1.14 Анализ ассоциации комбинаций изученных полиморфизмов с внезапной сердечной смертью

Проведена попытка оценить ассоциацию с внезапной сердечной смертью найденных рисковых полиморфизмов не только независимо друг от друга, но и совместно. Первоначально была оценена связь протеинов, кодируемых генами, в которых расположены рисковые полиморфизмы с использованием платформы STRING (https://string-db.org). Согласно данным платформы, белки, кодируемые генами *OR4F6*, *NAALADL2*, *PARVB*, *PLCB1*, *ARAP2*, *CAMK2B*, в которых локализована часть из рисковых полиморфизмов не связаны друг с другом. Остальные из рисковых полиморфизмов на данный момент принадлежат

межгенным пространствам: белковые продукты генов, расположенных рядом с исследуемыми полиморфизмами, также не связаны друг с другом.

На 15 хромосоме расположены два рисковых полиморфизма rs12904699 и rs61999948, на 4 хромосоме – rs2136810, rs10010305, rs17797829. Поэтому на следующем этапе была проверена ассоциация с внезапной сердечной смертью именно этих сочетаний полиморфизмов.

В случае полиморфизмов rs12904699 и rs61999948 использование таблицы сопряженности с включением девяти возможных сочетаний генотипов полиморфизмов друг с другом не выявило статистически значимых различий между группами ($p > 0,05$).

В случае полиморфизмов rs2136810 и rs10010305, rs2136810 и rs17797829, использование таблицы сопряженности с включением возможных сочетаний генотипов полиморфизмов друг с другом не выявило статистически значимых различий между группами ($p > 0,05$). В случае полиморфизмов rs10010305 и rs17797829 при использовании таблицы сопряженности с включением девяти возможных сочетаний генотипов полиморфизмов найдены различия, стремящиеся к уровню статистической значимости ($p = 0,089$). В группе внезапной сердечной смерти количество умерших с комбинацией рисковых генотипов полиморфизма rs10010305 (CT) и rs17797829 (AA) значимо больше (1,26 %) по сравнению с контрольной группой (0 %) ($p = 0,049$, ОШ = 2,14, 95 % ДИ 1,97–2,32). Важно отметить, что ассоциация данной комбинации полиморфизмов с риском внезапной сердечной смерти получена на общей группе, без разделения по полу и возрасту. Хотя предыдущие данные показали ассоциацию rs10010305 с внезапной сердечной смертью в группе мужчин, лиц старше 50 лет, мужчин старше 50 лет, а rs17797829 с внезапной сердечной смертью в группе женщин старше 50 лет.

Следующим шагом анализа комбинаций стал анализ комбинаций генотипов риска полиморфизмов друг с другом в случае, если ассоциация генотипа с риском внезапной сердечной смерти была получена для общей группы (без разделения по полу и возрасту). Таким образом, было отобрано 5 генотипов риска: генотип AA

(rs34554140), AA (rs6670279), TT (rs12170546 гена *PARVB*), GG (rs6582147), GG (rs2136810 гена *ARAP2*). Проведен анализ генотипов попарно, результаты представлены в таблице 26.

Таблица 26 – Анализ комбинации рисковых генотипов полиморфизмов друг с другом

Генотип, риск внезапной сердечной смерти	AA rs34554140 (ОШ = 1,85, 95 % ДИ 1,26–2,71)	AA rs6670279 (ОШ = 1,54, 95 % ДИ 1,15–2,06)	TT rs12170546 (ОШ = 1,66, 95 % ДИ 1,25–2,21)	GG rs6582147 (ОШ = 1,60, 95 % ДИ 1,20–2,14)	GG rs2136810 (ОШ = 1,38, 95 % ДИ 1,005–1,87)
AA rs34554140					
AA rs6670279 (ОШ = 1,54, 95 % ДИ 1,15–2,06)	p < 0,001, ОШ = 2,05, 95 % ДИ 1,51–2,78				
TT rs12170546 (ОШ = 1,66, 95 % ДИ 1,25–2,21)	p = 0,019, ОШ = 1,51, 95 % ДИ 1,07–2,14	p > 0,05			
GG rs6582147 (ОШ = 1,60, 95 % ДИ 1,20–2,14)	p = 0,003, ОШ = 1,70, 95 % ДИ 1,20–2,39	p > 0,05	p = 0,005, ОШ = 1,63, 95 % ДИ 1,17–2,28		
GG rs2136810 (ОШ = 1,38, 95 % ДИ 1,005–1,87)	p = 0,002, ОШ = 1,73, 95 % ДИ 1,23–2,43	p > 0,05	p = 0,017, ОШ = 1,5, 95 % ДИ 1,08–2,08	p < 0,001, ОШ = 1,81, 95 % ДИ 1,32–2,48	

По результатам анализа оказалось, что комбинация генотипа AA rs34554140 и генотипа AA rs6670279, и комбинация генотипа GG rs2136810 и GG rs6582147 ассоциированы с повышенным риском внезапной сердечной смерти: носители комбинации генотипов AA rs34554140 и генотипа AA rs6670279 встречаются чаще в группе внезапной сердечной смерти (48,5 %) по сравнению с контрольной группой (37,9 %) ($p < 0,001$, ОШ = 2,05, 95 % ДИ 1,51–2,78), также как и носители комбинации генотипа GG rs2136810 и GG rs6582147 встречаются чаще в группе внезапной сердечной смерти (33,3 %) по сравнению с контрольной группой (24,8 %) ($p < 0,001$, ОШ = 1,81, 95 % ДИ 1,32–2,48). При этом отношение шансов в случае использования комбинации генотипов больше, чем в случае использования одного из генотипов отдельно.

Комбинация генотипа TT rs12170546 и генотипа AA rs34554140 также ассоциирована с повышенным риском внезапной сердечной смерти, однако отношение шансов комбинации меньше (1,51), чем в случае одиночных полиморфизмов (1,85 и 1,66).

Комбинации генотипа AA rs34554140 с генотипом GG rs6582147 и генотипом GG rs2136810 ассоциированы с повышенным риском внезапной сердечной смерти. Но полученное отношение шансов меньше (1,7 и 1,73), чем отношение шансов только для генотипа AA rs34554140 (1,85). Тоже самое относится и к комбинации генотипа TT rs12170546 и генотипа GG rs6582147 (отношение шансов генотипа TT rs12170546 отдельно от rs6582147 больше, чем отношение шансов комбинации – 1,66 и 1,6, соответственно), и комбинации генотипа GG rs2136810 и генотипа TT rs12170546 (отношение шансов генотипа TT rs12170546 отдельно от rs2136810 больше, чем отношение шансов комбинации - 1,66 и 1,5, соответственно).

Таким образом, при анализе комбинаций генотипов удалось выявить 3 комбинации, ассоциированные с повышенным риском внезапной сердечной смерти и использование которых в оценке риска внезапной сердечной смерти, имеет большую значимость, чем использование одиночных генотипов:

комбинация генотипа AA rs34554140 и генотипа AA rs6670279, генотипа GG rs2136810 и генотипа GG rs6582147, генотипа CT rs10010305 и генотипа AA rs17797829.

То есть, комбинации рисковых генотипов полиморфизмов rs10010305 (CT) и rs17797829 (AA), rs34554140 (AA) и rs6670279 (AA), rs2136810 (GG) и rs6582147 (GG) ассоциированы с повышенным риском внезапной сердечной смерти ($p = 0,049$, ОШ = 2,14, 95 % ДИ 1,97–2,32; $p < 0,001$, ОШ = 2,05, 95 % ДИ 1,51–2,78; $p < 0,001$, ОШ = 1,81, 95 % ДИ 1,32–2,48, соответственно).

3.2 Исследование мутаций, выявленных методом полноэкзомного секвенирования в зарубежных исследованиях

Мутации D4301N гена *TTN*, I22160T гена *TTN*, A1744S гена *MYH7*, 9928_9929insE гена *TTN*, T171M гена *CACNA1C*, A189T гена *JPH2*, S434Y гена *VCL*, H4552R гена *RYR2* были обнаружены в числе ультраредких однонуклеотидных вариантов, которые отсутствуют в доступных экзомных базах данных, в ходе проведения посмертного полноэкзомного секвенирования и ген-специфичного анализа 117 генов кандидатов внезапной смерти у 14 внезапно умерших по неизвестной причине лиц европеоидной расы (средний возраст 17,4 ± 8,6 лет) [255]. Миссенс-мутация R249Q гена *MYH7* была обнаружена в случае внезапно умершего в своей кровати подростка также методом полноэкзомного секвенирования [97]. Мутация Y1495X гена *SCN5A* найдена методом полноэкзомного секвенирования в случае 48-летнего мужчины с семейным анамнезом внезапной сердечной смерти и синкопальными состояниями в покое и его родственников [363]. Все из описанных выше исследований зарубежные. Было предположено, что исследуемые мутации могут быть найдены в случае внезапной сердечной смерти в исследуемой выборке внезапно умерших жителей г. Новосибирска.

В ходе генотипирования группы внезапной сердечной смерти не было выявлено носителей редких аллелей мутаций D4301N гена *TTN*, I22160T гена *TTN*, A1744S гена *MYH7*, T171M гена *CACNA1C*, A189T гена *JPH2*, S434Y гена *VCL*, H4552R гена *RYR2*, R249Q гена *MYH7*, Y1495X гена *SCN5A*, также мутации не были найдены и в контрольной группе.

Регион гена *TTN*, которому принадлежит мутация 9928_9929insE богат инсерциями и делециями (rs796098357, rs796866952, rs786205310, rs786205397, rs767809516, rs757911555, rs368327166, rs778587728, rs757135518), из которых четыре инсерции (rs796866952, rs786205397, rs767809516, rs368327166) ведут к искомой вставке глутаминовой кислоты между позициями 9928 и 9929 аминокислотной последовательности белка (p.Glu9928_Tyr9929insGlu, 9928_9929insE). В базовом исследовании Narula N, 2015 не уточняется какая именно из четырех мутаций 9928_9929insE (rs796866952, rs786205397, rs767809516, rs368327166) найдена в случае внезапной смерти. Поэтому для генотипирования использовали фланкирующие данный регион праймеры. Гель-электрофорез продуктов амплификации представлен на рисунке 20.

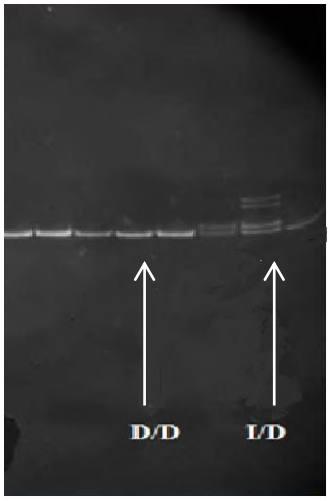


Рисунок 20 – Гель-электрофорез продуктов амплификации

Для идентификации выявленной мутации гена *TTN* было проведено прямое автоматическое секвенирование гетерозиготных образцов (I/D) и одного образца с

неизмененным генотипом (D/D). Для этого полученные продукты амплификации подвергали очистке от солей, не включившихся праймеров и дезоксинуклеотидтрифосфатов с помощью суспензии магнитных частиц КлинМаг ДНК (ЗАО Евроген, Москва). Секвенирование образцов осуществляли при помощи наборов BigDye® Terminator v3.1 (Applied Biosystems, США) методом капиллярного электрофореза на аппарате Hitachi 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США) с применением полимера POP-7. Анализ результатов секвенирования осуществляли с помощью программ SeqScape v.2.7, Sequence Scanner. Таким образом, получен сиквенс образца с неизмененным генотипом, который подтвердил отсутствие мутации в данном образце (Рисунок 21). Во всех гетерозиготных образцах выявлена мутация 9928_9929insE (rs796866952) (Рисунок 22).

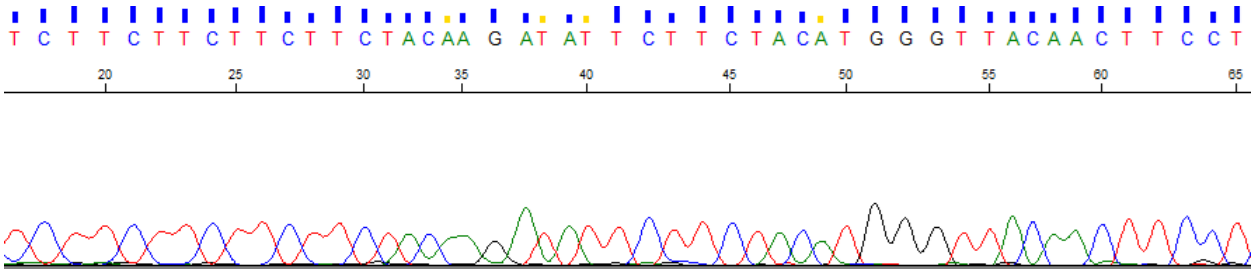


Рисунок 21 – Сиквенс образца с неизмененным генотипом

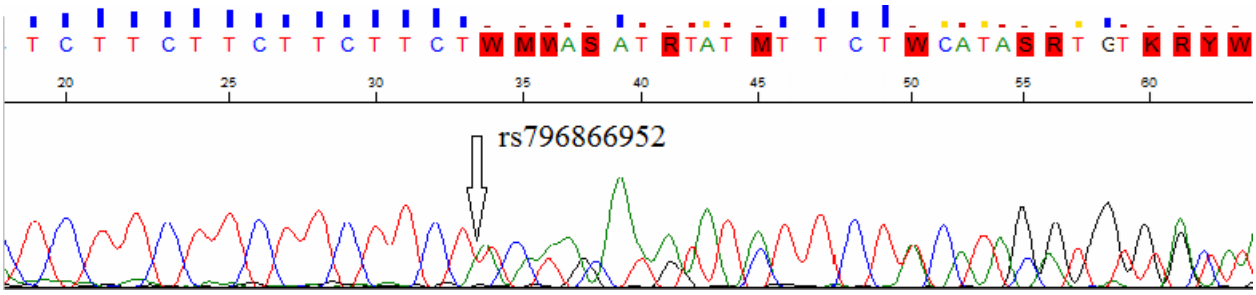


Рисунок 22 – Сиквенс гетерозиготного образца

Таким образом, были найдены и подтверждены с помощью секвенирования гетерозиготные носители мутации 9928_9929insE гена *TTN* (rs796866952) в группе внезапной сердечной смерти (4,1 %) и контрольной группе (3,8 %). Распределение

частот генотипов мутации в контрольной группе соответствует равновесию Харди-Вайнберга (χ^2 = 0,15). По частотам генотипов мутации 9928_9929insE гена *TTN* не найдено статистически значимых различий между группами (p > 0,05). При разделении групп по полу и возрасту в группе женщин старше 50 лет различия по частотам генотипов мутации стремятся к уровню статистической значимости (p = 0,09): в группе внезапной сердечной смерти доля гетерозиготных носительниц мутации 9928_9929insE гена *TTN* составляет 1,6 %, в то время как в контрольной группе доля носительниц мутации составляет 9,2 %.

Мутации D4301N, I22160T и 9928_9929insE локализованы в гене *TTN* (titin, 2q31), который кодирует белок титин – крупнейший белок саркомера поперечнополосатых мышц. Известные мутации в гене *TTN* связывают с развитием ДКМП (25 % семейных форм и 18 % спорадических) и ГКМП [351]. Также с мутациями в гене *TTN* ассоциированы случаи ARVC и рестриктивной кардиомиопатий [338]. Показана связь мутаций гена с редкими формами миопатий [79]. В последних исследованиях выявлена ассоциация мутаций гена с внезапной сердечной смертью на фоне ГКМП и ДКМП [69, 254].

Мутация D4301N (rs767084399, c.12901G>A) гена *TTN* связана с заменой аспарагиновой кислоты на аспарагин в 4301 позиции аминокислотной последовательности белка титина (p.Asp4301Asn). Мутация D4301N по данным трех предиктивных платформ (Polyphen2, Provean, Mutation Assessor) является доброкачественной. Мутация выявлена в случае внезапно умершей во сне женщины в возрасте 25 лет, смерть которой по данным аутопсии была расценена как аритмическая, при судебно-медицинском исследовании обнаружены очаги миокардиального фиброза и гипертрофия кардиомиоцитов [255]. Мутация I22160T (rs727505175, c.66479T>C) гена *TTN* связана с заменой изолейцина на треонин в 22160 позиции аминокислотной последовательности белка титина (p.Ile22160Thr). Миссенс-мутация I22160T является предположительно патогенной по данным трех предиктивных платформ (Polyphen2, Provean, Mutation Assessor), обнаружена в случае 29-летнего мужчины умершего при неизвестных

обстоятельствах, по данным аутопсии причиной летального исхода явилась ишемическая болезнь сердца, отмечено сужение просвета и утолщение стенки коронарных артерий [255].

Мутация 9928_9929insE (rs796866952, c.13283-37657_1328337656insAGA) гена *TTN* связана с инсерцией глутаминовой кислоты между позициями 9928 и 9929 аминокислотной последовательности белка титина (p.Glu9928_Tyr9929insGlu). Мутация 9928_9929insE обнаружена в случае 19-летней девушки, смерть которой наступила при неизвестных обстоятельствах. Причина смерти осталась невыясненной после проведения качественного судебно-медицинского исследования [255].

Мутации A1744S и R249Q локализованы в гене *MYH7* (myosin, heavy chain 7, cardiac muscle, beta, 14q12), который кодирует тяжелую цепь сердечного белка бета-миозина. Ген экспрессируется преимущественно в желудочках сердца, скелетных мышцах, богатых медленно сокращающимися волокнами I типа. Мутации гена связаны с 10-30 % случаев семейной ГКМП, ДКМП и различными типами миопатий [228].

Мутация R249Q (rs3218713, c.746G>A) гена *MYH7* связана с заменой изолейцина на треонин в 249 позиции аминокислотной последовательности белка (p.Arg249Gln). Мутация R249Q, в отличие от остальных исследуемых нами мутаций является известной, широко изучаемой - показана связь мутации со случаями семейной ГКМП и ассоциированной с ней внезапной смертью [227]. Мутация R249Q была идентифицирована в случае внезапно умершего в своей кровати подростка методом полноэкзомного секвенирования. По результатам проведенной аутопсии смерть была признана внезапной, произошедшей по неизвестной причине. При макроскопическом и гистологическом исследовании сердца было выявлено увеличение размеров сердца, но соотношение толщины межжелудочковой перегородки к толщине стенки левого желудочка находилось в пределах нормы. Гистологически были выявлены гипертрофия кардиомиоцитов, интерстициальный фиброз. Полученные данные не позволяли поставить диагноз ГКМП или любого другого заболевания сердца. После выявления причинной

мутации на молекулярно-генетическую диагностику были приглашены ближайшие родственники умершего, у некоторых из которых также удалось выявить данную мутацию. Причина смерти подростка была изменена на R249Q-MYH7-ассоциированную кардиомиопатию [97]. По данным предиктивной платформы Polyphen2 мутация является вероятно злокачественной.

Мутация A1744S (rs777325314, c.5230G>T) гена *MYH7* и мутация T171M (rs199586997, c.512C>T, p.Thr171Met) гена *CACNA1C* (calcium voltage-gated channel subunit alpha1 C, 12p13.33) найдены в случае 26-летнего мужчины, смерть, которого произошла в отделении скорой помощи. Острые симптомы развились, когда мужчина был за рулем автомобиля – пресинкопе, возможно судорожный припадок, в отделении скорой помощи у него была записана патологичная электрокардиограмма и возникла остановка сердца. Причиной смерти по данным судебно-медицинского исследования стало нарушение ритма сердца. Мутация A1744S по данным трех предиктивных платформ (Polyphen2, Provean, Mutation Assessor) является доброкачественной/нейтральной, тогда как мутация T171M гена *CACNA1C* является по данным этих же платформ злокачественной, мутацией высокого риска [255]. Мутация T171M локализована в гене *CACNA1C*, который кодирует альфа-субъединицу кальциевого канала. Мутации гена *CACNA1C* связаны с синдромом Бругада и Тимоти.

Мутация A189T (rs730880254, c.565G>A, p.Ala189Thr) локализована в гене *JPH2* (junctophilin 2, 20q13.12), выявлена в случае внезапно умершего 22-летнего мужчины, на аутопсии найдена дилатация предсердий, смерть признана аритмической. По данным предиктивных платформ мутация является доброкачественной [255]. Считается, что *JPH2* играет важную роль в функционировании саркоплазматического ретикулума и модуляции кальциевых каналов рианодинового рецептора (RYR2).

Мутация S434Y (rs757541730, c.1301C>A, p.Ser434Tyr) гена *VCL* (vinculin, 10q22.2) найдена в случае 14-летнего подростка. На аутопсии выявлена незначительная гипертрофия левого желудочка. Причина смерти не была установлена после проведения качественного судебно-медицинского

исследования. Мутация является доброкачественной по данным предиктивных платформ Provean, SIFT и возможно злокачественной по данным платформы PolyPhen2 [255].

Мутация H4552R (rs768299786, c.13655A>G, p.His4552Arg) гена *RYR2* (ryanodine receptor 2, 1q43) найдена в случае 27-летней женщины, смерть которой произошла на фоне приема метадона. По данным предиктивных платформ мутация является доброкачественной [255]. Ген RYR2 кодирует рианодиновый рецептор, который играет большую роль в регулировании тока кальция в сердечном цикле. Мутации гена реализуются в развитии стресс индуцированной полиморфной желудочковой тахикардии и аритмогенной правожелудочковой дисплазии. Для некоторых мутаций и однонуклеотидных вариантов гена показана ассоциация с внезапной сердечной смертью [233].

Мутация Y1495X (c.4485C>A, p.Tyr1495stop) гена *SCN5A* (sodium voltage-gated channel alpha subunit 5, 3p22.2) найдена методом полноэкзомного секвенирования в случае 48-летнего мужчины с синкопальными состояниями в покое и его родственников. Мутация связана с синтезом укороченного белка SCN5A, что может привести к изменению тока натрия и развитию аритмий. Первое синкопальное состояние у пробанда было зафиксировано в возрасте семи лет. Из анамнеза стала известно, что мать пробанда умерла во сне в возрасте 35 лет, дядя по материнской линии также умер во сне в возрасте 37 лет. Причин развития смертельного исхода выявить не удалось. Идентифицированная мутация Y1495X в гене *SCN5A* может быть возможной причиной синдрома, включающего в себя врожденные пороки сердца (у пробанда – тетрада Фалло), нарушения сердечной проводимости и внезапная сердечная смерть [363].

Мутации A1744S гена *MYH7*, T171M гена *CACNA1C*, S434Y гена *VCL*, H4552R гена *RYR2*, D4301N гена *TTN*, I22160T гена *TTN*, A189T гена *JPH2* имеют низкую частоту редкого аллеля в популяции (менее 0,00003), для R249Q гена *MYH7*, Y1495X гена *SCN5A* частота редкого аллеля в популяции остается неизвестной. Только для мутации 9928_9929insE гена *TTN* частота инсерции в популяции является достаточной (0,011) для того, чтобы обнаружить носителя

мутантного аллеля в контрольной группе. Поэтому факт отсутствия носителей редких аллелей мутаций D4301N гена *TTN*, I22160T гена *TTN*, T171M гена *CACNA1C*, A1744S гена *MYH7*, A189T гена *JPH2*, S434Y гена *VCL*, H4552R гена *RYR2*, Y1495X в гене *SCN5A*, R249Q гена *MYH7* и выявленные гетерозиготные носители мутации 9928_9929insE гена *TTN* в контрольной группе являются достаточно закономерным.

Предполагалось, что носители исследуемых мутаций генов могут быть обнаружены в группе внезапной сердечной смерти, поскольку, во-первых, данные мутации были идентифицированы в отдельных случаях внезапной сердечной смерти методами секвенирования следующего поколения, во-вторых, ряд других мутаций генов, в которых локализованы исследуемые мутации, были также найдены связанными с внезапной сердечной смертью в зарубежных исследованиях. Но данное предположение не было подтверждено. В ходе проведенного исследования не было выявлено случаев внезапной сердечной смерти, ассоциированной с мутациями D4301N гена *TTN*, I22160T гена *TTN*, T171M гена *CACNA1C*, A1744S гена *MYH7*, A189T гена *JPH2*, S434Y гена *VCL*, H4552R гена *RYR2*, Y1495X в гене *SCN5A*, R249Q гена *MYH7*. Каждая из данных мутаций является несинонимичной, миссенс-мутацией, которая связана с заменой одной аминокислоты на другую в аминокислотной последовательности белка.

Мутации T171M гена *CACNA1C*, I22160T гена *TTN*, R249Q гена *MYH7* являются возможно патогенными, мутация S434Y гена *VCL* может быть, как доброкачественной, так и злокачественной, а мутация Y1495X гена *SCN5A* доказано связана с синтезом укороченного белка SCN5A, все остальные из исследуемых мутаций являются доброкачественными по данным предиктивных платформ.

Известные мутации генов *MYH7, VCL, JPH2, TTN* связаны с развитием кардиомиопатий, и реже миопатий. Вероятно, что исследуемые мутации 9928_9929insE гена *TTN*, D4301N гена *TTN*, I22160T гена *TTN*, A1744S гена *MYH7*, A189T гена *JPH2*, S434Y гена *VCL*, R249Q гена *MYH7* также реализуют свой вклад в патогенез внезапной сердечной смерти через развитие кардиомиопатий.

Возможно, вследствие того, что из исследуемой группы внезапной сердечной смерти были исключены лица с патологоанатомическим диагнозом ГКМП/ДКМП, не удалось подтвердить ассоциацию данных мутаций с внезапной сердечной смертью в исследуемой выборке. Но это не исключает возможность того, что мутации 9928_9929insE гена *TTN*, D4301N гена *TTN*, I22160T гена *TTN*, A1744S гена *MYH7*, A189T гена *JPH2*, S434Y гена *VCL*, R249Q гена *MYH7* могут быть связаны с кардиомиопатией и/или внезапной сердечной смертью причиной которой она является.

Известные мутации генов *CACNA1C, RYR2, SCN5A* ассоциированы с различными аритмическими синдромами. В ходе проведенного исследования не выявлено случаев внезапной сердечной смерти, ассоциированной с мутациями H4552R гена *RYR2*, Y1495X гена *SCN5A*, T171M гена *CACNA1C*.

В случае мутации 9928_9929insE гена *TTN* найдены гетерозиготные носители как в группе внезапной сердечной смерти, так и в группе контроля, но при статистической обработке ассоциация мутации с внезапной сердечной смертью в изучаемой группе выявлена не была, в группе женщин старше 50 лет различия по частотам генотипов в группах практически достигают уровня статистической значимости, доля гетерозиготных носительниц мутации в контрольной группе больше, чем в группе внезапной сердечной смерти. Возможно, что при увеличении численности женщин, включенных в исследование данная ассоциация станет более значимой, однако пока делать однозначный вывод об ассоциации мутации с внезапной сердечной смертью преждевременно.

Таким образом, не было выявлено случаев внезапной сердечной смерти, ассоциированной с мутациями D4301N гена *TTN*, I22160T гена *TTN*, A1744S гена *MYH7*, T171M гена *CACNA1C*, A189T гена *JPH2*, S434Y гена *VCL*, H4552R гена *RYR2*, R249Q гена *MYH7*, Y1495X гена *SCN5A*. Выявлены гетерозиготные носители мутации 9928_9929insE гена *TTN* в группе внезапной сердечной смерти и в контрольной группе, но различия по частотам генотипов мутации между группами не достигают уровня статистической значимости. То есть, мутации D4301N гена *TTN*, I22160T гена *TTN*, A1744S гена *MYH7*, T171M гена *CACNA1C*,

A189T гена *JPH2*, S434Y гена *VCL*, H4552R гена *RYR2*, R249Q гена *MYH7*, Y1495X гена *SCN5A*, 9928_9929insE гена *TTN* не связаны с внезапной сердечной смертью в исследуемой выборке внезапно умерших жителей г. Новосибирска.

Мутации D4301N гена *TTN*, A1744S гена *MYH7*, T171M гена *CACNA1C*, S434Y гена *VCL*, H4552R гена *RYR2*, Y1495X гена *SCN5A* не были изучены на предмет ассоциации с каким-либо заболеванием после их обнаружения в случаях внезапной сердечной смерти в зарубежных исследованиях методом полноэкзомного секвенирования следующего поколения.

Мутация R249Q гена *MYH7*, является известной, широко изучаемой – показана связь мутации со случаями семейной ГКМП и ассоциированной с ней внезапной смертью [227]. В проведенном нами исследовании не было выявлено случаев R249Q-ассоциированной внезапной сердечной смерти, поскольку из группы были исключены лица с патологоанатомическим диагнозом ГКМП.

Таким образом, впервые после обнаружения в зарубежных NGS-исследованиях изучена ассоциация мутаций D4301N гена *TTN*, I22160T гена *TTN*, A1744S гена *MYH7*, T171M гена *CACNA1C*, A189T гена *JPH2*, S434Y гена *VCL*, H4552R гена *RYR2*, 9928_9929insE гена *TTN*, Y1495X гена *SCN5A* с внезапной сердечной смертью; получены данные об отсутствии ассоциации изучаемых мутаций D4301N гена *TTN*, I22160T гена *TTN*, A1744S гена *MYH7*, T171M гена *CACNA1C*, A189T гена *JPH2*, S434Y гена *VCL*, H4552R гена *RYR2*, 9928_9929insE гена *TTN*, Y1495X гена *SCN5A*, R249Q гена *MYH7* с внезапной сердечной смертью; получена информация о частотах редких аллелей исследуемых мутаций в контрольной группе и группе внезапной сердечной смерти.

3.3 Экзомное секвенирование

В 37 образцах найдено 11412 (в среднем 308 ± 30 вариантов на 1 образец) нуклеотидных замен в экзонах 205 проанализированных генов, из которых 5918 (160 ± 18 на 1 образец) - синонимичные замены, которые были сразу исключены

из дальнейшего анализа. Оставшиеся 5494 варианта (миссенс-варианты, нонсенс-варианты, варианты со сдвигом рамки считывания, 3’- и 5’- варианты) в экзонах 205 генов прошли дальнейшую фильтрацию. Были исключены часто встречающиеся варианты в популяции (по данным GnomAD с частотой более 1 %), которые были отмечены в ClinVar как доброкачественные. Исключены варианты с низкой глубиной прочтения. Оставшиеся 803 варианта оценены согласно критериям патогенности, указанным в руководстве по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) [17].

Варианты были выбраны, в том числе на основе следующих критериев [17]:

- варианты, приводящие к прекращению синтеза белка при условии, что вариант нуклеотидной последовательности данного типа является известной причиной заболевания (PVS1)
- варианты, патогенность которых подтверждена функциональными исследованиями гена или продукта гена in vitro или in vivo (PS3)
- вариант расположен в «горячей» точке и/или важных и хорошо исследованных функциональных доменах белка, в которых не описаны доброкачественные изменения (PM1)
- вариант, отсутствующий в контрольной выборке или встречающийся в ней с крайне низкой частотой: для аутосомно-доминантных заболеваний частота аллеля не превышает 0,01 %, для аутосомно-рецессивных заболеваний – 0,5 % (PM2)
- варианты, приводящие к синтезу белка измененной длины (PM4)
- варианты, приводящие к замене аминокислоты в том же положении, в котором ранее были описаны другие миссенс-варианты, расцененные как патогенные (PM5)
- миссенс-вариант в гене, в котором обычно такие изменения вызывают заболевания, а доброкачественные миссенс-изменения наблюдаются редко (PP2)

Таблица 27 – Варианты, вероятно ассоциированные с внезапной сердечной смертью

Образец	Ген	Положение (GRCh38.p13)	Экзон	ОНП, положение в кДНК, замена аминокислоты	Генотип	Глубина прочтения	gnomAD
557	*KCNA5*	chr12: 5045111G>C	1	rs139614200, c.964G>C, p.Asp322His	GC	94	0,00009
	TGFB3	chr14: 75980568 T>A	1	c.326A>T, p. Asp109Val	TA	38	-
568	*TTN*	chr2: 178551011 G>A	286	rs774107448, c.86597C>T, p.Pro28866Leu	GA	56	0,00002
583	*ABCC9*	chr12:21910920 A>T	9	c.1070T>A, p.Leu357His	AT	8	-
2191	*TTN*	chr2: 178590626 G>A	254	rs727504479, c.56176C>T, p.Arg18726Trp	GA	22	0,00006
		chr2: 178621685 T>G	195	rs764583221, c.40216A>C, p.Thr13406Pro	TG	64	0,000004
	FLNC	chr7: 128849379 C>T	30	rs753945728,c.5000C>T, p.Thr1667Met	CT	152	0,00003
3005	*CACNA1C*	chr12: 2688702 G>A	46	rs199473660, c.6040G>A, p.Val2014Ile	GA	167	0,0003
3006	*COL3A1*	chr2: 189006937 G>T	44	rs1559061954, c.3202G>T, p.Gly1068Cys	GT	8	-
3012	*FLNC*	chr7: 128840655 G>A	10	rs201572079, c.1657G>A, p.Gly553Ser	GA	30	0,0003
	SCN10A	chr3: 38722291 G>C	20	rs145568435, c.3474C>G, p.Ile1158Met	GC	8	0,00007
3013	*FLNC*	chr7: 128838696 C>T	8	rs199935488, c.1304C>T, p.Thr435Met	CT	13	0,00005
3015	*TSFM*	chr12: 57796461 C>T	7	rs201754030, c.919C>T, p.Gln307Ter	CT	10	0,002
	MYH7	chr14: 23427657 C>T	16	rs121913627, c.1816G>A, p. Val606Met	CT	12	0,000007
3016	*SCN2B*	chr11: 118168683 G>A	2	rs752526094, c.139C>T, p.Arg47Cys	GA	18	0,000008
3017	*TTN*	chr2: 178539823 G>A	301	rs72648272, c.93319C>T, p.Arg31107Cys	GA	9	0,004
		chr2: 178562616 C>T	275	rs376820301, c.78593G>A, p.Arg26198Gln	CT	11	0,0003

Продолжение таблицы 27

Образец	Ген	Положение (GRCh38.p13)	Экзон	ОНП, положение в кДНК, замена аминокислоты	Генотип	Глубина прочтения	gnomAD
3019	*DSP*	chr6: 7542003 G>A	1	rs121912998, c.88G>A, p.Val30Met	GA	45	0,002
3020	*CASQ2*	chr1:115738260 T>G	4	rs765848850, c.496A>C, p.Lys166Gln	TG	7	-
		chr1:115738262 A>G	4	c.494T>C, p.Ile165Thr	AG	7	0,000004
3023	*CSRP3*	chr11: 19188286 A>G	3	rs104894205, c.131T>C, p.Leu44Pro	AG	5	0,00001
	RYR2	chr1:237784338 C>G	90	c.12626C>G, p.Ser4209Trp	CG	30	-
3024	*APOB*	chr2: 21010846 C>T	26	c.6022G>A, p.Glu2008Asn	CT	20	-
	TTN	chr2: 178553619 C>T	283	rs72648237, c.84463G>A, p.Val28155Met	CT	40	0,001
		chr2: 178565869 A>G	275	rs200181804, c.75340T>C, p.Phe25114Leu	AG	13	0,0002
3026	*PKP2*	chr12: 32878461 G>A	3	rs150821281, c.419C>T, p.Ser140Phe	GA	4	0,002
	CREB3L3	chr19:4168367 T>TG	6	rs780374391, c.732dup, p.Lys245fs	TTG	29	0,0004
3028	*KCND3*	chr1:111777146 C>T	7	rs35027371, c.1646G>A, p.Arg549His	CT	19	0,0001
	KCNH2	chr7: 150948483 G>A	11	rs143512106, c.2653C>T, p.Arg885Cys	GA	9	0,0002
	SNTA1	chr20: 33412652 C>T	4	rs770192754, c.832G>A, p.Glu278Lys	CT	10	0,00001
	TGFB3	chr14: 75971659 A>C	2	rs201453600, c.412T>G, p.Ser138Ala	AC	12	0,0001
3029	*AKAP9*	chr7: 92065290 G>A	26	rs61757671, c.6070G>A, p.Glu2024Lys	GA	24	0,001
	ANKRD1	chr10:90915638 C>A	8	c.754G>T, p.Gly252Ter	CA	7	-
	TTN	chr2: 178672473 C>T	150	rs2020144 78, c.33742G>A, p.Val11248Ile	CT	35	0,003

– вариант, для которого не менее трех программ предсказания in silico подтверждают его патогенность (PP3)

Варианты неопределенного значения и варианты с противоречивой интерпретацией (uncertain significance и Conflicting interpretations of pathogenicity согласно базе данных ClinVar) также включены в анализ.

Из 37 образцов ДНК лиц умерших внезапной сердечной смертью при анализе результатов секвенирования 205 генов было обнаружено 34 варианта, которые могут иметь отношение к развитию фенотипа внезапной сердечной смерти в 18 случаях. Результаты исследования представлены в таблице 27.

Для каждого случая внезапной сердечной смерти, включенного в исследование, проведено изучение данных судебно-медицинского исследования и их сопоставление с найденными вариантами по результатам экзомного секвенирования, они были описаны в случае отклонения от нормы каких-либо данных судебно-медицинского исследования.

В образце **№ 557** (мужчина 34 лет, острая коронарная недостаточность без признаков атеросклероза) найдена мутация rs139614200 (p.Asp322His) в первом экзоне гена *KCNA5* и ранее не описанная мутация в первом экзоне гена *TGFB3* (p. Asp109Val) (рисунок 23).

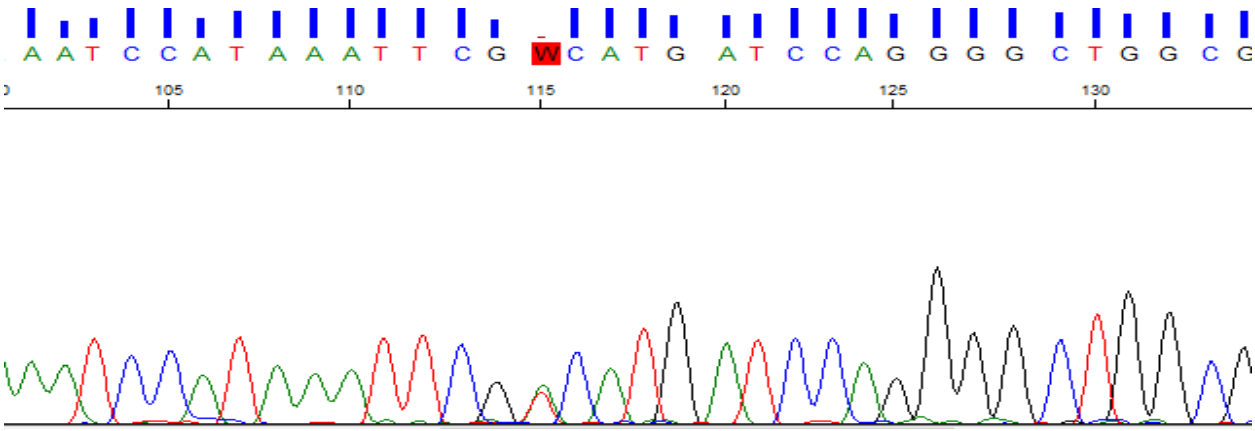


Рисунок 23 – Сиквенс образца №557 (c.326A>T, ген *TGFB3)*

Ген *KCNA5* (potassium voltage-gated channel subfamily A member 5, 12p13.32) кодирует один из калиевых каналов, связанный с регуляцией секреции инсулина. Мутации гена ассоциированы с развитием семейной формы ФП 7 типа [195]. Найденная мутация D322H гена *KCNA5* описана в случае ФП с ранним началом (в возрасте 35 лет) [158]. Так как вариант встречается в популяции, делать однозначный вывод о его связи с развитием заболевания пока преждевременно [278]. Мутация D322H расположена во внеклеточной петле S1 – S2, не изменяет поверхностную экспрессию гена, но изменяет функцию калиевого канала, вызывая триангуляцию морфологии потенциала действия и сокращение длительности потенциала действия с 280 до 222 мс по сравнению с диким типом [158]. Мутация rs139614200 гена по данным Polyphen2 является вероятно повреждающей, по данным MutationTaster, FATHMM, PROVEAN, SIFT – повреждающей. Кроме того, мутация отсутствует в базе экзомов жителей северо-западной России [364], по данным gnomAD частота мутации для европеоидов составляет около 0,00009. Таким образом, согласно руководству по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) вариант D322H может быть рассмотрен как вероятно патогенный для ФП (вариант найден у пациента с ФП, есть данные о его влиянии на функцию белка, по данным предиктивных программ он является повреждающим), которая является фенотипом риска для внезапной сердечной смерти [17, 342].

Белок, кодируемый геном *TGFB3* (transforming growth factor beta 3, 14q24.3) участвует в эмбриогенезе и дифференцировке клеток, может играть роль в процессе заживлении ран. Мутации в этом гене являются причиной аневризм и расслоений аорты, а также семейной аритмогенной дисплазии правого желудочка 1 типа [335]. По данным анализа in silico найденная мутация D109V является повреждающей (Polyphen2, MutationTaster, PROVEAN). По совокупности сведений, выявленный вариант нуклеотидной последовательности следует расценивать как вариант с неопределенной клинической значимостью, который,

тем не менее, может иметь отношение к фенотипу пациента в случае получения дополнительных подтверждающих данных.

Таким образом, в случае 34-летнего мужчины умершего внезапной сердечной смертью найдены две миссенс-мутации в генах, связанных с нарушениями ритма сердца, одна из которых является новой. Для мутации гена *KCNA5* показано влияние на функцию калиевого канала, мутация описана в случае ранней ФП. Обе мутации являются повреждающими по данным предиктивных программ. Таким образом, возможно, данные мутации являются причинными в отношении внезапной сердечной смерти у данного мужчины, и смерть может быть рассмотрена как внезапная аритмическая, поскольку не найдено каких-либо патологоанатомических данных, указывающих на другую ее природу (атеросклероз, ИБС, кардиомиопатии).

В случае **№ 583** (мужчина 24 лет, острая коронарная недостаточность) идентифицирован новый, ранее не описанный вариант в 9 экзоне гена *ABCC9* (ATP binding cassette subfamily C member 9, 12p12.1) – p.Leu357His,c.1070T>A. Мутации в гене ассоциированы с дилатационной кардиомиопатией 10 типа (наследуется аутосомно-доминантно). Участок протеина, в котором происходит замена аминокислот, является консервативным. При этом миссенс-мутации в гене *ABCC9* часто являются недоброкачественными (gnomAD: Missense z-score 4,97). По данным предиктивных инструментов in silico вариант патогенный (Polyphen2, PROVEAN, FATHMM). На данный момент найденный вариант следует расценивать как вариант неопределенного значения, который, тем не менее, может иметь отношение к фенотипу пациента в случае получения дополнительных подтверждающих данных.

Мутации в гене *TTN* (titin, 2q31.2) были идентифицированы в нескольких образцах. Ген кодирует крупный белок поперечно-полосатой мускулатуры, мутации гена приводят к развитию семейной формы ГКМП 9 типа [356].

В случае 21-летнего мужчины (**№ 568**, острая недостаточность кровообращения без признаков атеросклероза) найдена мутация в 286 экзоне гена

TTN rs774107448 (p.Pro28866Leu) гена *TTN*. Согласно ClinVar мутация неопределенного значения, есть данные о ее связи с ДКМП, ГКМП, фатальной кардиомиопатией, миопатией [305]. По данным нескольких предиктивных инструментов мутация P28866L является патогенной (Polyphen2, MutationTaster, PROVEAN, SIFT). Мутация отсутствует в базе экзомов жителей северо-западной России [364], по данным gnomAD частота мутации для европеоидов составляет около 0,00003.

В случае мужчины 37 лет (**№ 3017**, кардиомиопатия неуточненная, острая недостаточность кровообращения, наличие этилового спирта в крови 1,95 промиле, размеры сердца не увеличены, мышца сердца на разрезах дряблая, тусклая, сердце обложено большим количеством жира, липоматоз и липофусциноз миокарда) идентифицированы 2 мутации гена *TTN* (rs72648272, p.Arg31107Cys и rs376820301, p.Arg26198Gln). Мутации могут быть связаны с развитием ДКМП, миопатией с ранним началом и фатальной кардиомиопатией, но объективных доказательств согласно ClinVar этому нет [302]. Мутация rs72648272 была идентифицирована в случае внезапной смерти на фоне фиброза у мужчины в возрасте 31 года. Кроме мутации rs72648272 у мужчины были идентифицированы мутации rs72650011, rs72647894 гена *TTN* и мутация rs746620876 гена *ANK2* [232]. По данным нескольких предиктивных инструментов мутации rs72648272 (Polyphen2, MutationTaster, PROVEAN, SIFT) и rs376820301 (MutationTaster, PROVEAN, SIFT) являются повреждающими. Частота редкого аллеля мутации rs72648272 в базе экзомов жителей северо-западной России составляет 0,014 [364], по данным gnomAD частота мутации для европеоидов составляет около 0,006. Мутация rs376820301 отсутствует в базе экзомов жителей северо-западной России [364], по данным gnomAD частота мутации для европеоидов составляет около 0,0006. Таким образом, выявленные мутации нельзя оценить, как мутации с определенной клинической значимостью, однако, они могут иметь отношение к внезапной сердечной смерти, поскольку другие мутации гена связаны с развитием фенотипов, предрасполагающих к внезапной сердечной смерти (ДКМП, ГКМП), для самих мутаций также есть

противоречивые данные о связи с этими фенотипами, одна из мутаций найдена в случае внезапной смерти в молодом возрасте, мутации расценены как повреждающие по данным предсказательных инструментов, патологоанатомический диагноз пробанда «неуточненная кардиомиопатия», что также может быть связано с найденными мутациями гена *TTN*. Наличие алкоголя в крови пробанда могло выступать в качестве триггерного фактора развития аритмии на фоне существующей кардиомиопатии, что и привело к внезапной сердечной смерти.

Мутация rs199473660 (p.Val2014Ile) гена *CACNA1C* найдена в образце **№ 3005** (мужчина, 32 года, острая коронарная смерть, атеросклероз аорты). Мутация приводит к замене аминокислоты валина на изолейцин в 2014 позиции аминокислотной последовательности белка. Валин умеренно консервативен, существует небольшая физико-химическая разница между валином и изолейцином [281]. Показано, что мутация вызывает потерю функции кальциевого канала [225]. По данным анализа in silico вариант расценивается как повреждающий (MutationTaster), вероятно повреждающий (Polyphen2), доброкачественный вариант (PROVEAN, FATHMM, SIFT). Мутация была идентифицирована в двух случаях синдрома Бругада, семейном случае ФП [265]. В одном из случаев с синдромом Бругада в семейном анамнезе была зафиксирована внезапная смерть в раннем возрасте по неизвестной причине. Одновременно с носительством мутации было идентифицировано носительство полиморфизма rs1805124 (p.H558R) гена *SCN5A*. Во втором случае синдрома Бругада у женщины-пробанда был идентифицирован вариант rs199473660 гена *CACNA1C* и носительство полиморфизма rs58225473 (p.D601E) гена *CACNB2* также в гетерозиготной форме [225]. Оба полиморфизма имеют отношение к развитию нарушений ритма. По данным ClinVar полиморфизм rs58225473 является доброкачественной заменой при синдроме Бругада 4 типа, показано, что при носительстве полиморфизма замедляется инактивация кальциевого тока L-типа [121]. Полиморфизм rs1805124 является патогенным для прогрессирующей блокады типа 1А, доброкачественным/ вероятно доброкачественным для

синдрома Бругада, синдрома слабости синусового узла, LQTS, фибрилляции желудочков (ClinVar). Мужчина №3005 является носителем мутации rs199473660 (p.Val2014Ile) гена *CACNA1C*, а также полиморфизмов rs58225473 (p.D601E) гена *CACNB2* и rs1805124 (p.H558R) гена *SCN5A* в гетерозиготной форме. Частота редкого аллеля мутации rs199473660 в базе экзомов жителей северо-западной России составляет 0,0014 [364], по данным gnomAD частота мутации для европеоидов составляет около 0,0008. На данный момент данных для однозначной оценки варианта rs199473660 (p.Val2014Ile) гена *CACNA1C* в качестве патогенного недостаточно. Известно, что мутация связана с изменением функции кальциевого канала, идентифицирована в случаях синдрома Бругада, ФП, которые являются заболеваниями, приводящими в том числе и к внезапной сердечной смерти, по данным предиктивных платформ мутацию нельзя однозначно назвать повреждающей. В случае мужчины №3005 заслуживающим внимания является носительство не только мутации rs199473660 (p.Val2014Ile) гена *CACNA1C*, но и двух полиморфизмов, имеющих отношение к риску развития нарушений ритма сердца.

Мутации гена *FLNC* идентифицированы в трех случаях внезапной сердечной смерти. Ген *FLNC* (filamin C, 7q32.1) кодирует гамма филамин, который участвует в связывании актиновых филаментов в кортикальной цитоплазме и участвует в закреплении мембранных белков актинового цитоскелета. Мутации гена связаны с развитием ГКМП, дистальной миопатии, миофибриллярной миопатии [139]. Описана мутация гена, связанная с аритмией у двух сводных братьев (бессимптомное преждевременное сокращение желудочков), в семейной истории которых присутствует внезапная смерть молодых людей в трех поколениях [180]. Еще один вариант гена, также связанный со сдвигом рамки считывания, остановкой сердца и внезапной сердечной смертью, найден в случае ДКМП [359].

В случае 29-летнего мужчины (**№ 2191**, остановка сердца) найдены 2 мутации гена *TTN*: rs727504479 (p.Arg18726Trp) и rs764583221 (p.Thr13406Pro) и вариант rs753945728 **(**p.Thr1667Met, c.5000C>T) в 30 экзоне гена *FLNC*. Мутация

rs727504479 по данным ClinVar является мутацией с конфликтом интерпретаций, может быть причиной развития ДКМП [303]. Частота редкого аллеля мутации rs727504479 в базе экзомов жителей северо-западной России составляет 0,000725 [364], по данным gnomAD частота мутации для европеоидов составляет около 0,00006. Мутация rs764583221 отсутствует в базе экзомов жителей северо-западной России [364], по данным gnomAD частота мутации для европеоидов составляет 0, частота мутации для латино-американцев около 0,00003. Частота варианта rs753945728 для европеоидов по данным GnomAD около 0,00002. По данным нескольких предиктивных инструментов варианты rs727504479 (Polyphen2, MutationTaster, PROVEAN, SIFT), rs764583221 (Polyphen2, MutationTaster, PROVEAN, SIFT), rs753945728 (MutPred, PROVEAN, FATHMM) являются повреждающими. По совокупности сведений, выявленные варианты нуклеотидной последовательности следует расценивать как варианты с неопределенной клинической значимостью, которые, тем не менее, могут иметь отношение к внезапной сердечной смерти в случае получения дополнительных подтверждающих данных.

В случае 30-летнего мужчины (**№ 3012**, острая коронарная смерть, атеросклероз аорты) найдена мутация rs201572079 (p.Gly553Ser) гена *FLNC*. Мутация rs201572079 гена, возможно, является вероятно доброкачественной в отношении развития ДКМП, миопатии, ГКМП [284]. По данным анализа in silico на всех предиктивных платформах мутация является повреждающей rs201572079. Вариант классифицируется как вариант неясного значения [282]. Мутация rs201572079 отсутствует в базе экзомов жителей северо-западной России [364], по данным gnomAD частота мутации для европеоидов составляет около 0,0003. На данный момент данных для того, чтобы оценить мутацию как патогенную или вероятно патогенную в отношении внезапной сердечной смерти недостаточно. Также в случае мужчины №3012 идентифицирован вариант rs145568435 (p.Ile1158Met, c.3474C>G) в гене *SCN10A* в гетерозиготной форме. По данным анализа in silico вариант является повреждающим (Polyphen2, PROVEAN, FATHMM, MutPred). Частота варианта по данным gnomAD составляет около

0,0001 для европеоидов. Согласно ClinVar вариант является консервативной аминокислотной заменой, которая вряд ли повлияет на вторичную структуру белка, поскольку изолейцин и метионин обладают сходными свойствами. Следовательно, на основе имеющейся в настоящее время информации, неясно, является ли этот вариант патогенным или доброкачественным.

В случае 37-летнего мужчины (**№ 3013**, внезапная сердечная смерть, отек легких, головного мозга, хронический гепатит минимальной степени активности, размеры сердца увеличены, толщина стенки левого желудочка 1,5 см, правого желудочка 0,6 см) найдена мутация rs199935488 (p.Thr435Met) гена *FLNC*. Мутация rs199935488 по данным анализа in silico является повреждающей (FATHMM, PROVEAN), вероятно повреждающей (Polyphen2). Мутация rs199935488 может быть связана с развитием ДКМП, ГКМП, миопатии по данным ClinVar, но доказательств этому нет. Вариант присутствует в популяционных базах данных, но не описан как связанный с *FLNC*-заболеваниями. Вариант классифицируется как вариант неясного значения [282]. Мутация rs199935488 отсутствует в базе экзомов жителей северо-западной России [364], по данным gnomAD частота мутации для европеоидов составляет около 0,00002. На данный момент данных для того, чтобы оценить мутацию как патогенную или вероятно патогенную в отношении внезапной сердечной смерти недостаточно.

В случае № **3006** (мужчина 36 лет, острая коронарная смерть) идентифицирован вариант rs1559061954 (p.Gly1068Cys) гена *COL3A1* (collagen type III alpha 1 chain, 2q32.2). По данным ClinVar вариант описан как вероятно патогенный в отношении развития синдрома Элерса-Данло, в том числе его сосудистого типа. Синдром наследуется по аутосомно-доминантному типу наследования. По данным анализа in silico вариант расценивается как патогенный (FATHMM, PROVEAN, Polyphen2). Вариант отсутствует в базе данных gnomAD. Замена глицина на цистеин находится в пределах повтора Gly-XY тройной спирали молекулы проколлагена типа III, где описано большинство идентифицированных патогенных вариантов [347]. Другой миссенс-вариант в том же положении аминокислоты (p.Gly1068Val) был зарегистрирован у пациента с

сосудистым типом синдрома Элерса-Данло [325]. При синдроме Элерса-Данло у некоторых пациентов может развиваться выраженная гиперсимпатикотония, в том числе постуральная ортостатическая тахикардия, сопровождающаяся пресинкопальными состояниями и обмороками, а также нарушения сердечного ритма и проводимости вследствие аномалии структуры и функции проводящей системы сердца, гемодинамических и электролитных нарушений [9], что может стать субстратом для внезапной сердечной смерти.

В случае 21-летнего мужчины (**№ 3015**, внезапная сердечная смерть) найдена мутация rs201754030 (p.Gln307Ter) гена *TSFM* (рисунок 24). Мутация гена *TSFM* по данным ClinVar связана с развитием ДКМП [285].

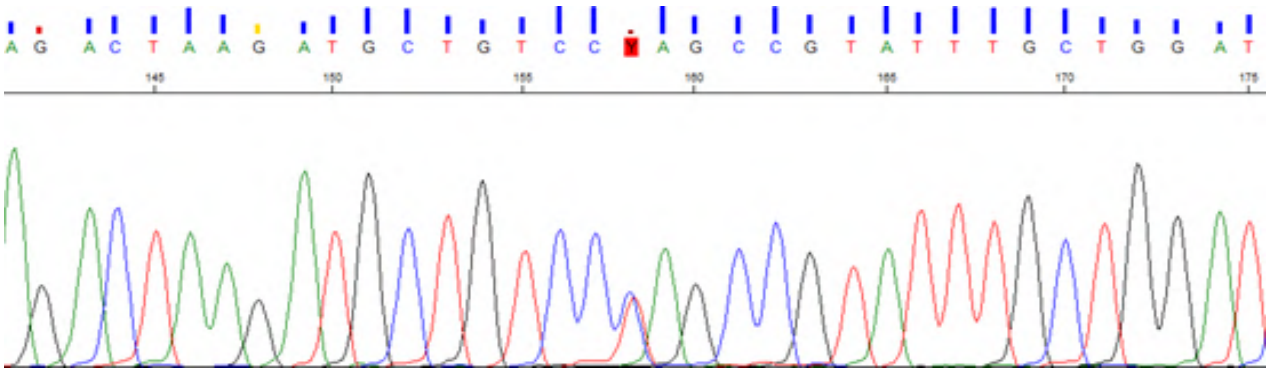


Рисунок 24 – Сиквенс образца №3015 (rs201754030, c.919C>T, ген *TSFM)*

Ранее сообщалось о варианте Q307X в гене *TSFM* с использованием альтернативной номенклатуры (Q286X) в компаунд-гетерозиготном состоянии (с мутацией p.C315Y) у сибсов с митохондриальной кардиомиопатией с младенческим началом (ГКМП у одного сибса, ДКПМ – у второго), прогрессирующей до синдрома Ли с юношеским началом, невропатии и зрительной атрофии. Носительство одной мутации Q307X в гене *TSFM* также ранее связывали с митохондриальной кардиомиопатией [216]. Предполагается, что этот вариант вызывает преждевременную остановку трансляции белка (образование стоп-кодона), что приведет к усечению последних 40 аминокислот белка [285]. По данным MutationTaster мутация является повреждающей. Мутация

rs199935488 отсутствует в базе экзомов жителей северо-западной России [364], по данным gnomAD частота мутации для европеоидов составляет около 0,0006. Ген *TSFM* (Ts translation elongation factor, mitochondrial, 12q14.1) кодирует фактор элонгации митохондриальной трансляции. Мутации гена связаны с развитием синдрома дефицита комбинированного окислительного фосфорилирования-3 [355]. По данным аутопсии масса сердца умершего №3015 несколько больше нормальных значений (305 грамм по сравнению с нормой 270-285 грамм), размеры сердца также немного превышают нормальные, толщина миокарда левого желудочка 1,6 см при норме до 1,5 см. Также идентифицирован вариант rs121913627 (p. Val606Met,c.1816G>A) в гетерозиготной форме в гене *MYH7*. Вариант расценивается как патогенный по данным ClinVar: вариант связан с семейными и единичными случаями ГКМП, экспериментальные исследования показали, что вариант нарушает функционирование MYH7 in vitro и вызывает снижение экспрессии белка MYH7 в биоптатах мышц людей с этим вариантом, в эксперименте на мышах вариант был связан с умеренной гипертрофией [27, 224]. По данным gnomAD частота редкого аллеля варианта для европеоидов составляет около 0,00001. По данным анализа in silico вариант расценивается как повреждающий (Polyphen2, MutPred, FATHMM, PROVEAN). Таким образом, варианты могут рассматриваться как вероятно причинные в развитии фенотипа (кардиомиопатии), приводящего к внезапной сердечной смерти (патогенность варианта в исследованиях, синтез белка измененной длины или изменений функции белка, частота редкого аллеля в популяции меньше 0,5 %, патогенность варианта в in silico анализе).

В случае **№ 3016** (мужчина 40 лет, острая недостаточность кровообращения) идентифицирован вариант rs752526094 (p.R47C,c.139C>T) в гене *SCN2B* (sodium voltage-gated channel beta subunit 2, 11q23.3). Варианты в гене ассоциированы с развитием синдрома Бругада, ФП, внезапной младенческой смерти. По данным gnomAD вариант rs752526094 встречается с низкой частотой в популяции (около 0,00001 для европеоидов). По данным анализа in silico вариант rs752526094 является повреждающим (Polyphen2, SIFT, FATHMM, PROVEAN).

Вариант не описан в ClinVar. На данный момент недостаточно данных для интерпретации варианта как патогенного, но и исключить его роль в развитии фенотипа пациента нельзя.

В случае мужчины 35 лет (**№ 3019**, острая коронарная смерть, атеросклероз аорты) найдена мутация rs121912998 (p.Val30Met) гена *DSP* (рисунок 25). Мутация может быть связана с развитием ARVC, ГКМП, что подтверждается некоторыми исследованиями [46]. При проведении посмертного генетического скрининга лиц умерших внезапной смертью в молодом возрасте мутация была найдена в случае 15-летнего юноши [257]. Ген *DSP* (desmoplakin, 6p24.3) кодирует десмоплакин, белок, который прикрепляет промежуточные филаменты к десмосомным бляшкам, образуя обязательный компонент функциональных десмосом. Мутации гена связаны, в том числе с развитием кардиомиопатий [120]. Частота редкого аллеля мутации rs121912998 в базе экзомов жителей северо-западной России составляет 0,004 [364], по данным gnomAD частота мутации для европеоидов составляет около 0,002. По данным предиктивных платформ мутация является доброкачественной или мутацией с умеренным влиянием. На данный момент данных для того, чтобы оценить мутацию как патогенную или вероятно патогенную в отношении внезапной сердечной смерти недостаточно, известно только, что мутация может быть связана с развитием ARVC, ГКМП, внезапной смерти.

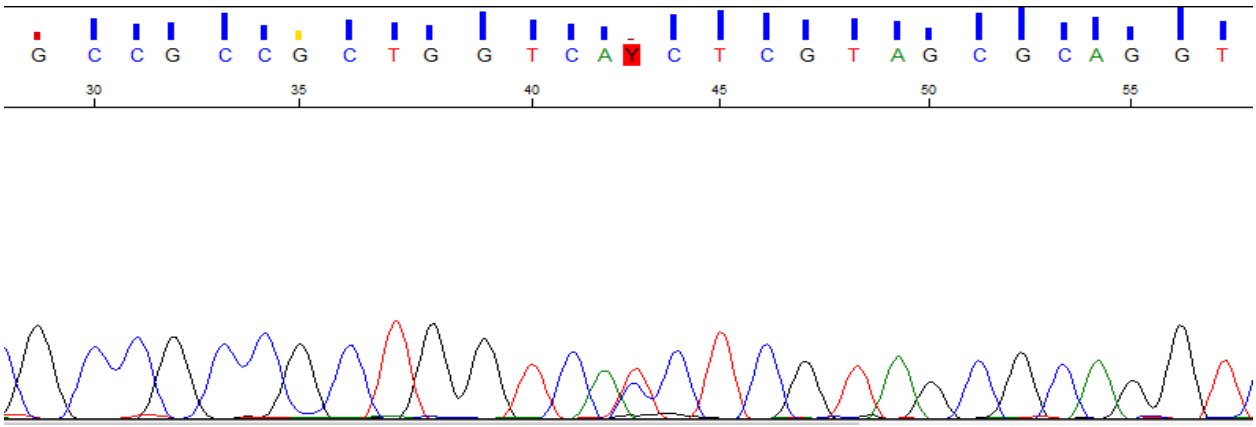


Рисунок 25 – Сиквенс образца № 3019 (rs121912998, c.88G>A, ген *DSP*)

В случае **№ 3020** (мужчина 32 лет, острая коронарная смерть, атеросклероз аорты) идентифицированы два варианта гена *CASQ2* (calsequestrin 2, 1p13.1). Калсеквестрин локализуется в саркоплазматическом ретикулуме в клетках сердечной и медленных скелетных мышц. Мутации в этом гене вызывают индуцированную стрессом полиморфную желудочковую тахикардию, также известную как катехоламинергическая полиморфная желудочковая тахикардия 2 типа (CPVT2), заболевание, характеризующееся двунаправленной желудочковой тахикардией, которая может привести к остановке сердца. Варианты локализованы в 4 экзоне гена, один из них новый, ранее не описанный (p.I165T,c.494T>C), второй вариант rs765848850 (p.K166Q,c.496A>C). Оба варианта не описаны в ClinVar. Вариант rs765848850 расценен по данным in silico как повреждающий (Polyphen2, MutPred, FATHMM), вариант I165T – как повреждающий (MutPred, FATHMM) и как вариант с умеренным влиянием (Polyphen2, PROVEAN). Частота редкого аллеля варианта rs765848850 в популяции около 0,000003. На данный момент недостаточно данных для того, чтобы расценить варианты как патогенные или доброкачественные в отношении фенотипа пациента, но исключить их влияние на его развитие также нельзя.

В случае 37-летнего мужчины (**№ 3023**, внезапная сердечная смерть, этиловый спирт в крови 2,21 промилле) найден вариант rs104894205 (p.L44P,c.131T>C) гена *CSRP3* (cysteine and glycine rich protein 3, 11p15.1) в гетерозиготной форме. Варианты гена связаны с развитием семейных форм ДКМП и ГКМП. Частота варианта rs104894205 для европеоидов по данным gnomAD около 0,00003. Вариант расценен как повреждающий по данным анализа in silico (Polyphen2, MutPred, FATHMM, PROVEAN). Известно, что вариант ассоциирован с развитием ГКМП, внезапной сердечной смертью на фоне ГКМП, влияет на функцию белка [72, 218]. Кроме того, мужчина является гетерозиготным носителем ранее не описанного варианта p.S4209W,c.12626C>G гена *RYR2* (ryanodine receptor 2, 1q43). Варианты гена ассоциированы с развитием стресс индуцированной полиморфной желудочковой тахикардии и аритмогенной дисплазии правого желудочка. Вариант S4209W по данным анализа in silico

(Polyphen2, MutPred, FATHMM, PROVEAN) расценен как повреждающий. Для гена *RYR2* миссенс-варианты чаще являются повреждающими (gnomAD: Missense z-score 5,78). Таким образом, вариант гена *CSRP3* может быть расценен как патогенный, для варианта гена *RYR2* на данный момент недостаточно данных для оценки его роли в развитии фенотипа пациента. Возможно, что сильное алкогольное опьянение, в котором находился внезапно умерший послужило пусковым фактором для летальной аритмии, в том числе и генетически обусловленной вариантом гена *RYR2*.

В случае 40-летнего мужчины (**№ 3024**, острая коронарная смерть, атеросклероз аорты) найдено 2 мутации гена *TTN* (rs72648237, p.Val28155Met и rs200181804, p.Phe25114Leu), новая мутация гена *APOB* (p.Glu2008Asn) (рисунок 26, рисунок 27).

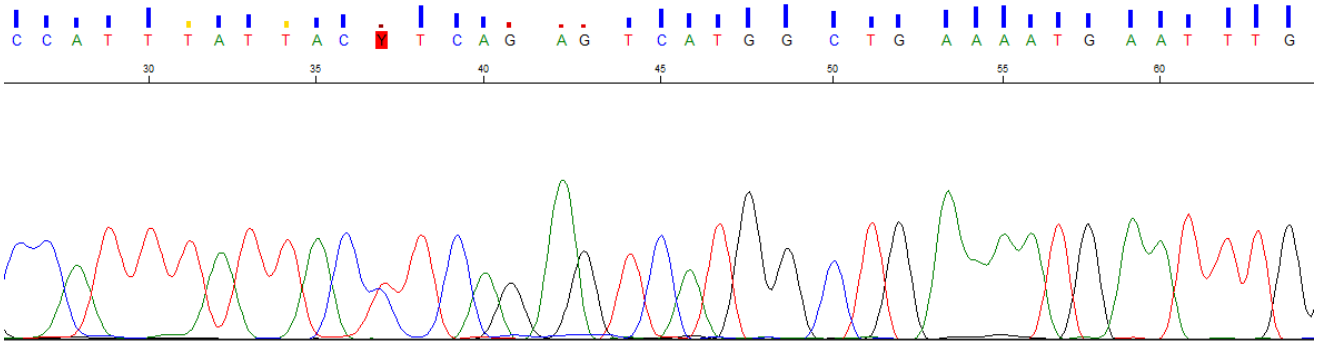


Рисунок 26 – Сиквенс образца № 3024 (rs200181804, c.75340 T>C, ген *TTN*)

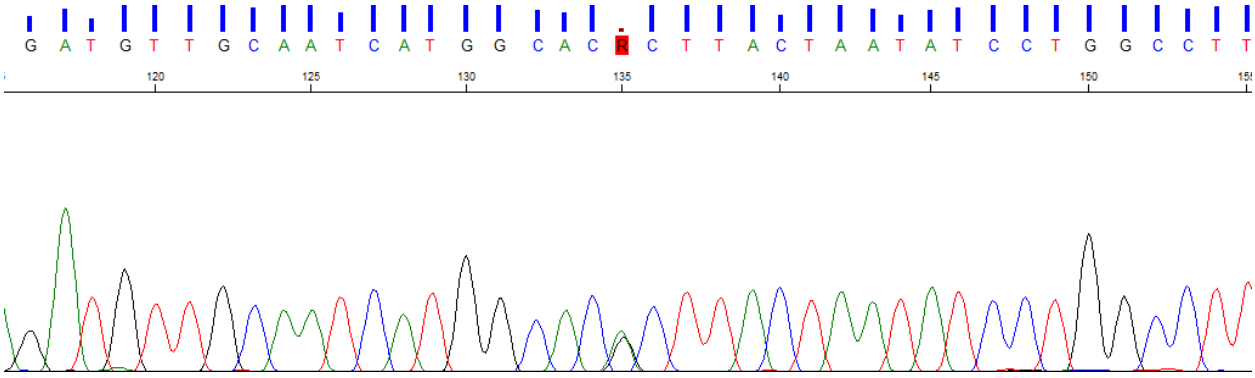


Рисунок 27 – Сиквенс образца № 3024 (rs72648237, c.84463 G>A, ген *TTN*)

Мутации rs72648237 и rs200181804 могут быть связаны с развитием ДКМП, миопатией с ранним началом и фатальной кардиомиопатией, но объективных доказательств согласно ClinVar этому нет [301, 283]. Согласно некоторым инструментам анализа in silico (Polyphen2, MutationTaster, SIFT) мутации является повреждающей. Мутации отсутствуют в базе экзомов жителей северо-западной России [364], по данным gnomAD частота мутации для европеоидов составляет около 0,0007 и 0,0002, соответственно. Обе мутации по данным ClinVar являются мутациями с конфликтом интерпретаций. Новая мутация гена *APOB* по данным анализа in silico является повреждающей по данным некоторых инструментов (Polyphen2, MutationTaster, SIFT, PROVEAN). Ген *APOB* (apolipoprotein B, 2p24.1) кодирует главный аполипопротеин хиломикронов и ЛПНП. Мутации в гене вызывают развитие гипобеталипопротеинемии, нормотриглицеридемической гипобеталипопротеинемии, гиперхолестеринемии [49]. Ранее мутация в этой позиции нуклеотидной и аминокислотной последовательности описана не была. Таким образом, данных для оценки выявленных в образце №3024 мутаций как вероятно патогенных или патогенных недостаточно, но это не опровергает возможность их участия в патогенезе внезапной сердечной смерти.

В случае мужчины 24 лет (**№ 3026**, острая коронарная смерть, снижение концентрации калия в сердечной мышце, атеросклероз аорты) идентифицирована мутация rs150821281 (p.Ser140Phe) гена *PKP2* (рисунок 28).

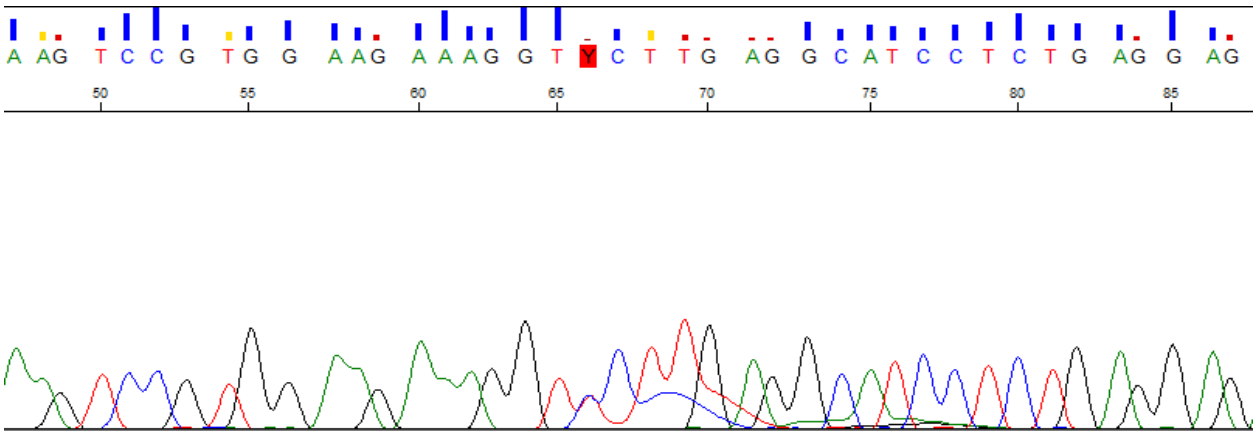


Рисунок 28 – Сиквенс образца № 3026 (rs150821281, c.419 C>T, ген *PKP2*)

Ген *PKP2* (plakophilin 2, 12p11.21) кодирует протеин, играющий роль в формировании цитоскелета, может регулировать активность бета-кетанина, мутации гена связаны с развитием ARVC [245]. Мутации гена были найдены в случае лиц умерших внезапной необъясненной смертью с негативной аутопсией, в случае внезапной сердечной смерти и одиночной ФП [37, 246]. Мутация rs150821281 гена вероятно связана с развитием ARVC, является вероятно доброкачественной или мутацией неопределенного значения в ее отношении по данным ClinVar. Мутация является повреждающей по данным FATHMM, доброкачественной по данным Polyphen2, мутацией с умеренным влиянием по данным SIFT. Показано, что вариант c.419C>T гена не ассоциирован с сердечной недостаточностью, аритмией или преждевременной смертью, ARVC, ДКМП, ГКМП или с эффектами in vitro, что позволяет предположить, что это не вариант, вызывающий заболевание [247]. Таким образом, вероятно мутация является не связанной с развитием фенотипа, приведшего к внезапной сердечной смерти. Пациент №3026 является гетерозиготным носителем варианта rs780374391 (p.Lys245fs, c.732dup) в гене *CREB3L3* (cAMP responsive element binding protein 3 like 3, 19p13.3). Ген кодирует белок, который связан с развитием острой воспалительной реакции, гепатоцеллюлярной карциномы, играет роль в метаболизме триглицеридов. Варианты гена связаны с развитием гипертриглицеридемии 2 типа (наследуется аутосомно-доминантно). По данным ClinVar вариант rs780374391 является вариантом с конфликтом интерпретаций, однако, в случае семейной гипертриглицеридемии его расценили как патогенный. По данным gnomAD частота редкого аллеля варианта около 0,0005 для европеоидов.

В случае **№ 3028** (мужчина, 33 года, острая коронарная смерть, снижение концентрации калия в сердечной мышце, атеросклероз аорты) обнаружены мутации генов *KCND3* (rs35027371, p.Arg549His), *KCNH2* (rs143512106, p.Arg885Cys), *SNTA1* (rs770192754, p.Glu278Lys), *TGFB3* (rs201453600, p.Ser138Ala).

Вариант rs35027371 гена *KCND3*, является результатом замены нуклеотида G на A в положении 1646. Аргинин в кодоне 549 заменен гистидином, аминокислотой с очень похожими свойствами. Мутация обнаружена в случае у пациента с пароксизмальной наджелудочковой тахикардией и ЭКГ-признаками синдрома Бругада 1 типа в пробе с аджмалином [93]. Ген *KCND3* (potassium voltage-gated channel subfamily D member 3, 1p13.2) кодирует калиевый канал, мутации гена ассоциированы с развитием синдрома Бругада [197]. Мутация rs35027371 является повреждающей по данным Polyphen2, SIFT, FATHMM, PROVEAN). Частота редкого аллеля мутации rs35027371 в базе экзомов жителей северо-западной России составляет 0,0007 [364], по данным gnomAD частота мутации для европеоидов составляет около 0,0002. Данных для оценки выявленного варианта гена *KCND3* в образце №3028 как вероятно патогенного или патогенного недостаточно, но это не опровергает возможность его участия в патогенезе аритмического синдрома и как следствие внезапной сердечной смерти.

Мутация rs143512106 гена *KCNH2* (рисунок 29) относится по данным ClinVar к мутациям с неопределенным значениям. Мутация связана с заменой аргинин на цистеин в кодоне 885 белка KCNH2. Остаток аргинина умеренно консервативен, и между аргинином и цистеином существует большая физико-химическая разница. Этот вариант присутствует в популяционных базах данных и имеет более высокое количество аллелей, чем ожидалось для патогенного варианта. Мутация найдена у лиц с LQTS. Однако, по крайней мере, один из этих пациентов был компаунд-гетерозиготой, что позволяет предположить, что этот вариант гена не был первичной причиной заболевания [280]. Мутация отсутствует в базе экзомов жителей северо-западной России [364], по данным gnomAD частота мутации для европеоидов составляет около 0,0003. Мутация является повреждающей по данным Mutation Taster, SIFT, FATHMM, PROVEAN. Ген *KCNH2* (potassium voltage-gated channel subfamily H member 2, 7q36.1) кодирует калиевый канал, мутации гена связаны с LQTS 2 типа [198].

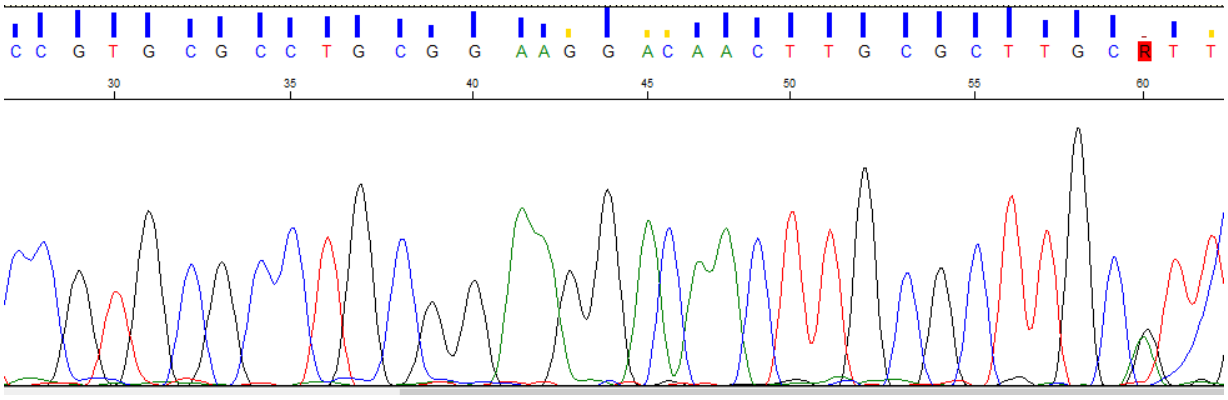


Рисунок 29 – Сиквенс образца № 3028 (rs143512106, c.2653 C>T, ген *KCNH2*)

Мутация rs770192754 гена *SNTA1* не встречается в доступных литературных источниках, согласно анализу in silico она является повреждающей (Mutation Taster, SIFT, PROVEAN). Мутация отсутствует в базе экзомов жителей северо-западной России [364], по данным gnomAD частота мутации для европеоидов составляет около 0,00002. Ген *SNTA1* (syntrophin alpha 1, 20q11.21) является геном-кандидатом для LQTS, внезапной сердечной смерти и внезапной младенческой смерти [314].

Мутация rs201453600 гена *TGFB3* по данным ClinVar является мутацией с неопределенным значением, может быть связана с семейными случаями аневризмы аорты и ее диссекции [286]. Мутация отсутствует в базе экзомов жителей северо-западной России [364], по данным gnomAD частота мутации для европеоидов составляет около 0,0002. Мутация является повреждающей по данным Mutation Taster, мутацией умеренного влияния по данным SIFT, FATHMM. Таким образом, клиническое значение варианта на данный момент не ясно.

То есть, в образце № 3028 найдены 4 мутации, одна мутация – в случае пароксизмальной наджелудочковой тахикардии и ЭКГ-признаками синдрома Бругада 1 типа (rs35027371 гена *KCND3*), мутация (rs143512106 гена *KCNH2*) – в случае LQTS, но вероятно, не являющаяся причиной синдрома, но влияющая на его развитие вместе с другими изменениями нуклеотидной последовательности и

2 мутации неясного значения (в гене-кандидате для LQTS, внезапной сердечной смерти и внезапной младенческой смерти – *SNTA1*, гене, связанном с семейными случаями аневризмы аорты и ее диссекции – *TGFB3*).

В случае **№ 3029** (мужчина, 37 лет, острая коронарная смерть, снижение концентрации калия в сердечной мышце, атеросклероз аорты) найдены варианты rs61757671 (p.Glu2025Lys) гена *AKAP9*, rs202014478 (p.Val11248Ile) гена *TTN* и новый вариант p.G252X (c.754G>T) в 8 экзоне гена *ANKRD1*. Сиквенс участка гена *AKAP9* образца № 3029 представлен на рисунке 30.

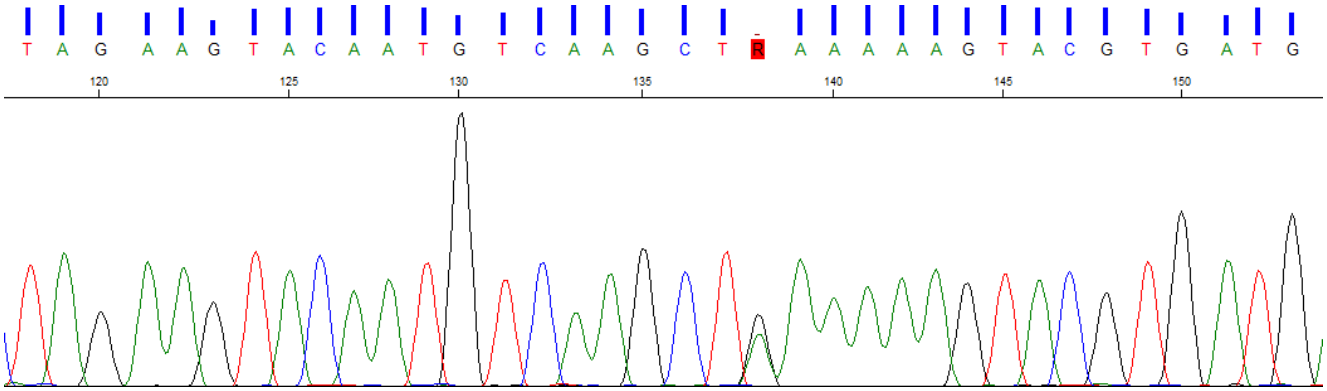


Рисунок 30 – Сиквенс образца № 3029 (rs61757671, c.6070 G>A, ген *AKAP9*)

Мутации отсутствуют в базе экзомов жителей северо-западной России [364], по данным gnomAD частота мутаций для европеоидов составляет около 0,002 и 0,006, соответственно. Мутация rs202014478 гена *TTN* может быть связана с развитием миопатии с ранним началом и фатальной кардиомиопатией, но объективных доказательств согласно ClinVar этому нет [287]. Мутация повреждающая по данным Mutation Taster, мутация умеренного влияния по данным FATHMM, SIFT. Мутация rs61757671 гена *AKAP9* вероятно связана с синдромом Романо-Вард [293]. Мутации гена *AKAP9* (A-kinase anchoring protein 9, 7q21.2) ассоциированы с развитием LQTS 11 типа [46]. Мутация расценена как повреждающая по данным Mutation Taster, Polyphen2, PROVEAN. В некоторых исследованиях варианты гена *AKAP9* найдены в случаях внезапной

необъясненной смерти [136]. Вариант гена *ANKRD1* (ankyrin repeat domain 1, 10q23.31) приводит к образованию стоп-кодона в 8 из 9 экзонов гена. Ген *ANKRD1* кодирует белок, который локализуется в ядре эндотелиальных клеток и индуцируется стимуляцией IL-1 и TNF-альфа, возможно, функционирует как фактор транскрипции. Варианты в гене связаны с развитием кардиомиопатии. Таким образом, на данный момент недостаточно данных для того, что расценить найденные варианты как патогенные или вероятно патогенные в отношении развития внезапной сердечной смерти.

Таким образом, проведенное исследование – первое такое исследование в России. Внезапная сердечная смерть - сложный фенотип в основе, которого могут лежать мутации в более чем в 100 генах (по некоторым оценкам – около 200 генов), что существенно повышает сложность решаемой задачи и объём работы, который необходимо выполнить по каждому образцу. Тем не менее, уже первые результаты по эффективности поиска причинных мутаций сопоставимы с данными зарубежных исследований. Из 37 образцов ДНК лиц умерших внезапной сердечной смертью при анализе результатов секвенирования 205 генов было обнаружено 34 варианта, вероятно имеющих отношение к фенотипу внезапной сердечной смерти в 18 образцах. Найденные мутации локализованы в генах, ассоциированных с фенотипами, приводящими к развитию внезапной сердечной смерти (ГКМП, ДКМП, нарушения ритма сердца). Необходимо продолжение исследований в области молекулярной аутопсии в России. Для повышения результативности поиска причинных мутаций желательно снижение возраста случаев внезапной сердечной смерти включаемых в исследование, работа с семьями умерших внезапной сердечной смертью, сотрудничество опытных специалистов – судебно-медицинского эксперта, лабораторного генетика, биоинформатика, кардиолога.

3.4 Исследование однонуклеотидных полиморфизмов, выявленных при анализе результатов экзомного секвенирования как вероятные молекулярно-генетические маркеры внезапной сердечной смерти

В контрольной группе наблюдаемые частоты генотипов полиморфизмов rs34643859, rs12804550, rs4514993, rs1008832, rs4027402, rs2340917, rs58225473 соответствуют ожидаемым согласно равновесию Харди-Вайнберга (χ^2 = 0,08; 0,14; 0,21; 1,37; 2,34; 1,05; 0,37, соответственно).

Выбранные для исследования однонуклеотидные полиморфизмы локализованы в генах, кодирующих субъединицы ионных каналов, генов, имеющих отношение к патогенезу заболеваний, лежащих в основе внезапной сердечной смерти. Частоты редкого аллеля выбранных полиморфизмов полученные по результатам экзомного секвенирования в группе мужчин умерших внезапной сердечной смертью в возрасте до 45 лет (n = 37) отличается от популяционной частоты по данным базы gnomAD для лиц европеоидной расы. Таким образом, предполагалось, что выбранные полиморфизмы могут быть новыми молекулярно-генетическими маркерами внезапной сердечной смерти. Однако, не всегда результаты, полученные по данным современных молекулярно-генетических исследований (полноэкзомное секвенирование) реплицируются по результатам верифицирующих исследований, проведенных рутинными молекулярно-генетическими методами на крупных выборках.

Однонуклеотидный полиморфизм rs34643859 (c.77-31A>G/g.45098726T>C) локализован в гене *KCNS1* [290]. Потенциал-зависимые калиевые каналы формируют большой класс ионных каналов, главная функция которых ассоциирована с регуляцией мембранного потенциала покоя и контролем формы и частоты потенциалов действия. Альфа субъединицы делятся на два типа: функционирующие самостоятельно и модулирующие активность специфических функциональных альфа субъединиц. Ген *KCNS1* (potassium voltage-gated channel modifier subfamily S member 1, 20q13.12) кодирует нефункциональную субъединицу, которая может формировать гетеромультимеры с другими членами

ионных каналов. Ген принадлежит к S подсемейству калиевых ионных каналов [200]. По частотам генотипов и аллелей полиморфизма rs34643859 не найдено статистически значимых различий между группами внезапной сердечной смерти и контрольной группой (p > 0,05) (таблица 28).

Таблица 28 – Частоты генотипов и аллелей rs34643859 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе

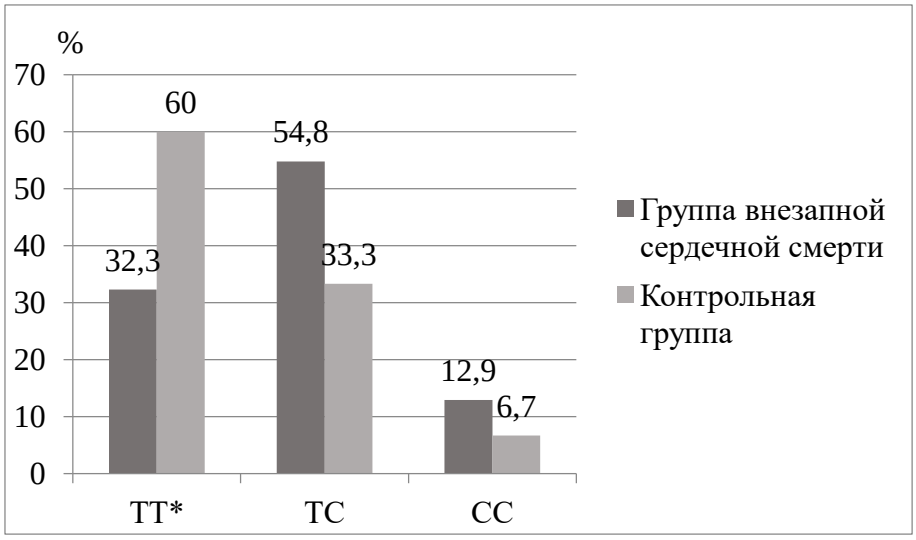
Группа	Генотип/аллель	Группа внезапной сердечной смерти		Контрольная группа		p
		n	%	n	%	
без разделения по полу и возрасту	CC	48	11,5	43	11,2	0,99
	TC	181	43,2	167	43,6	
	TT	190	45,3	173	45,2	
	C	277	33,1	253	33,0	1,0
	T	561	66,9	513	67,0	
женщины младше 50 лет	CC	4	12,9	2	6,7	0,09
	TC	17	54,8	10	33,3	
	TT*	10	32,3	18	60,0	
	C	25	42,4	14	23,3	0,03
	T	34	57,6	46	76,7	

Примечание: n – число индивидов, p – значимость различий, * указывает на статистически значимые различия при использовании модели «генотип 1 vs генотип 2 + генотип 3»

Однако при разделении групп по полу и возрасту в группе женщин в возрасте до 50 лет выявлено статистически значимое уменьшение носительниц генотипа TT и аллеля T в группе внезапной сердечной смерти (32,3%; 57,6%, соответственно) по сравнению с контрольной группой (60,0%; 76,7%, соответственно) (ОШ = 0,32, 95% ДИ 0,11–0,91, p = 0,04; ОШ = 0,41, 95% ДИ 0,19–0,91, p = 0,03, соответственно) (рисунок 31).

В группе внезапной сердечной смерти найдена статистически значимая ассоциация полиморфизма rs34643859 с толщиной миокарда правого желудочка: у

носителей генотипа редкого гомозиготного генотипа CC толщина миокарда правого желудочка значимо больше по сравнению с носителями генотипов TT и TC (p = 0,009) (таблица 29). В контрольной группе найдена ассоциация полиморфизма rs34643859 с частотой сердечных сокращений: у носителей генотипа редкого гомозиготного генотипа CC частота сердечных сокращений значимо больше по сравнению с носителями генотипов TT и TC (p = 0,023) (таблица 30).



Примечание: * – TT vs TC + CC: ОШ = 0,32, 95 % ДИ 0,11–0,91, p = 0,04.

Рисунок 31 – Частоты генотипов rs34643859 в группе женщин младше 50 лет

Таким образом, согласно полученным результатам, можно предположить, что для женщин младше 50 лет генотип TT полиморфизма rs34643859 связан с протективным эффектом в отношении внезапной сердечной смерти. Возможно, механизм вклада полиморфизма гена в феномен внезапной сердечной смерти реализуется через изменение частоты сердечных сокращений и изменение толщины стенки миокарда правого желудочка. Так как полиморфизм локализован в гене, кодирующем компонент калиевого канала, то полученные данные по связи полиморфизма с частотой сердечных сокращений можно считать закономерными.

Но в силу небольшой численности группы женщин, включенных в исследование, полученные результаты требуют дополнительной проверки в более крупном исследовании.

Таблица 29 – Толщина миокарда правого желудочка в группе внезапной сердечной смерти в зависимости от генотипа rs34643859

Генотип	Толщина миокарда правого желудочка Me (Q25–Q75), см	Значимость различий (p)
CC	0,5 (0,425–0,6)	0,009
CT + TT	0,4 (0,3–0,5)	
Примечание: Me – медиана, Q25 – 25-й процентиль, Q75 – 75-й процентиль		

Однонуклеотидный полиморфизм rs12804550 (c.191+62C>T/ g.118011860G>A) локализован в гене *SCN4B* [277]. Ген *SCN4B* (sodium voltage-gated channel beta subunit 4, 11q23.3) кодирует одну из нескольких бета-субъединиц натриевых каналов. Кодируемая субъединица, взаимодействуя с потенциал-зависимой альфа-субъединицой, изменяет кинетику натриевого канала. Дефект гена связан с развитием LQTS 10 типа (LQTS10). Кроме того, мутации в гене найдены связанными с желудочковой тахикардией, семейной формой ФП [229, 185].

Таблица 30 – Частота сердечных сокращений в зависимости от генотипа rs34643859 в группе контроля

Генотип	Частота сердечных сокращений Me (Q25–Q75), ударов в минуту	Значимость различий (p)
CC	81,7 (73,2–88,5)	0,023
CT + TT	70,7 (64,0–78,3)	
Примечание: Me – медиана, Q25 – 25-й процентиль, Q75 – 75-й процентиль		

Однонуклеотидный полиморфизм rs4514993 (c.1474-60T>A/ g.38946872A>T) локализован в гене *SCN11A* [291]. Ген *SCN11A* (sodium voltage-gated channel alpha subunit 11, 3p22.2) кодирует члена семейства альфа-субъединиц натриевого канала. Потенциал-зависимые натриевые каналы ответственны за генерацию и распространение потенциалов действия в нейронах и мышцах [307]. Ген найден как ген-кандидат для внезапной сердечной смерти при эпилепсии [154].

Однонуклеотидный полиморфизм rs1008832 (c.1114-487A>G) локализован в гене *CACNA1C* (calcium voltage-gated channel subunit alpha1 C, 12p13.33), который кодирует альфа-субъединицу кальциевого канала. Мутации гена *CACNA1C* связаны с синдромом Бругада, Тимоти, LQTS 8 типа и рядом психиатрических заболеваний [255]. Синдром Бругада, LQTS могут быть непосредственной причиной развития внезапной сердечной смерти. Мутации гена были найдены в отдельных случаях внезапной сердечной смерти: мутация p.G1795R найдена в случае туниской семьи с семейной историей ранних внезапных сердечных смертей наряду с еще несколькими мутациями других генов [222], мутации E850del и N2091S найдены в двух случаях внезапной смерти [219], мутация A1744S гена *MYH7* и мутация T171M гена *CACNA1C* найдены в случае 26-летнего мужчины, смерть, которого произошла в отделении скорой помощи, при этом острые симптомы развились, когда мужчина был за рулем автомобиля – пресинкопе, возможно судорожный припадок, в отделении скорой помощи у него была записана патологичная электрокардиограмма и возникла остановка сердца, причиной смерти по данным судебно-медицинского исследования стало нарушение ритма сердца [255].

Однонуклеотидный полиморфизм rs4027402 (c.6851C>T, p.Ala2284Val) локализован в гене *SYNE2* (spectrin repeat containing nuclear envelope protein 2, 14q23.2), продукт которого необходим для поддержания структурной целостности ядра [328]. Полиморфизм rs4027402 гена является доброкачественным в отношении развития мышечной дистрофии Эмери-Дрейфуса, которая связана в том числе с дефектами проводящей системы сердца, что может привести к

внезапной смерти [264]. Также мутации гена были найдены при ФП [153, 234]. Ассоциация повышенной экспрессии гена с рядом рисковых полиморфизмов найдена в периферической крови при ФП [156].

Однонуклеотидный полиморфизм rs58225473 (c.1800T>G, p.Asp600Glu) расположен в гене *CACNB2* (calcium voltage-gated channel auxiliary subunit beta 2, 10p12.33-p12.31). Ген кодирует субъединицу потенциал-зависимого кальциевого канала. Продукт гена был первоначально идентифицирован как антигенная мишень при миастеническом синдроме Ламберта-Итона. Мутации в гене ассоциированы с синдромом Бругада, SQTS [77, 194]. Также найдена связь гена с заболеваниями аутистического спектра, синдромом дефицита внимания – гиперактивности, биполярным расстройством, большим депрессивным расстройством, шизофренией, артериальной гипертензией, сердечной недостаточностью [315]. Мутации гена также были идентифицированы и в некоторых случаях внезапной смерти. Мутация p.R551P гена найдена в случае 36-летнего мужчины с анамнезом астмы и шизофрении умершего во сне на фоне лихорадки [324]. Мутация p.Ser502Leu гена вместе с мутациями p.Gly289Ser гена *SCN5A*, p.Lys1573Glu гена *MYH11* найдена как вероятно патогенная в случае молодой женщины, найденной мертвой в горячей ванне, по данным аутопсии все экстракардиальные причины смерти были исключены [173]. По данным ClinVar включенный в исследование полиморфизм rs58225473 является доброкачественной заменой при синдроме Бругада 4 типа. В одном из исследований при синдроме Бругада у женщины-пробанда была идентифицирована мутация rs199473660 (p.Val2014Ile) гена *CACNA1C* и полиморфизм rs58225473 (p.D601E) гена *CACNB2* [225]. Полиморфизм связан с изменением функции ионного канала, показано, что при носительстве полиморфизма замедляется инактивация кальциевого тока L-типа, что значительно увеличивает общий заряд [121].

Однонуклеотидный полиморфизм rs2340917 (c.536T>C, p.Met179Thr) локализован в гене *TMEM43* (transmembrane protein 43, 3p25.1). По данным

ClinVar включенный в исследование полиморфизм rs2340917 выступает как доброкачественный вариант в развитии ARVC 5 типа [288].

По частотам генотипов и аллелей полиморфизмов rs12804550, rs4514993, rs1008832, rs4027402, rs2340917, rs58225473 не найдено статистически значимых различий между группой внезапной сердечной смерти и контрольной группой ($p > 0,05$) (таблица 31), то есть изученные однонуклеотидные полиморфизмы не ассоциированы с внезапной сердечной смертью по результатам проведенного исследования.

Несмотря на то, что полиморфизмы rs12804550, rs4514993, rs1008832, rs4027402, rs2340917, rs58225473 локализованы в генах, связанных с нарушениями ритма сердца или сами ассоциированы с ними, частоты редкого аллеля полиморфизмов, полученные по результатам экзомного секвенирования отличаются от частот аллелей по данным gnomAD (таблица 32), по результатам проведенного исследования не удалось подтвердить ассоциацию полиморфизмов с внезапной сердечной смертью.

Ранее изучаемые полиморфизмы не были включены в какие-либо мировые научно-исследовательские проекты по данным доступной научной литературы. Таким образом, данные по ассоциации полиморфизмов rs34643859 гена *KCNS1*, rs12804550 гена *SCN4B*, rs4514993 гена *SCN11A*, rs1008832 гена *CACNA1C*, rs4027402 гена *SYNE2*, rs2340917 гена *TMEM43*, rs58225473 гена *CACNB2* получены впервые в мире.

Научная гипотеза, согласно которой было предположено, что при анализе результатов экзомного секвенирования возможно выявить новые молекулярно-генетические маркеры внезапной сердечной смерти была подтверждена по результатам проведенного исследования: из семи выбранных однонуклеотидных полиморфизмов один выявлен как ассоциированный с внезапной сердечной смертью. Однонуклеотидные полиморфизмы rs12804550 гена *SCN4B*, rs4514993 гена *SCN11A*, rs1008832 гена *CACNA1C*, rs4027402 гена *SYNE2*, rs2340917 гена *TMEM43*, rs58225473 гена *CACNB2* не ассоциированы с внезапной сердечной смертью.

Таблица 31 – Частоты генотипов и аллелей rs12804550, rs4514993, rs1008832, rs4027402, rs2340917, rs58225473 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе

№	Однонуклеотидный полиморфизм	Генотип/аллель	Группа внезапной сердечной смерти		Контрольная группа		p
			n	%	n	%	
1	rs12804550	GG	304	84,0	314	82,4	0,51
		GA	54	14,9	65	17,1	
		AA	4	1,1	2	0,5	
		G	662	91,4	693	90,9	0,78
		A	62	8,6	69	9,1	
2	rs4514993	AA	7	2,0	9	2,7	0,75
		TA	65	18,7	58	17,1	
		TT	275	79,3	272	80,2	
		A	79	11,4	76	11,2	0,93
		T	615	88,6	602	88,8	
3	rs1008832	AA	127	34,9	146	34,4	0,5
		AG	173	47,5	216	50,8	
		GG	64	17,6	63	14,8	
		A	427	58,7	508	59,8	0,68
		G	301	41,3	342	40,2	
4	rs4027402	TT	317	74,2	314	72,6	0,73
		CT	105	24,6	111	25,7	
		CC	5	1,2	7	1,7	
		T	739	86,5	739	85,5	0,58
		C	115	13,5	125	14,5	

Продолжение таблицы 31

№	Однонуклеотидный полиморфизм	Генотип/аллель	Группа внезапной сердечной смерти		Контрольная группа		p
			n	%	n	%	
5	rs2340917	TT	200	51,5	207	50,2	0,91
		TC	160	41,2	176	42,7	
		CC	28	7,3	29	7,1	
		T	560	72,2	590	71,6	0,82
		C	216	27,8	234	28,4	
6	rs58225473	TT	230	68,2	229	68,6	0,32
		TG	92	27,2	97	29,0	
		GG	15	4,6	8	2,4	
		T	552	81,9	555	83,1	0,62
		G	122	18,1	113	0,17	

Для женщин младше 50 лет генотип TT полиморфизма rs34643859 гена *KCNS1* ассоциирован с протективным эффектом в отношении внезапной сердечной смерти. У носителей гомозиготного генотипа CC толщина миокарда правого желудочка, частота сердечных сокращений значимо больше по сравнению с носителями генотипов TT и TC. Однако группа женщин младше 50 лет является немногочисленной, что требует дополнительных подтверждающих исследований ассоциации полиморфизма rs34643859 с внезапной сердечной смертью в данной половозрастной группе с увеличением ее численности.

Таблица 32 – Частоты редкого аллеля полиморфизмов, полученные по результатам экзомного секвенирования и по данным gnomAD

№	refSNP	Частота редкого аллеля по данным gnomAD	Частота редкого аллеля по данным экзомного секвенирования	Частота редкого аллеля по данным исследования «случай-контроль» в группе внезапной сердечной смерти	Частота редкого аллеля по данным исследования «случай-контроль» в группе контроля
1	rs34643859	0,30 (C)	0,17	0,33	0,33
2	rs12804550	0,18 (A)	0,12	0,09	0,09
3	rs4514993	0,11 (A)	0,21	0,11	0,11
4	rs1008832	0,37 (G)	0,13	0,41	0,4
5	rs4027402	0,12 (C)	0,23	0,13	0,15
6	rs2340917	0,29 (C)	0,43	0,28	0,28
7	rs58225473	0,18 (G)	0,27	0,18	0,17
Примечание. RefSNP - Reference SNP (National Center for Biotechnology Information (NCBI)), gnomAD - Genome Aggregation Database					

3.5 Ассоциация метилирования CpG-островков отдельных генов с внезапной сердечной смертью

3.5.1 Метилирование промотора гена *ABCA1*

В группе внезапной сердечной смерти у 22 % (33/150) промотор гена *ABCA1* полностью метилирован (MM); у 1,3 % (2/150) полностью неметилирован (UU); у 76,7 % (115/150) обнаружен как метилированный, так и неметилированный промотор гена (MU). В контрольной группе у 27,3 % (41/150) промотор гена *ABCA1* полностью метилирован; у 7,4 % (11/150) полностью неметилирован; у

65,3 % (98/150) обнаружен как метилированный, так и неметилированный промотор гена (рисунок 32).

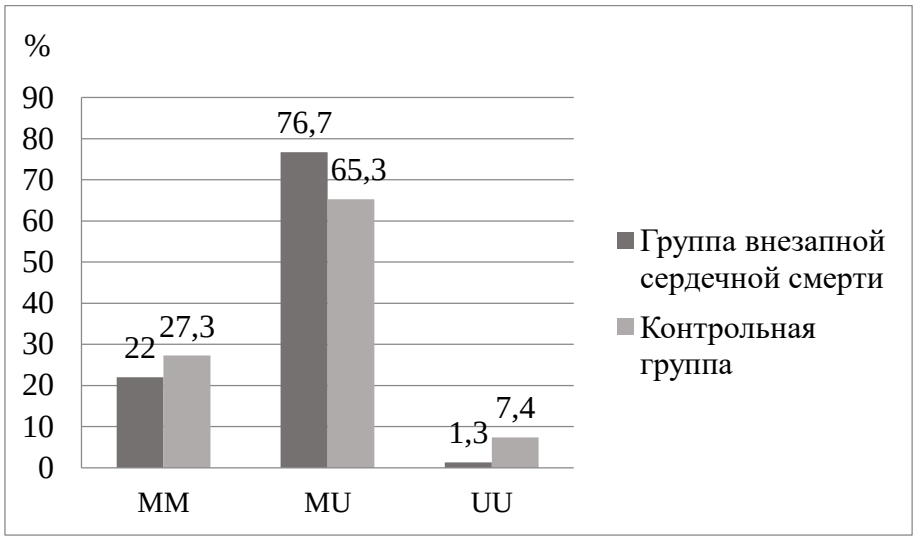


Рисунок 32 – Статус метилирования промотора гена *ABCA1* в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе

При сравнении групп выявлены статистически значимые различия по статусу метилирования промотора гена *ABCA1* между группами (p = 0,015). В группе внезапной сердечной смерти доля лиц, у которых промотор гена *ABCA1* метилирован, статистически значимо больше по сравнению с контрольной группой (MM + MU vs UU: ОШ = 5,86, 95 % ДИ 1,28–26,89, p = 0,020).

Ген *ABCA1* (ATP binding cassette subfamily A member 1, 9q31.1) кодирует транспортер молекул через вне- и внутриклеточные мембраны. Используя холестерин в качестве субстрата, протеин функционирует как эффлюксный насос в обратном транспорте липидов в клетках. Мутации гена связывают с развитием семейного дефицита альфа-липопротеинов (гипоальфалипопротеинемия) и семейного дефицита липопротеинов высокой плотности [125]. Экспрессия гена *ABCA1* идентифицирована как независимый предиктор развития ИБС, атеросклеротических бляшек, в том числе некальцифицированных [135]. Метилирование промотора гена *ABCA1* выявлено как значимый фактор риска

развития, но не тяжести ИБС: частота метилирования промотора выше в группе лиц с ИБС по сравнению с контрольной группой, а также в более старшей возрастной группе [167]. Уровень метилирования промотора гена *ABCA1* негативно коррелирует с концентрацией холестерина липопротеинов высокой плотности у лиц с семейной гиперхолестеринемией (СГХС). Также метилирование гена *ABCA1* связано с анамнезом ИБС [125]. В пилотном исследовании показано, что метилирование промотора гена *ABCA1* может быть использовано в качестве значимого биомаркера ранней диагностики атеросклероза [191]. У женщин в Японии подтверждена обратная зависимость между метилированием промотора гена и уровнем холестерина липопротеинов высокой плотности, и найдена связь между уровнем метилирования промотора гена *ABCA1* и диетой: у женщин с диетой обогащенной овощами, витаминами уровень метилирования промотора гена значимо ниже [55, 55]. Полиморфизмы гена *ABCA1* ассоциированы с уровнем ряда показателей липидного обмена: rs363717, rs2230806, rs4149313, rs9282541 – с риском ИБС, rs2230808 – с уровнем общего холестерина в крови, rs363717, rs4149339, rs4149338 – с повышенным уровнем триглицеридов в крови [42, 60, 204]. Полиморфизм rs2230806 связан с уровнем триглицеридов у пациентов с тяжелой дислипидемией [339]. По данным проведенного мета-анализа уровень холестерина липопротеинов высокой плотности ассоциирован с полиморфизмом rs2246293 [311].

Согласно полученным данным метилирование промотора гена *ABCA1* ассоциировано с риском внезапной сердечной смерти. В группе внезапной сердечной смерти доля лиц, у которых промотор гена *ABCA1* метилирован, статистически значимо больше по сравнению с контрольной группой. Согласно данным мировой научной литературы ранее исследований по поиску связи метилирования промотора гена *ABCA1* с внезапной сердечной смертью проведено не было. Однако, в зарубежных исследованиях показано, что метилирование промотора гена ассоциировано с риском ИБС, нарушениями липидного гомеостаза. Так как ИБС является наиболее распространенным субстратом

развития внезапной сердечной смерти в старшей возрастной группе, полученные нами результаты являются закономерными. Но в силу небольшой численности групп, включенных в исследование, требуется дополнительная проверка выявленной ассоциации в группах с большей численностью, с включением в исследование женщин.

3.5.2 Метилирование промотора гена *HMGCR*

В группе внезапной сердечной смерти у 45,3 % (68/150) промотор гена *HMGCR* полностью метилирован (MM); у 2,0 % (3/150) полностью неметилирован (UU); у 52,7 % (79/150) обнаружен как метилированный, так и неметилированный промотор гена (MU). В контрольной группе у 42,0 % (63/150) промотор гена полностью метилирован; у 6,0 % (9/150) полностью неметилирован; у 52,0 % (78/150) обнаружен как метилированный, так и неметилированный промотор гена (рисунок 33). При сравнении групп не выявлено статистически значимых различий по статусу метилирования промотора гена *HMGCR* между группами ($p > 0,05$).

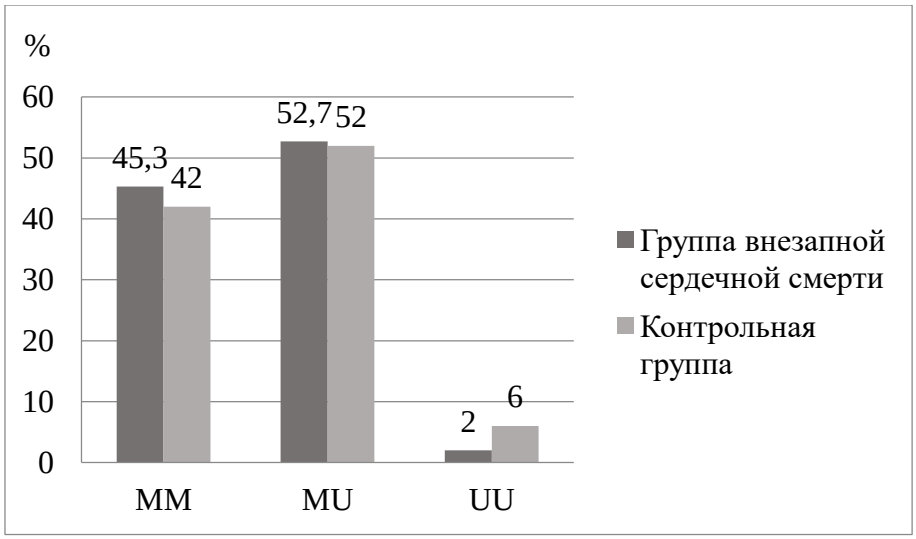


Рисунок 33 – Статус метилирования промотора гена *HMGCR* в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе

В группе внезапной сердечной смерти доля лиц, у которых промотор гена *HMGCR* метилирован (98,0 %) больше по сравнению с контрольной группой (94,0 %) (MM + MU vs UU), но выявленные различия не достигают уровня статистической значимости (p = 0,138).

Ген *HMGCR* (3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase, 5q13.3) кодирует фермент гидроксиметилглутарил-КоА редуктазу (ГМГ-КоА редуктазу) [176]. ГМГ-КоА редуктаза участвует в синтезе мевалоната, который является одним из этапов синтеза холестерина, и лимитирует скорость биосинтеза холестерина. Активность фермента регулируется посредством обратной связи с помощью стероловых и нестероловых метаболитов мевалоната [316]. В клетках млекопитающих ГМГ-КоА редуктаза инактивируется холестерином, образующимся в результате деградации холестерина липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) посредством рецепторов ЛПНП. Конкурентные ингибиторы редуктазы индуцируют экспрессию рецепторов ЛПНП в печени, что в свою очередь увеличивает катаболизм ЛПНП плазмы и снижает концентрацию холестерина, как важного фактора развития атеросклероза [316]. Уровень ЛПНП значимо ассоциирован с однонуклеотидными полиморфизмами, расположенными около и в гене HMGCR [77, 39]. Кроме того, ГМГ-КоА редуктаза является терапевтической мишенью для такого класса лекарственных препаратов, как статины, найдены некоторые однонуклеотидные полиморфизмы гена HMGCR, влияющие на эффективность терапии данным классом препаратов [177]. Таким образом, ГМГ-КоА редуктаза является одним из ключевых ферментов обмена холестерина.

Согласно исследованию, проведенному в Индии, для лиц младше 50 лет показана ассоциация гиперметилирования промотора гена *HMGCR* с ИБС. Исследование было проведено методом таргетного бисульфитного секвенирования. Обращает на себя внимание, что численность групп, включенных в исследование невысока (42 здоровых человека в группе контроля и 33 молодых пациента с ИБС) [192]. В исследовании «случай-контроль» в Китае (группа лиц с ИБС 85 человек и контрольная группа 54 человека) не найдено

ассоциации метилирования промотора гена *HMGCR* с риском развития ИБС. Средний возраст участников исследования в Китае – 61 год для группы ИБС, и 56 лет для контрольной группы. В группе ИБС мужчин было больше (57 человек), чем в группе контроля (30 человек). Количество лиц с метилированным промотором гена *HMGCR* в группе ИБС больше по сравнению с контрольной группой (34,1 % в группе ИБС, 22,2 % в группе контроля), та же закономерность сохраняется и при разделении групп по полу. Выявленные различия не достигают уровня статической значимости (p = 0,134) также, как и в проведенном нами исследовании [351]. Обращает на себя внимание небольшая численность групп, групп мужчин, включенных в исследования в Китае и Индии, возраст лиц, включенных в исследования также отличен – в Индии молодые пациенты с ИБС в возрасте до 50 лет, в Китае – более возрастные пациенты со средним возрастом ближе к 60 годам. Возможно, метилирование промотора гена HMGCR вносит вклад в развитие ИБС только в младшей возрастной группе. При разделении исследуемых нами групп по возрасту (младше и старше 50 лет) статистически значимые различия между группами по статусу метилирования промотора гена *HMGCR* также не были найдены.

Таким образом, согласно результатам исследования метилирование промотора гена *HMGCR* не ассоциировано с внезапной сердечной смертью. Однако наблюдаемое увеличение численности лиц с метилированным промотором гена *HMGCR* в группе внезапной сердечной смерти по сравнению с контрольной группой, позволяет предположить, что при увеличении численности групп, включенных в исследование, выявленные различия достигнут уровня статистической значимости. При этом необходимо проверить гипотезу причастности метилирования промотора гена *HMGCR* к риску внезапной сердечной смерти в младшей возрастной группе, увеличив именно численность молодых лиц, включенных в исследование.

3.5.3 Метилирование гена *F2RL3*

В группе внезапной сердечной смерти у 17,5 % (26/150) изучаемый CpG - островок гена *F2RL3* (19:16890405-16890606, GRCh38.p13) полностью метилирован (MM); у 5,8 % (9/150) полностью неметилирован (UU); у 76,6 % (115/150) обнаружен как метилированный, так и неметилированный ген *F2RL3* (MU). В контрольной группе у 16 % (24/150) ген *F2RL3* полностью метилирован (MM); у 5,3 % (8/150) полностью неметилирован (UU); у 78,7 % (118/150) обнаружен как метилированный, так и неметилированный ген *F2RL3* (MU) (рисунок 34). При сравнении групп не выявлены статистически значимые различия по статусу метилирования гена *F2RL3* между группами ($p > 0,05$).

Согласно данным мировой научной литературы, раннее не было проведено исследований по изучению метилирования гена *F2RL3* при внезапной сердечной смерти. Ген *F2RL3* (F2R like thrombin or trypsin receptor 3, 19p13.11) кодирует рецептор, который играет роль в процессе свертывания крови, воспалении и реакции на боль. В исследованиях на базе проектов KAROLA, ESTHER показана ассоциация метилирования гена *F2RL3* со смертностью у лиц с ИБС, которая является причиной внезапной сердечной смерти в почти 80 % случаев [313, 138]. 1206 участников исследования KAROLA (лица, перенесшие инфаркт миокарда, острый коронарный синдром, операцию на коронарных сосудах) находились под восьмилетним наблюдением, за период наблюдения произошло 64 кардиоваскулярных смерти и 50 смертей от других причин. У лиц из самого меньшего квартиля в сравнении с лицами из самого большего квартиля по метилированию гена *F2RL3* скорректированное отношение шансов для кардиоваскулярной смерти составляет 2,32, однако 95 % доверительный интервал не представляется достоверным (0,97–5,58), тогда как отношение шансов и 95 % доверительный интервал для некардиоваскулярной смерти и смерти от всех причин остаются достоверными [313].

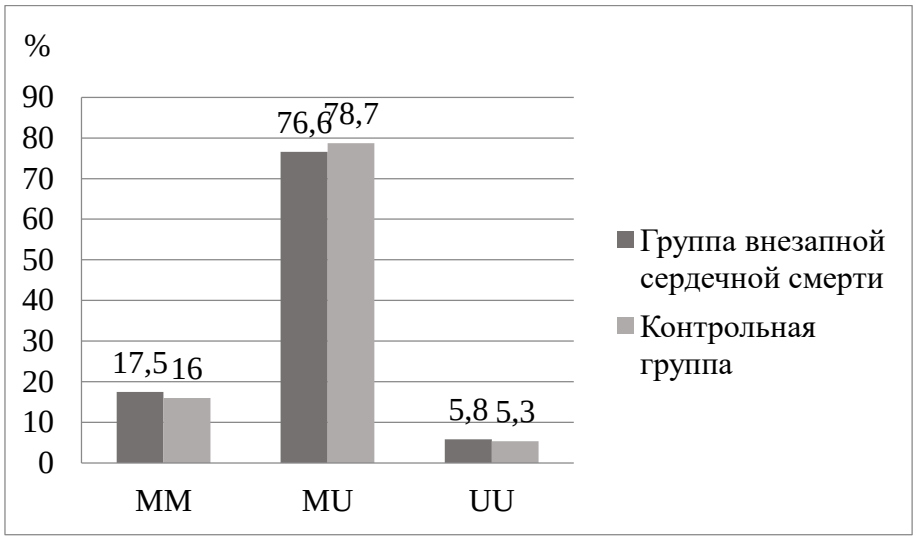


Рисунок 34 – Статус метилирования гена *F2RL3* в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе

В более позднем исследовании метилирования гена *F2RL3* (3588 человек, 10,1 год наблюдения), проведенном на базе проекта ESTHER, отношение шансов для кардиоваскулярной смерти составило 2,45, 95 % доверительный интервал оказался достоверным (1,28–4,68), найденная ассоциация оказалась более значимой для мужчин, чем для женщин. В ряде исследований показано также, что метилирование гена *F2RL3* связано с курением, которое является фактором риска кардиоваскулярных событий [138]. В исследовании Gao BF et al. найдено, что метилирование гена *F2RL3* тесно связано с артериальной гипертензией и смертностью при ИБС: в исследование включено 30 человек с ИБС и артериальной гипертензией и 30 человек с ИБС без артериальной гипертензии, период наблюдения составил 8 лет, в период наблюдения конечными точками стали инсульт, инфаркт миокарда, сердечно-сосудистая смерть, несердечная смерть [101]. Кроме того, в недавнем исследовании повышение экспрессии гена *F2RL3* было ассоциировано с ИБС [263]. Таким образом, можно было предположить, что метилирование гена *F2RL3*, имеющего отношение к процессу коагуляции, может быть ассоциировано с внезапной сердечной смертью, так как по результатам предыдущих исследований метилирование гена оказалось

ассоциированным с ИБС (основной причиной внезапной сердечной смерти у взрослого населения), кардиоваскулярной смертью, курением, которое также является фактором риска и внезапной сердечной смерти. Однако данная гипотеза не подтвердилась: по результатам проведенного исследования метилирование гена *F2RL3* не ассоциировано с внезапной сердечной смертью.

3.5.4 Метилирование гена *CDKN2A*

У всех исследуемых в обеих группах CpG-островок гена *CDKN2A* (9:21974726-21974877, GRCh38.p13) полностью неметилирован.

Ген *CDKN2A* (cyclin dependent kinase inhibitor 2A, 9p21.3) реализуется в виде нескольких транскриптов, как минимум три из которых кодируют разные белки (два из них функционируют как ингибиторы CDK4 киназы, один - как стабилизатор для белка-супрессора опухолей p53), играющие роль в контроле клеточного цикла. Ген известен как ген супрессор опухолей. Ген экспрессируется во многих тканях, наиболее активно в жировой ткани, надпочечниках, селезенке, желудке и яичках [85]. Локус 9p21, которому принадлежит ген *CDKN2A*, по данным нескольких исследований содержит ряд вариантов, ассоциированных с риском ИБС. «Горячие» варианты локуса локализованы поблизости и в пределах генов *CDKN2B*, *CDKN2A*, 3’-конца *CDKN2BAS*. Делеция локуса 9p21 приводит к снижению экспрессии CDKN2A/B и проявляется чаще всего в менее стабильных атеросклеротических бляшках [336]. В том числе, показана ассоциация полиморфизмов локуса с внезапной сердечной смертью (rs1333049, rs10757278) [41, 64]. Показано, что гипометилирование гена *CDKN2A* ассоциировано с повышенным риском ИБС (ОШ = 1,79, 95 % ДИ = 1,22–2,63) [263]. Таким образом, метилирование гена ассоциировано с риском ИБС, а варианты, локализованные в пределах гена - с риском ИБС, внезапной сердечной смерти, поэтому было предположено, что статус метилирования гена может быть ассоциирован с внезапной сердечной смертью. Однако, по результатам проведенного исследования у всех лиц, включенных в исследование, ген оказался

полностью неметилированным. При получении однородного результата по статусу метилирования гена *CDKN2A* можно было бы заподозрить ошибку в методике проведения метил-специфической ПЦР, однако корректность работы системы ПЦР неоднократно успешно проверена с использованием контрольной ДНК (метилированной и неметилированной ДНК набора Human Methylated & Non-methylated DNA Set, “Zymo research”, USA). Кроме того, один и тот же образец конвертированной ДНК использовался как для оценки метилирования гена *CDKN2A*, так и гена *F2RL3*, что доказывает отсутствие ошибок в конверсии ДНК. Исследований по оценке статуса метилирования гена в ткани миокарда нами найдено не было. Однако интересно, что например, в мета-анализе исследований метилирования гена при раке пищевода в большинстве исследований в контрольной группе (без рака) ген *CDKN2A* также не был метилирован у большинства участников (материалом для исследования была кровь или ткань пищевода) [373]. В исследовании в Китае не было выявлено ассоциации метилирования гена *CDKN2A* с ИБС в исследовании «случай-контроль». Процент образцов с метилированным геном *CDKN2A* в этом исследовании находится на уровне 15-20 % [86]. Таким образом, отсутствие гена в *CDKN2A* в метилированном состоянии в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе может быть связано с небольшими размерами исследуемых групп, расовыми особенностями изучаемых лиц, особенностями метилирования гена в ткани миокарда.

Таким образом, по результатам проведенного этапа исследования в группе мужчин метилирование CpG-островков генов *F2RL3, CDKN2A,* промотора гена *HMGCR* не ассоциировано с внезапной сердечной смертью, в то время, как метилирование промотора гена *ABCA1* ассоциировано с внезапной сердечной смертью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенного исследования с помощью различных методов молекулярно-генетического анализа изучен ряд молекулярно-генетических маркеров внезапной сердечной смерти.

На пулированной ДНК проведено полногеномное аллелотипирование, которое позволило получить перечень однонуклеотидных вариантов генов, которые могут быть новыми молекулярно-генетическими маркерами внезапной сердечной смерти. Ранее связь этих вариантов нуклеотидной последовательности с внезапной сердечной смертью не предполагалась, они локализованы в межгенных пространствах или в генах, не рассматривавшихся ранее как гены-кандидаты внезапной сердечной смерти. Из полученного перечня однонуклеотидных полиморфизмов отобрано 22 для дальнейшей верификации в исследовании дизайна «случай-контроль» с помощью рутинных методов – полимеразной цепной реакции с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов в полиакриламидном геле. Верификация результатов является необходимым этапом для исключения ложноположительных маркеров [95]. По результатам этой части работы выявлено 12 однонуклеотидных вариантов, генотипы которых являются генотипами риска внезапной сердечной смерти или обладают протективным эффектом в ее отношении как в общей группе, так и в отдельных половых и возрастных подгруппах. Проведенный анализ комбинаций генотипов разных вариантов нуклеотидной последовательности позволил выявить комбинации однонуклеотидных вариантов, ассоциированные с внезапной сердечной смертью и использование которых в оценке риска внезапной сердечной смерти имеет большую значимость, чем использование одиночных генотипов.

Проведен поиск мутаций генов в группе внезапной сердечной смерти, ранее найденных в отдельных случаях внезапной сердечной смерти и внезапной необъясненной смерти по результатам полноэкзомного секвенирования в зарубежных исследованиях. Только одна из исследованных мутаций была

идентифицирована в группе внезапной сердечной смерти и в контрольной группе. При этом статистически значимых различий между группами по частотам генотипов мутации найдено не было. Таким образом, показано, что перед использованием результатов зарубежных исследований на нашей популяции требуется их проверка.

Выполнено экзомное секвенирование группы молодых мужчин (37 человек) умерших внезапной сердечной смертью в возрасте до 45 лет. По результатам анализа 205 генов, имеющих отношение к фенотипам, предрасполагающим к внезапной сердечной смерти (LQTS, катехоламинергическая полиморфная желудочковая тахикардия, синдром Бругада, SQTS, нарушения сердечной проводимости, ФП, СССУ, ГКМП, ДКМП, аритмогенная кардиомиопатия, генетически обусловленные нарушения метаболизма липопротеинов) найдено 34 варианта, которые могут иметь отношение к внезапной сердечной смерти. То есть, показана эффективность использования метода экзомного секвенирования при поиске причинных замен внезапной сердечной смерти почти в 48 % случаев внезапной сердечной смерти, что подтверждает необходимость проведения, рекомендованного посмертного молекулярно-генетического анализа при внезапной сердечной смерти. Однако в 19 случаях не было обнаружено редких вариантов нуклеотидной последовательности генов, которые могли бы быть причинными для развития внезапной сердечной смерти. Внезапная сердечная смерть - сложный фенотип в основе, которого могут лежать мутации в более чем в 100 генах (по некоторым оценкам - около 200 генов), что существенно повышает сложность интерпретации данных, полученных методами секвенирования следующего поколения. Тем не менее, результаты проведенного исследования показывают эффективность для фенотипа внезапной сердечной смерти поиска причинных мутаций. Кроме того, необходимо отметить, что для некоторых мужчин, включенных в исследование было выявлено носительство однонуклеотидных вариантов нескольких генов, которые могут быть связаны с фенотипом внезапной сердечной смерти, что говорит о возможной олигогенности исследуемой нозологии. Необходимо продолжение исследований в области

молекулярной аутопсии в России. Для повышения результативности поиска причинных мутаций необходима работа с семьями умерших внезапной сердечной смертью, сотрудничество опытных специалистов – судебно-медицинского эксперта, лабораторного генетика, биоинформатика и кардиолога.

По результатам экзомного секвенирования отобрано 7 однонуклеотидных вариантов, частота редкого аллеля которых по данным экзомного секвенирования отличалась от популяционных данных по gnomAD. Было предположено, что выбранные варианты нуклеотидной последовательности могут быть ассоциированы с внезапной сердечной смертью. Проведено верификационное исследование дизайна «случай-контроль» с помощью рутинных методов – полимеразной цепной реакции с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов в полиакриламидном геле. Только 1 из 7 полиморфизмов показал ассоциацию с внезапной сердечной смертью, при этом ассоциация была выявлена только для женщин младше 50 лет.

Выполнено исследование ассоциации метилирования CpG-островков 4 генов с внезапной сердечной смертью. По результатам проведенного анализа найден 1 ген, метилирование промотора которого ассоциировано с внезапной сердечной смертью.

Таким образом, проведен большой комплекс молекулярно-генетических исследований с использованием современных методов молекулярно-генетического анализа (полногеномное аллелотипирование на пулированной ДНК, экзомное секвенирование, ряд верифицирующих исследований рутинным методом полимеразной цепной реакции, эпигенетическое исследование - исследование метилирования CpG-островков нескольких генов), что позволило выявить ряд новых маркеров внезапной сердечной смерти (редких и частых вариантов нуклеотидной последовательности, метилирование промотора гена). Полученные результаты подтверждают генетическую сложность феномена внезапной сердечной смерти. В генетическом патогенезе данной мультифакторной нозологии играют роль огромное количество молекулярно-генетических маркеров: мутации генов, которые связаны с развитием фенотипов,

предрасполагающих к внезапной сердечной смерти или непосредственно с самой внезапной сердечной смертью, частые варианты нуклеотидной последовательности, локализованные в генах и межгенных пространствах, которые ассоциированы с риском внезапной сердечной смерти, эпигенетические факторы (метилирование ДНК).

Выполненная крупная поисковая работа включает в себя исследование только части молекулярно-генетических факторов, которые могут быть изучены при данной нозологии. Как показывают результаты выполненной работы, частые варианты нуклеотидной последовательности, которые изменяют риск внезапной сердечной смерти, часто локализованы вне генов или в генах, связь которых с внезапной сердечной смертью неочевидна, что говорит о том, что большое число маркеров нозологии может быть локализовано вне известных нам генетических локусов. Также показано, что комбинации генотипов нескольких вариантов могут быть ассоциированы с большим риском внезапной сердечной смерти, что требует более детального изучения. Кроме того, по результатам проведенного исследования становится понятно, что эпигенетические маркеры важны в развитии внезапной сердечной смерти, и требуется продолжение исследования не только метилирования ДНК, но и других эпигенетических механизмов (исследование посттрансляционной модификации гистонов, длинных некодирующих РНК).

ВЫВОДЫ

1. В выборке умерших внезапной сердечной смертью в Октябрьском районе г. Новосибирска внезапная сердечная смерть ассоциирована с генотипами AA (ОШ = 1,85, p = 0,002) и AT (ОШ = 0,53, p = 0,001) rs34554140, AA (ОШ = 1,54, p = 0,005) и AT (ОШ = 0,73, p = 0,047) rs6670279, TT (ОШ = 1,66, p = 0,001) и TC (ОШ = 0,67, p = 0,009) rs12170546 гена *PARVB*, GG (ОШ = 1,60, p = 0,002) и GT (ОШ = 0,67, p = 0,011) rs6582147, GG (ОШ = 1,38, p = 0,049) rs2136810 гена *ARAP2*, AA (ОШ = 0,57, p = 0,014) rs12904699 гена *OR4F6*, TT (ОШ = 0,52, p = 0,018) rs35089892 гена *CAMK2B*.
2. У мужчин внезапная сердечная смерть ассоциирована с генотипом CT (ОШ = 1,77, p = 0,027) rs10010305. У женщин внезапная сердечная смерть ассоциирована с генотипом GG (ОШ = 1,78, p = 0,04) rs12904699 гена *OR4F6*, GG (ОШ = 0,39, p = 0,007) rs17797829, у женщин старше 50 лет – с генотипом AA (ОШ = 2,74, p = 0,02) rs17797829, у женщин младше 50 лет – с генотипом TT rs34643859 гена *KCNS1* (ОШ = 0,32, p = 0,04).
3. У лиц старше 50 лет внезапная сердечная смерть ассоциирована с генотипом GG (ОШ = 0,11, p = 0,024) rs16994849 гена *PLCB1,* GA (ОШ = 0,64, p = 0,045) rs2136810 гена *ARAP2*, CT (ОШ = 0,69, p = 0,035) rs6762529 гена *NAALADL2*, CT (ОШ = 1,72, p = 0,041) rs10010305. У лиц младше 50 лет внезапная сердечная смерть ассоциирована с генотипами GG (ОШ = 4,92, p = 0,032) и AA (ОШ = 0,54, p = 0,029) rs16994849 гена *PLCB1*, CC (ОШ = 1,94, p = 0,006) и TT (ОШ = 0,34, p = 0,007) rs61999948.
4. С повышенным риском внезапной сердечной смерти ассоциированы комбинации генотипов риска полиморфизмов rs10010305 (CT) и rs17797829 (AA), rs34554140 (AA) и rs6670279 (AA), rs2136810 (GG) и rs6582147 (GG) (ОШ = 2,14, p = 0,049; ОШ = 2,05, p < 0,001; ОШ = 1,81, p < 0,001, соответственно).
5. У умерших внезапной сердечной смертью выявлена ассоциация между признаками атеросклероза аорты и коронарных артерий и генотипами полиморфизма rs61999948 (p = 0,011), толщиной миокарда правого желудочка и

генотипами полиморфизма rs34643859 гена *KCNS1* (p = 0,009). У жителей г. Новосибирска найдена ассоциация между индексом атерогенности и генотипами полиморфизма rs6762529 гена *NAALADL2* (p = 0,006), частотой сердечных сокращений и генотипами полиморфизма rs34643859 гена *KCNS1* (p = 0,023).

6. Не выявлено случаев внезапной сердечной смерти, ассоциированной с мутациями D4301N и I22160T гена *TTN*, A1744S и R249Q гена *MYH7*, T171M гена *CACNA1C*, A189T гена *JPH2*, S434Y гена *VCL*, H4552R гена *RYR2*, Y1495X гена *SCN5A*. С внезапной сердечной смертью не ассоциирована мутация 9928_9929insE гена *TTN* (p > 0,05).

7. У 18 из 37 (48,7 %) мужчин с внезапной сердечной смертью до 45 лет найдены 34 вероятно причинных варианта нуклеотидной последовательности по результатам экзомного секвенирования при анализе 205 генов. Впервые описаны редкие варианты генов *TGFB3* (chr14: 75980568 T>A, c.326A>T, p. Asp109Val), *ABCC9* (chr12:21910920 A>T, c.1070T>A, p.Leu357His), *APOB* (chr2: 21010846 C>T, c.6022G>A, p.Glu2008Asn), *CASQ2* (chr1:115738262 A>G, c.494T>C, p.Ile165Thr), *RYR2* (chr1:237784338 C>G, c.12626C>G, p.Ser4209Trp), *ANKRD1* (chr10:90915638 C>A, c.754G>T, p.Gly252Ter).

8. Внезапная сердечная смерть ассоциирована с метилированием промотора гена *ABCA1* (ОШ = 5,86, p = 0,02).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

В случае внезапной сердечной смерти для поиска причинных вариантов нуклеотидной последовательности генов рекомендовано проведение молекулярной аутопсии методом экзомного секвенирования. Полученные данные могут быть использованы для профилактики и предупреждения развития внезапной сердечной смерти у родственников умершего.

Для стратификации риска внезапной сердечной смерти, особенно у молодых мужчин (спортсменов, лиц с профессиями тяжелого физического труда, отягощенной наследственностью), наряду с традиционными клиническими факторами риска может быть использован (после дополнительных репликационных исследований) молекулярно-генетический анализ на определение генотипов однонуклеотидных полиморфизмов rs34554140, rs6670279 гена *NAALADL2*, rs12904699 гена *OR4F6*, rs12170546 гена *PARVB*, rs6582147, rs2136810 гена *ARAP2*, rs16994849 гена *PLCB1*, rs17797829, rs35089892 гена *CAMK2B*, rs6762529 гена *NAALADL2*, rs10010305, rs61999948, rs34643859 гена *KCNS1*, и статуса метилирования промотора гена *ABCA1*.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ГКМП	гипертрофическая кардиомиопатия
ДИ	доверительный интервал
ДКМП	дилатационная кардиомиопатия
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
ИБС	ишемическая болезнь сердца
ОКС	острый коронарный синдром
ОНП	однонуклеотидный полиморфизм
ОР	относительный риск
ОШ	отношение шансов
ПЦР	полимеразная цепная реакция
СГХС	семейная гиперхолестеринемия
СД	сахарный диабет
ССЗ	сердечно-сосудистые заболевания
СССУ	синдром слабости синусового узла
ФП	фибрилляция предсердий
ХС-ЛПВП	холестерин липопротеинов высокой плотности
ХС-ЛПНП	холестерин липопротеинов низкой плотности
ЭКГ	электрокардиограмма
ARVC	arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy, аритмогенная правожелудочковая кардиомиопатия
CPVT	catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia, катехоламинергическая полиморфная желудочковая тахикардия
GWAS	Genome-Wide Association Study, полногеномное ассоциативное исследование
LQTS	Long QT syndrome, синдром удлиненного интервала QT
NGS	next-generation sequencing, секвенирование следующего поколения
SQTS	Short QT syndrome, синдром укороченного интервала QT

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ассоциация однонуклеотидных полиморфизмов rs62116755 гена GACAT3, rs12170546 гена PARVB, rs16994849 гена PLCB1, rs78143315 гена PDCD6IP с внезапной сердечной смертью / А. А. Иванова, В. Н. Максимов, С. К. Малютина [и др.] //Российский кардиологический журнал. – 2017. – № 10. – С. 23–28.

2. Баглай, Ю. С. Внезапная сердечная смерть: показатели смертности в регионах РФ в 2015 году / Ю. С. Баглай, М. А. Старинская, И. В. Самородская // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2017. – Т.16, № S. – С. 5a–5b.

3. Внезапная сердечная смерть у больных ишемической болезнью сердца по результатам Российского многоцентрового эпидемиологического исследования заболеваемости, смертности, качества диагностики и лечения острых форм ИБС (РЕЗОНАНС) / С. А. Бойцов, Н. Н. Никулина, С. С. Якушин [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2011. – № 2. – С. 59–64.

4. Всероссийские клинические рекомендации по контролю над риском внезапной остановки сердца и внезапной сердечной смерти, профилактике и оказанию первой помощи / А. Ш. Ревишвили, Н. М. Неминущий, Р. Е. Баталов [и др.] // Вестник аритмологии. – 2017. – Т. 89. – Р. 2–104.

5. Исследование ассоциации полиморфизмов генов липидного обмена APOE, HL, SREBP2, USF1 с внезапной сердечной смертью в русской популяции / Максимов В. Н., Иванова А. А., Орлов П. С. [и др.] // Атеросклероз. – 2014. – Т. 10, № 1. – С. 16–21.

6. Исследование генетических факторов возникновения сердечно-сосудистых заболеваний у лиц с риском развития внезапной сердечной смерти / В.А. Качнов, С.Н. Колюбаева, В.В. Тыренко [и др.] // Гены и клетки. – 2020. – Т. 15, № 2. – С. 73–80.

7. Международная классификация болезней 10 пересмотра (МКБ-10). [Электронный ресурс]. – URL: https://mkb-10.com (дата обращения: 04.06.2022).

8. Молекулярные и эпигенетические механизмы вовлеченности генов редокс-гомеостаза в формирование различных сердечно-сосудистых заболеваний / Е. М. Барышева, А. В. Марков, Ю. А. Королёва [и др.] // Медицинская генетика. – 2020. – Т. 19, № 5. – С. 66–68.

9. Наследственные нарушения соединительной ткани в кардиологии. Диагностика и лечение // Российский кардиологический журнал. – 2013. – 1s1. – С. 5–32.

10. Национальные Рекомендации по определению риска и профилактике внезапной сердечной смерти / Е. В. Шляхто, Г. П. Арутюнов, Ю. Н. Беленков, А. В. Ардашев // Архивъ внутренней медицины. – 2013. – № 4. – С. 5–15.

11. Опрос родственников внезапно умерших лиц трудоспособного возраста по данным регистра ГЕРМИНА / Р. М. Линчак, А. М. Недбайкин, Е. В. Семенцова [и др.] // Consilium Medicum. – 2016. – Т.18, № 12. – С. 13–16.

12. Полногеномный анализ пулированных выборок ДНК когорт человека. Вавиловский журнал генетики и селекции / В. Н. Бабенко, В. Н. Максимов, Е. В. Кулакова [и др.] // 2014. – Т. 18, № 4-2. – С. 847–855.

13. Проверка взаимосвязи между девятью однонуклеотидными полиморфизмами и инфарктом миокарда на сибирской популяции / В. Н. Максимов, И. В. Куликов, П. С. Орлов [и др.] // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2012. – Т. 67, № 5. – С. 24–29.

14. Распространенность внезапной сердечной смерти у лиц молодого возраста в крупном мегаполисе / Л. М. Макаров, В. Н. Комолятова, И. И. Киселева, Ю. А. Солохин // Медицинский алфавит. – 2014. – Т. 1, № 3. – С. 35–40.

15. Результаты регистра внезапной сердечной смертности населения Забайкальского края (ЗОДИАК) 2017-2019гг / Д. Н. Зайцев, П. В. Василенко, А. В. Говорин [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2020. – Т. 25, № 11. – С. 3997.

16. Роль алкоголя в развитии внезапной сердечной смерти по данным регистра гермина (регистр внезапной сердечной смертности трудоспособного

населения Брянской области) / Р. М. Линчак, А. М. Недбайкин, Е. В. Семенцова [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2017. – № 6. – С. 108–112.

17. Руководство по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) (редакция 2018, версия 2) / О. П. Рыжкова, О. Л. Кардымон, Е. Б. Прохорчук [и др.] // Медицинская генетика. – 2019. – Т. 18, № 2. – Р. 3–23.

18. Связь семейного анамнеза и ишемической болезни сердца в популяции города Новосибирска (программа ВОЗ MONICA) / Ю. П. Никитин, М. И. Воевода, В. Н. Максимов [и др.] // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. - 2005. – Т. 4б № 4. – С. 37–40.

19. Сравнительный анализ количества копий митохондриальной ДНК в ткани миокарда при внезапной сердечной и несердечной смерти / В. Н. Максимов, А. А. Гуражева, П. С. Орлов [и др.] //Атеросклероз. – 2019. – Т. 15, № 3. – С. 36–41.

20. Федеральная служба государственной статистики. Новосибирскстат. Основные причины смерти населения Новосибирской области. [Электронный ресурс]. – URL: https://novosibstat.gks.ru (дата обращения: 04.06.2022).

21. Частота и структура внезапной сердечной смертности (регистр внезапной сердечной смертности трудоспособного населения Брянской области) / Р. М. Линчак, А. М. Недбайкин, Е. В. Семенцова [и др.] // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2016. – Т. 12, № 1. – С. 45–50.

22. 15-Year lipid profile effects on cardiovascular events adjusted for cardiovascular risk factors: a cohort study from Middle-East / M. Sadeghi, J. Golshahi, M. Talaei [et al.] // Acta Cardiol. – 2021. – Vol. 76, N 2. – P. 194–199.

23. 2014 ESC Guidelines on diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy: the Task Force for the Diagnosis and Management of Hypertrophic Cardiomyopathy of the European Society of Cardiology (ESC) / P. M. Elliott, A. Anastasakis, M. A. Borger [et al.] // Eur Heart J. – 2014. –Vol. 35, N 39. – P. 2733–79.

24. 2017 AHA/ACC/HRS Guideline for Management of Patients With Ventricular Arrhythmias and the Prevention of Sudden Cardiac Death: A Report of the

American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines and the Heart Rhythm Society / S. M. Al-Khatib, W. G. Stevenson, M. J. Ackerman [et al.]. – Text: electronic // J Am Coll Cardiol. - 2018. - Vol. 72, N 14. – P. e91-e220. – URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29097320/ (date of access: 11.08.2021).

25. 2019 Рекомендации ESC/EAS по лечению дислипидемий: модификация липидов для снижения сердечно-сосудистого риска / F. Mach, C. Baigent, A. L. Catapano [et al.] // Российский кардиологический журнал. – 2020. – Т. 25, №5. С. 3826.

26. β2-Adrenergic Receptor Gene Polymorphisms Are Associated with Cardiovascular Events But not All-Cause Mortality in Coronary Artery Disease Patients: A Meta-Analysis of Prospective Studies / Y. Li, H. Yuan, L. Sun [et al.] // Genet Test Mol Biomarkers. – 2019. – Vol. 23, N 2. – P. 124–137.

27. β-Myosin heavy chain variant Val606Met causes very mild hypertrophic cardiomyopathy in mice, but exacerbates HCM phenotypes in mice carrying other HCM mutations / R. Blankenburg, K. Hackert, S. Wurster [et al.] // Circ Res. – 2014. – Vol. 115, N 2. – P. 227–37.

28. A common indel polymorphism of the Desmoglein-2 (DSG2) is associated with sudden cardiac death in Chinese populations / Y. Zou, Q. Zhang, J. Zhang [et al.] // Forensic Sci Int. – 2019. – N 301. – P. 382–387.

29. A common NOS1AP genetic polymorphism, rs12567209 G>A, is associated with sudden cardiac death in patients with chronic heart failure in the Chinese Han population / X. Liu, J. Pei, C. Hou [et al.] // J Card Fail. – 2014. – Vol. 20, N 4. – P. 244–251.

30. A Common Polymorphism of the Human Cardiac Sodium Channel Alpha Subunit (SCN5A) Gene Is Associated with Sudden Cardiac Death in Chronic Ischemic Heart Disease / B. Marcsa, R. Dénes, K. Vörös [et al.]. – Text: electronic // PLoS One. - 2015. – Vol. 10, N 7. – P. e0132137. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4492622/ (date of access: 11.08.2021).

31. A common variant in the β2-adrenergic receptor and risk of sudden cardiac death / M. C. Gavin, C. Newton-Cheh, J. M. Gaziano [et al.] // Heart Rhythm. – 2011. – Vol. 8, N 5. – P. 704–710.

32. A comparison of genome-wide DNA methylation patterns between different vascular tissues from patients with coronary heart disease / M. S. Nazarenko, A. V. Markov, I. N. Lebedev [et al.]. –Text: electronic // PLoS One. – 2015. – Vol. 10, N 4. – P. e0122601. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4391864/ (date of access: 11.08.2021).

33. A de novo ryanodine receptor 2 gene variant in a case of sudden cardiac death / F. Foti, F. De-Giorgio, G. Vetrugno [et al.] // Int J Legal Med. – 2020. – Vol. 134, N 2. – P. 619–623.

34. A functional insertion/deletion polymorphism in the promoter of PDCD6IP is associated with the susceptibility of hepatocellular carcinoma in a Chinese population / Q. Yu, C. Zhou, J. Wang [et al.] // DNA Cell Biol. -2013. – Vol. 32, N 8. – P. 451–457.

35. A genome-wide association study identifies novel and functionally related susceptibility Loci for Kawasaki disease / Burgner D, Davila S, Breunis WB [et al.]. – Text: electronic // PLoS Genet. – 2009. – Vol. 5, N 1. – P. e1000319. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2607021/ (date of access: 11.08.2021).

36. A giant novel gene undergoing extensive alternative splicing is severed by a Cornelia de Lange-associated translocation breakpoint at 3q26.3 / E. T. Tonkin, M. Smith, P. Eichhorn [et al.] // Hum Genet. – 2004. – Vol. 115, N 2. – P. 139–48.

37. A large familial pathogenic Plakophilin-2 gene (PKP2) deletion manifesting with sudden cardiac death and lone atrial fibrillation: Evidence for alternating atrial and ventricular phenotypes / S. Alhassani, B. Deif, S. Conacher [et al.] // HeartRhythm Case Rep. – 2018. – Vol. 4, N 10. – P. 486–489.

38. A Novel COX10 Deletion Polymorphism as a Susceptibility Factor for Sudden Cardiac Death Risk in Chinese Populations / Z. Yang, Q. Zhang, H. Yu [et al.] // DNA Cell Biol. – 2021. – Vol. 40, N 1. – P. 10–17.

39. A preliminary study of the relationship between promoter methylation of the ABCG1, GALNT2 and HMGCR genes and coronary heart disease / P. Peng, L. Wang, X. Yang [et al.]. – Text: electronic // PLoS One. – 2014. – Vol. 9, N 8. – P. e102265. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4118847/ (date of access: 11.08.2021).

40. A Simple Community-Based Risk-Prediction Score for Sudden Cardiac Death / B. M. Bogle, H. Ning, J. J. Goldberger [et al.] – Text: electronic // Am J Med. – 2018. – Vol. 131, N 5. – P. 532–539.e5. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5910195/ (date of access: 11.08.2021).

41. A variant at chromosome 9p21 is associated with recurrent myocardial infarction and cardiac death after acute coronary syndrome: the GRACE Genetics Study / I. Buysschaert, K. F. Carruthers, D. R. Dunbar [et al.] // Eur Heart J. – 2010. – Vol. 31, N 9. – P. 1132–41.

42. ABCA1 variants rs2230806 (R219K), rs4149313 (M8831I), and rs9282541 (R230C) are associated with susceptibility to coronary heart disease / F. Wang, Y. Ji, X. Chen [et al.]. –Text: electronic // J Clin Lab Anal. – 2019. – Vol. 33, N 6. – P. e22896. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6642322/ (date of access: 11.08.2021).

43. ACMG Secondary Findings Working Group. ACMG SF v3.0 list for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing: a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) / D.T. Miller, K. Lee, W.K. Chung [et al.] // Genet Med. – 2021. – Vol. 23, N 8. – P. 1381-1390.

44. Adherence to a low-risk, healthy lifestyle and risk of sudden cardiac death among women / S. E. Chiuve, T. T. Fung, K. M. Rexrode [et al.] // JAMA. – 2011. – Vol. 306, N 1. – P. 62–9.

45. Aetiology and incidence of sudden cardiac arrest and death in young competitive athletes in the USA: a 4-year prospective study / D. F. Peterson, K. Kucera, L. C. Thomas [et al.] // Br J Sports Med. – 2021. – Vol. 55, N 21. – P. 1196–1203.

46. AKAP9 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/10142 (дата обращения: 24.12.2020).

47. An insertion/deletion polymorphism within 3'UTR of RYR2 modulates sudden unexplained death risk in Chinese populations / S. Wang, Z. Zhang, Y. Yang [et al.] // Forensic Sci Int. – 2017. – N 270. – P. 165–172.

48. Analysis of repeated leukocyte DNA methylation assessments reveals persistent epigenetic alterations after an incident myocardial infarction / C. K. Ward-Caviness, G. Agha, B. H. Chen [et al.] // Clin Epigenetics. – 2018. – Vol. 10, N 1. – P. 161.

49. APOB [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/338 (дата обращения: 24.12.2021).

50. Application of Next Generation Sequencing for personalized medicine for sudden cardiac death / E. Morini, F. Sangiuolo, D. Caporossi [et al.] // Front Genet. – 2015. – N 6. – P. 55.

51. ARAP2 promotes GLUT1-mediated basal glucose uptake through regulation of sphingolipid metabolism / A. Chaudhari, L. Håversen, R. Mobini [et al.] // Biochim Biophys Acta. – 2016. – Vol. 1861, N 11. – P. 1643–1651.

52. ASB1 differential methylation in ischaemic cardiomyopathy: relationship with left ventricular performance in end-stage heart failure patients / A. Ortega, E. Tarazón, C. Gil-Cayuela [et al.] // ESC Heart Fail. – 2018. – Vol. 5, N 4. – P. 732-737.

53. Association between an indel polymorphism in the 3'UTR of COL1A2 and the risk of sudden cardiac death in Chinese populations / Yin Z, Guo Y, Zhang J [et al.] // Leg Med (Tokyo). – 2017. – N 28. – P. 22–26.

54. Association between an indel polymorphism within CTH and the risk of sudden cardiac death in a Chinese population / W. Zhou, Q. Yang, H. Yu [et al.] – Text: electronic // Leg Med (Tokyo). – 2020. – N 46. – P. 101736. – URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32563979/ (date of access: 11.08.2021).

55. Associations between dietary vitamin intake, ABCA1 gene promoter DNA methylation, and lipid profiles in a Japanese population / R. Fujii, H. Yamada, E. Munetsuna [et al.] // Am J Clin Nutr. – 2019. – Vol. 110, N 5. – P. 1213–1219.

56. Association between DNA methylation and coronary heart disease or other atherosclerotic events: A systematic review / A. Fernández-Sanlés, S. Sayols-Baixeras, I. Subirana [et al.] // Atherosclerosis. – 2017. – N 63. – P. 325–333.

57. Association between mitochondrial DNA copy number and sudden cardiac death: findings from the Atherosclerosis Risk in Communities study (ARIC) / Y. Zhang, E. Guallar, F. N. Ashar [et al.] // Eur Heart J. – 2017. – Vol. 38, N 46. – P. 3443–3448.

58. Association for European Cardiovascular Pathology. Guidelines for autopsy investigation of sudden cardiac death: 2017 update from the Association for European Cardiovascular Pathology / C. Basso, B. Aguilera, J. Banner [et al.] // Virchows Arch. – 2017. – Vol. 471, N 6. – P. 691–705.

59. Association of ABCB1 promoter methylation with aspirin exposure, platelet function, and clinical outcomes in Chinese intracranial artery stenosis patients / X. Li, K. Zhao, N. Ma [et al.] // Eur J Clin Pharmacol. – 2017. – Vol. 73, N 10. – P. 1261–1269.

60. Association of ATP-binding cassette transporter A1 gene polymorphisms with plasma lipid variability and coronary heart disease risk / Y. Lu, Y. Liu, Y. Li [et al.] // Int J Clin Exp Pathol. – 2015. – Vol. 8, N 10. – P. 13441–13449.

61. Association of CASQ2 polymorphisms with sudden cardiac arrest and heart failure in patients with coronary artery disease / M. M. Refaat, B. E. Aouizerat, C. R. Pullinger [et al.] // Heart Rhythm. – 2014. – Vol. 11, N 4. – P. 646–652.

62. Association of GWAS-supported loci rs2107595 in HDAC9 gene with ischemic stroke in southern Han Chinese / L. Su, T. Shen, B. Liang [et al.] // Gene. – 2015. – Vol. 570, N 2. – P. 282–7.

63. Association of Multiple Biomarkers With Risk of All-Cause and Cause-Specific Mortality After Acute Coronary Syndromes: A Secondary Analysis of the PLATO Biomarker Study / D. Lindholm, S. K. James, K. Gabrysch [et al.] // JAMA Cardiol. – 2018. – Vol. 3, N 12. – P. 1160–1166.

64. Association of the genetic markers for myocardial infarction with sudden cardiac death / A. A. Ivanova, V. N. Maksimov, P. S. Orlov [et al.] – Text: electronic //

Indian Heart J. – 2017. – Suppl 1(Suppl 1). – P. S8-S11. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5388015/ (date of access: 11.08.2021).

65. Atrial fibrillation is associated with hypermethylation in human left atrium, and treatment with decitabine reduces atrial tachyarrhythmias in spontaneously hypertensive rats / R. Doñate Puertas, E. Meugnier, C. Romestaing [et al.] // Transl Res. – 2017. - N 184. – P. 57–67.

66. Autopsy examination in sudden cardiac death: a current perspective on behalf of the Association for European Cardiovascular Pathology / J. Banner, C. Basso, Z. Tolkien [et al.] // Virchows Arch. – 2021. – Vol. 478, N 4. – P. 687–693.

67. B-vitamins intake, DNA-methylation of One Carbon Metabolism and homocysteine pathway genes and myocardial infarction risk: the EPICOR study / G. Fiorito, S. Guarrera, C. Valle [et al.] // Nutr Metab Cardiovasc Dis. – 2014. – Vol. 24, N 5. – P. 483–488.

68. Bagnall, R. D. Sudden Cardiac Death in the Young / R. D. Bagnall, E. S. Singer, J. Tfelt-Hansen // Heart Lung Circ. – 2020. – Vol. 29, N 4. – P. 498–504.

69. Baseline and long-term fibrinogen levels and risk of sudden cardiac death: A new prospective study and meta-analysis / S. K. Kunutsor, S. Kurl, F. Zaccardi, J. A. Laukkanen // Atherosclerosis. – 2016. – N 245. – P. 171–80.

70. Baydar, Ç. L. A hypertrophic and dilated cardiomyopathic sudden cardiac death case; de novo mutations in TTN and SGCD genes / Ç. L. Baydar, M. Özen // Anatol J Cardiol. – 2016. – Vol. 16, N 11. – P. 887–888.

71. Berndt, S. I. Two susceptibility loci identified for prostate cancer aggressiveness / S. I. Berndt, Z. Wang, M. Yeager // Nat Commun. – 2015. – N 6. – P. 6889.

72. Beyond the sarcomere: CSRP3 mutations cause hypertrophic cardiomyopathy / C. Geier, K. Gehmlich, E. Ehler [et al.] // Hum Mol Genet. –2008. – Vol. 17, N 18. – P. 2753–65.

73. Bihlmeyer, N. A. ExomeChip-Wide Analysis of 95 626 Individuals Identifies 10 Novel Loci Associated With QT and JT Intervals / N. A. Bihlmeyer, J. A. Brody, A. V. Smith. – Text: electronic // Circ Genom Precis Med. – 2018. – Vol. 11, N

1. – P. e001758. – URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29874175/ (date of access: 11.08.2021).

74. Blood alcohol in victims of sudden cardiac death in northern Finland / J. Perkiömäki, E. Hookana, K. Kaikkonen [et al.] // Europace. -2016. – Vol. 18, N 7. – P. 1006–9.

75. Blood alcohol levels in Finnish victims of non-ischaemic sudden cardiac death // J. P. Kauppila, L. Pakanen, K. Porvari [et al.] / Ann Med. – 2021. – Vol. 53, N 1. – P. 413–419.

76. Blood Leukocyte DNA Methylation Predicts Risk of Future Myocardial Infarction and Coronary Heart Disease / G. Agha, M. M. Mendelson, C. K. Ward-Caviness [et al.] // Circulation. – 2019. – Vol. 140, N 8. – P. 645–657.

77. Blood lipid genetic scores, the HMGCR gene and cancer risk: a Mendelian randomization study / M. Orho-Melander, G. Hindy, S. Borgquist [et al.] // Int J Epidemiol. – 2018. – Vol. 47, N 2. – P. 495–505.

78. Blood pressure, hypertension and the risk of sudden cardiac death: a systematic review and meta-analysis of cohort studies / H. Pan, M. Hibino, E. Kobeissi, D. Aune // Eur J Epidemiol. – 2020. – Vol. 35, N 5. – P. 443–454.

79. C-terminal titin deletions cause a novel early-onset myopathy with fatal cardiomyopathy / V. Carmignac, M. A. M. Salih, S. Quijano-Roy [et al.] // Ann. Neurol. – 2007. – Vol. 61, N 4. – P. 340–51.

80. CACNB2 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/783, (дата обращения: 25.10.2021).

81. CAMK2B [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/816 (дата обращения: 24.12.2021).

82. Case report of familial sudden cardiac death caused by a DSG2 p.F531C mutation as genetic background when carrying with heterozygous KCNE5 p.D92E/E93X mutation / Y. Lin, J. Huang, S. He [et al.] // BMC Med Genet. – 2018. – Vol. 19, N 1. – P. 148.

83. Case reports of a c.475G>T, p.E159* lamin A/C mutation with a family history of conduction disorder, dilated cardiomyopathy and sudden cardiac death / T.

Yokokawa, S. Ichimura, N. Hijioka [et al.] // BMC Cardiovasc Disord. – 2019. – Vol. 19, N 1. – P. 298.

84. Causes of nonischemic sudden cardiac death in the current era / E. Hookana, M. J. Junttila, V. P. Puurunen [et al.] // Heart Rhythm. – 2011. – Vol. 8, N 10. – P. 1570–5.

85. CDKN2A [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1029 (дата обращения: 24.12.2021).

86. CDKN2A and CDKN2B methylation in coronary heart disease cases and controls / J. Zhong, X. Chen, H. Ye [et al.] // Exp Ther Med. – 2017. – Vol. 14, N 6. – P. 6093–6098.

87. Changes in Cardiovascular Health Status and Risk of Sudden Cardiac Death in Older Adults / M. Kim, P. S. Yang, H. T. Yu [et al.] // Yonsei Med J. – 2021. – Vol. 62, N 4. – P. 298–305.

88. Characteristics of subjects with alcoholic cardiomyopathy and sudden cardiac death / S. Hietanen, J. Herajärvi, J. Junttila [et al.] / Heart. – 2020. – Vol. 106, N 9. – P. 686–690.

89. Chen, H. Relation of Body Mass Index Categories with Risk of Sudden Cardiac Death / H. Chen, Y. Deng, S. Li // Int Heart J. – 2019. – Vol. 60, N 3. – P. 624–630.

90. Circulating Levels of IL-35 and Gene Expression of FoxP3 in Coronary Artery Disease: Is There Any Interplay Between Them and 25-Hydroxyvitamin D3? / H. Shateri, R. Fadaei, M. Najafi [et al.] // Clin Lab. – 2018. – Vol. 64, N 4. – P. 483–490.

91. Clinical and Genetic Diagnosis of Nonischemic Sudden Cardiac Death / J. Jiménez-Jáimez, V. Alcalde Martínez, M. Jiménez Fernández [et al.] // Rev Esp Cardiol (Engl Ed). – 2017. – Vol. 70, N 10. – P. 808–816.

92. Clinical Considerations for a Family with Dilated Cardiomyopathy, Sudden Cardiac Death, and a Novel *TTN* Frameshift Mutation / E. Micaglio, M. M. Monasky, A. Bernardini [et al.] // Int J Mol Sci. – 2021. – Vol. 22, N 2. – P. 670.

93. Coexistence of atrioventricular accessory pathways and drug-induced type 1 Brugada pattern / C. Hasdemir, J. J. Juang, S. Kose [et al.] // Pacing Clin Electrophysiol. – 2018. – Vol. 41, N 9. – P. 1078–1092.

94. Common Variants in TRDN and CALM1 Are Associated with Risk of Sudden Cardiac Death in Chronic Heart Failure Patients in Chinese Han Population / Z. Liu, X. Liu, H. Yu [et al.] – Text: electronic // PLoS One. – 2015. – Vol. 10, N 7. – P. e0132459. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4510877/ (date of access: 11.08.2021).

95. Comparison of genotyping using pooled DNA samples (allelotyping) and individual genotyping using the affymetrix genome-wide human SNP array 6.0 / A. Teumer, F. D. Ernst, A. Wiechert [et al.] // BMC Genomics. – 2013. – N 14. – P. 506.

96. Compound and heterozygous mutations of KCNQ1 in long QT syndrome with familial history of unexplained sudden death: Identified by analysis of whole exome sequencing and predisposing genes / Y. Lin, T. Zhao, S. He [et al.]. – Text: electronic // Ann Noninvasive Electrocardiol. – 2020. – Vol. 25, N 1. – P. e12694. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7358849/ (date of access: 11.08.2021).

97. Confirmation of cause and manner of death via a comprehensive cardiac autopsy including whole exome next-generation sequencing / C. G. Loporcaro, D. J. Tester, J. J. Maleszewski [et al.] // Arch Pathol Lab Med. – 2014. – Vol. 138, N 8. – P. 1083–1089.

98. Cornelia de Lange syndrome: Congenital heart disease in 149 patients / A. Ayerza Casas, B. Puisac Uriol, M. E. Teresa Rodrigo [et al.] // Med Clin (Barc). – 2017. – Vol. 149, N 7. – P. 300–302.

99. Coronary Artery Disease as the Cause of Sudden Cardiac Death Among Victims < 50 Years of Age / J. Vähätalo, L. Holmström, L. Pakanen [et al.] // Am J Cardiol. – 2021. – N 147. – P. 33–38.

100. Correlation between Genetic Variants and Polymorphism of Caveolin and Sudden Unexplained Death / F. Y. Wu, X. H. Tang, L. L. Gai [et al.] // Fa Yi Xue Za Zhi. – 2017. – Vol. 33, N 2. – P. 114–119.

101. Correlation of hypertension and F2RL3 gene methylation with Prognosis of coronary heart disease / B. F. Gao, Z. C. Shen, W. S. Bian [et al.] // J Biol Regul Homeost Agents. – 2018. – Vol. 32, N 6. – P. 1539–1544.

102. Correlation of NOS1AP gene polymorphisms with sudden unexpected death in Chinese Han population / J. L. Huang, B. Hao, X. G. Wang [et al.] // Fa Yi Xue Za Zhi. – 2014. – Vol. 30, N 1. – P. 27–30, 35.

103. Čulić, V. Public health impact of daily life triggers of sudden cardiac death: A systematic review and comparative risk assessment / V. Čulić, A. AlTurki, R. Proietti // Resuscitation. – 2021. – N 162. – P. 154–162.

104. Cumulative effects of common genetic variants on risk of sudden cardiac death / A. Huertas-Vazquez, C. P. Nelson, J. S. Sinsheimer [et al.] // Int J Cardiol Heart Vasc. – 2015. – N 7. – P. 88–91.

105. dbGene [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term = sudden + cardiac + death (дата обращения: 22.10.2021).

106. dbClinVar [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar?term = sudden % 20cardiac % 20death&cmd = correctspelling (дата обращения: 18.12.2021).

107. Delayed intrinsicoid deflection of the QRS complex is associated with sudden cardiac arrest / N. Darouian, K. Narayanan, A. L. Aro [et al.] // Heart Rhythm. – 2016. – Vol. 13, N 4. – P. 927–32.

108. Detection of differentially methylated gene promoters in failing and nonfailing human left ventricle myocardium using computation analysis / C. A. Koczor, E. K. Lee, R. A. Torres [et al.] // Physiol Genomics. – 2013. – Vol. 45, N 14. – P. 597–605.

109. Development and Validation of a Sudden Cardiac Death Prediction Model for the General Population / R. Deo, F. L. Norby, R. Katz [et al.] // Circulation. – 2016. – Vol. 134, N 11. – P. 806–16.

110. Desmosomal dysfunction due to mutations in desmoplakin causes arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy / Z. Yang, N. E. Bowles, S. E. Scherer [et al.] // Circ Res. – 2006. – Vol. 99, N 6. – P. 646–655.

111. Diabetes mellitus and the risk of sudden cardiac death: A systematic review and meta-analysis of prospective studies / D. Aune, S. Schlesinger, T. Norat, E. Riboli // Nutr Metab Cardiovasc Dis. – 2018. – Vol. 28, N 6. – P. 543–556.

112. Diagnostic findings and follow-up outcomes in relatives to young non-autopsied sudden death victims / A. Kjerrumgaard, E. M. Jacobsen, B. L. Hansen [et al.] // Int J Cardiol. – 2020. – N 318. – P. 61–66.

113. Dietary vegetable intake is inversely associated with ATP-binding cassette protein A1 (ABCA1) DNA methylation levels among Japanese women / R. Fujii, H. Yamada, E. Munetsuna [et al.] // Nutrition. – 2019. – N 65. – P. 1–5.

114. Differential Methylation in the GSTT1 Regulatory Region in Sudden Unexplained Death and Sudden Unexpected Death in Epilepsy / S. N. Christiansen, S. B. Jacobsen, J. D. Andersen [et al.] // Int J Mol Sci. – 2021. Vol. 22, N 6. – P. 2790.

115. Differential methylation of lncRNA KCNQ1OT1 promoter polymorphism was associated with symptomatic cardiac long QT / E. Coto, D. Calvo, J. R. Reguero [et al.] // Epigenomics. – 2017. – Vol. 9, N 8. – P. 1049–1057.

116. Differential methylation pattern in patients with coronary artery disease: pilot study / S. Banerjee, C. K. Ponde, R. M. Rajani, T. F. Ashavaid // Mol Biol Rep. – 201. – Vol. 46, N 1. – P. 541–550.

117. Digenic inheritance novel mutations in SCN5a and SNTA1 increase late I(Na) contributing to LQT syndrome. Am J Physiol Heart Circ Physiol / R. M. Hu, B. H. Tan, K. M. Orland [et al.] – Text: electronic // 2013. – Vol. 304, N 7. – P. H994-H1001. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3625899/ (date of access: 11.08.2021).

118. Distinctive Clinical Profile of Blacks Versus Whites Presenting With Sudden Cardiac Arrest / K. Reinier, G. A. Nichols, A. Huertas-Vazquez [et al.] // Circulation. – 2015. – Vol. 132, N 5. – P. 380–7.

119. DNA methylation dysregulations in valvular atrial fibrillation / K. Shen, T. Tu, Z. Yuan [et al.]// Clin Cardiol. – 2017. – Vol. 40, N 9. – P. 686–691.

120. DSP [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1832 (дата обращения: 24.12.2020).

121. Dual variation in SCN5A and CACNB2b underlies the development of cardiac conduction disease without Brugada syndrome / D. Hu, Barajas- H. Martinez, V. V. Nesterenko [et al.] // Pacing Clin Electrophysiol. – 2010. – Vol. 33, N 3. – P. 274–85.

122. Electrocardiographic associations with myocardial fibrosis among sudden cardiac death victims / L. Holmström, A. Haukilahti, J. Vähätalo [et al.] // Heart. – 2020. – Vol. 106, N 13. – P. 1001–1006.

123. Elevated Methylation of FOXP3 (Forkhead Box P3)-TSDR (Regulatory T-Cell-Specific Demethylated Region) Is Associated With Increased Risk for Adverse Outcomes in Patients With Acute Coronary Syndrome / L. Zhu, L. Jia, Z. Liu [et al.] // Hypertension. – 2019. – Vol. 74, N 3. – P. 581–589.

124. Elevated PLA2G7 gene promoter methylation as a gender-specific marker of aging increases the risk of coronary heart disease in females / D. Jiang, D. Zheng, L. Wang [et al.] –Text: electronic // PLoS One. – 2013. – Vol. 8, N 3. – P. e59752. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3610900/ (date of access: 11.08.2021).

125. Epigenetic and genetic variations at the TNNT1 gene locus are associated with HDL-C levels and coronary artery disease / S. P. Guay, C. Légaré, D. Brisson [et al.] // Epigenomics. – 2016. – Vol. 8, N 3. – P. 359–371.

126. Epigenetic mechanisms in atrial fibrillation: New insights and future directions / H. Tao, K. H. Shi, J. J. Yang, Li J. // Trends Cardiovasc Med. 2016. – Vol. 26, N 4. – P. 306–18.

127. Epigenetic mechanisms in coronary artery disease: The current state and prospects / L. Duan, C. Liu, J. Hu [et al.] // Trends Cardiovasc Med. – 2018. – Vol. 28, N 5. – P. 311–319.

128. Epigenetic Patterns in Blood Associated With Lipid Traits Predict Incident Coronary Heart Disease Events and Are Enriched for Results From Genome-Wide

Association Studies / Å. K. Hedman, M. M. Mendelson, R. E. Marioni [et al.]. – DOI: 10.1161/CIRCGENETICS.116.001487. - Text: electronic // Circ Cardiovasc Genet. – 2017. – Vol. 10, N 1. – P. e001487. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5331877/ (date of access: 11.08.2021).

129. Epigenetics-by-Sex Interaction for Coronary Artery Disease Risk Conferred by the Cystathionine γ-Lyase Gene Promoter Methylation / E. Giannakopoulou, F. Konstantinou, G. Ragia [et al.] // OMICS. – 2017. – Vol. 21, N 12. – P. 741–748.

130. Epigenome -wide association of myocardial infarction with DNA methylation sites at loci related to cardiovascular disease / Nakatochi M., Ichihara S., Yamamoto K. [et al.] // Clin Epigenetics. – 2017. – N 9. – P. 54.

131. Epigenome-Wide Association Study Identifies Cardiac Gene Patterning and a Novel Class of Biomarkers for Heart Failure / B. Meder, J. Haas, F. Sedaghat-Hamedani [et al.] // Circulation. – 2017. – Vol. 136, N 16. – P. 1528–1544.

132. Epigenome-wide association study reveals differential DNA methylation in individuals with a history of myocardial infarction / M. Rask-Andersen, D. Martinsson, M. Ahsan [et al.] // Hum Mol Genet. – 2016. – Vol. 25, N 21. – P. 4739–4748.

133. European detailed mortality database (DMDB) (2014), World Health Organization. Regional Office for Europe [Электронный ресурс]. – URL: https://gateway.euro.who.int/ (дата обращения: 25.09.2021).

134. Evaluation of the influence of global DNA methylation level in patients with acute coronary syndrome / F. C. S. Soares, E. A. S. Amorim, R. M. Araújo [et al.] // Clin Chim Acta. – 2020. – N 511. – P. 336–341.

135. Evidence of association of circulating epigenetic-sensitive biomarkers with suspected coronary heart disease evaluated by Cardiac Computed Tomography / T. Infante, E. Forte, C. Schiano [et al.]. –Text: electronic // PLoS One. – 2019. – Vol. 14, N 1. – P. e0210909. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6343931/ (date of access: 11.08.2021).

136. Exome analysis in 34 sudden unexplained death (SUD) victims mainly identified variants in channelopathy-associated genes / J. Neubauer, M. R. Lecca, G. Russo [et al.] // Int J Legal Med. – 2018. – Vol. 132, N 4. – P. 1057–1065.

137. Exome sequencing-based molecular autopsy of formalin-fixed paraffin-embedded tissue after sudden death / R. D. Bagnall, J. Ingles, L. Yeates [et al.] // Genet Med. – 2017. – Vol. 19, N 10. – P. 1127–1133.

138. F2RL3 methylation in blood DNA is a strong predictor of mortality / Y. Zhang, R. Yang, B. Burwinkel [et al.] // Int J Epidemiol. – 2014. – Vol. 43, N 4. – P. 1215–25.

139. *FLNC* [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2318 (дата обращения: 04.12.2021).

140. Fragmented QRS complex as a predictor of exercise-related sudden cardiac death / T. Toukola, M. J. Junttila, L. T. A. Holmström [et al.] // J Cardiovasc Electrophysiol. – 2018. – Vol. 29, N 1. – P. 55–60.

141. Framingham Heart Study https://framinghamheartstudy.org/fhs-about/

142. Functional characterization of a novel SCN5A variant associated with long QT syndrome and sudden cardiac death / J. Neubauer, Z. Wang, J. S. Rougier [et al.] // Int J Legal Med. – 2019. – Vol. 133, N 6. – P. 1733–1742.

143. Garg, A. Primary prevention of sudden cardiac death - Challenge the guidelines / A. Garg // Indian Heart J. – 2015. – Vol. 67, N 3. – P. 203–206.

144. *GACAT3* [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/104797537 (дата обращения: 20.04.2017).

145. *GAPT* [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/202309 (дата обращения: 24.12.2020).

146. GDF-15 is a better complimentary marker for risk stratification of arrhythmic death in non-ischaemic, dilated cardiomyopathy than soluble ST2 / S. Stojkovic, A. Kaider, L. Koller [et al.] // J Cell Mol Med. – 2018. – Vol. 22, N 4. – P. 2422–2429.

147. GDF-15 is associated with sudden cardiac death due to incident myocardial infarction / J. Andersson, T. Fall, R. Delicano [et al.] // Resuscitation. – 2020. – N 152. – P. 165–169.

148. GeneReviews [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1129/ (дата обращения: 24.02.2022).

149. Genetic Analysis of Arrhythmogenic Diseases in the Era of NGS: The Complexity of Clinical Decision-Making in Brugada Syndrome / C. Allegue, M. Coll, J. Mates [et al.] – Text: electronic // PLoS One. – 2015. – Vol. 10, N 7. – P. e0133037. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4521779/ (date of access: 11.08.2021).

150. Genetic anticipation in a special form of hypertrophic cardiomyopathy with sudden cardiac death in a family with 74 members across 5 generations / X. Guo, C. Fan, Y. Wang [et al.]. – Text: electronic // Medicine (Baltimore). – 2017. – Vol. 96, N 11. – P. e6249. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5369889/ (date of access: 11.08.2021).

151. Genetic association study of a novel indel polymorphism in HSPA1B with the risk of sudden cardiac death in the Chinese populations / Yang Z, Zhang Q, Yu H [et al.] // Forensic Sci Int. – 2021. – N 318. – P. 110637.

152. Genetic contributions to the expression of acquired causes of cardiac hypertrophy in non-ischemic sudden cardiac death victims / L. Holmström, K. Pylkäs, A. Tervasmäki [et al.] // Sci Rep. – 2021. – Vol. 11, N 1. – P. 11171.

153. Genetic Control of Left Atrial Gene Expression Yields Insights into the Genetic Susceptibility for Atrial Fibrillation / J. Hsu, S. Gore-Panter, G. Tchou [et al.] – Text: electronic // Circ Genom Precis Med. – 2018. – Vol. 11, N 3. – P. e002107. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5858469/ (date of access: 11.08.2021).

154. Genetic investigation of sudden unexpected death in epilepsy cohort by panel target resequencing / M. Coll, C. Allegue, S. Partemi [et al.] // Int J Legal Med. – 2016. – Vol. 130, N 2. – P. 331–339.

155. Genetic variants are not associated with outcome in patients with coronary artery disease and left ventricular dysfunction: results of the Genetic Substudy of the Surgical Treatment for Ischemic Heart Failure (STICH) trials / A. M. Feldman, L. She, D. M. McNamara [et al.] // Cardiology. – 2015. – Vol. 130, N 2. – P. 69–81.

156. Genetic variants associated with risk of atrial fibrillation regulate expression of PITX2, CAV1, MYOZ1, C9orf3 and FANCC / R. I. Martin, M. S. Babaei, M. K. Choy [et al.] // J Mol Cell Cardiol. – 2015. – N 85. – P. 207–14.

157. Genetic variants in KCNE1, KCNQ1, and NOS1AP in sudden unexplained death during daily activities in Chinese Han population / J. Huang, X. Wang, B. Hao [et al.] // J Forensic Sci. – 2015. – Vol. 60, N 2. – P. 351–356.

158. Genetic variation in KCNA5: impact on the atrial-specific potassium current IKur in patients with lone atrial fibrillation / I. E. Christophersen, M. S. Olesen, B. Liang [et al.] // Eur Heart J. – 2013. – Vol. 34, N 20. – P. 1517–25.

159. Genetic variants in PLCB4/PLCB1 as susceptibility loci for coronary artery aneurysm formation in Kawasaki disease in Han Chinese in Taiwan / Y. J. Lin, J. S. Chang, X. Liu [et al.] // Sci Rep. – 2015. – N 5. – P. 14762.

160. Genome-Wide Analysis of DNA Methylation and Acute Coronary Syndrome / J. Li, X. Zhu, K. Yu [et al.] // Circ Res. – 2017. – Vol. 120, N 11. – P. 1754–1767.

161. Genome-Wide Association Study for Autism Spectrum Disorder in Taiwanese Han Population / P. H. Kuo, L. C. Chuang, M. H. Su [et al.] – Text: electronic // PLoS One. – 2015. – Vol. 10, N 9. – P. e0138695. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4580585/ (date of access: 14.08.2021).

162. Genome-wide association study identifies candidate Loci associated with platelet count in Koreans / J. H. Oh, Y. K. Kim, S. Moon [et al.] // Genomics Inform. – 2014. – Vol. 12, N 4. – P. 225–30.

163. Genome-wide DNA methylation analysis in permanent atrial fibrillation / G. Zhao, J. Zhou, J. Gao [et al.] // Mol Med Rep. – 2017. – Vol. 16, N 4. – P. 5505-5514.

164. Genome-wide DNA methylation patterns in coronary heart disease / X. Wang, A. H. Liu, Z. W. Jia [et al.] // Herz. – 2018. – Vol. 43, N 7. – P. 656–662.

165. Genome wide DNA methylation profiling for epigenetic alteration in coronary artery disease patients / P. Sharma, G. Garg, A. Kumar [et al.] // Gene. – 2014. – Vol. 541, N 1. – P. 31–40.

166. Genome-wide DNA methylation study identifies genes associated with the cardiovascular biomarker GDF-15 / W. E. Ek, Å. K. Hedman, S. Enroth [et al.] // Hum Mol Genet. – 2016. – Vol. 25, N 4. – P. 817–827.

167. Genome-wide DNA methylome alterations in acute coronary syndrome / D. Li, J. Yan, Y. Yuan [et al.] // Int J Mol Med. – 2018. – Vol. 41, N 1. – P. 220–232.

168. Genomic findings in patients with clinical suspicion of 22q11.2 deletion syndrome / M. Koczkowska, J. Wierzba, R. Śmigiel [et al.] // J Appl Genet. – 2017. – Vol. 58, N 1. – P. 93–98.

169. Ghaznavi, H. A preliminary study of the association between the ABCA1 gene promoter DNA methylation and coronary artery disease risk / H. Ghaznavi, K. Mahmoodi, M. S. Soltanpour // Mol Biol Res Commun. – 2018. – Vol. 7, N 2. – P. 59–65.

170. GJA1 gene variations in sudden unexplained nocturnal death syndrome in the Chinese Han population / Q. Wu, Y. Wu, L. Zhang [et al.] // Forensic Sci Int. – 2017. – N 270. – P. 178–182.

171. GWAS for discovery and replication of genetic loci associated with sudden cardiac arrest in patients with coronary artery disease / B. E. Aouizerat, E. Vittinghoff, S. L. Musone, [et al.]. // BMC Cardiovasc Disord. – 2011. – N 11. – P. 29.

172. H558R, a common SCN5A polymorphism, modifies the clinical phenotype of Brugada syndrome by modulating DNA methylation of SCN5A promoters / H. Matsumura, Y. Nakano, H. Ochi [et al.] // J Biomed Sci. – 2017. – Vol. 24, N 1. – P. 91.

173. Hata, Y. An Autopsy Case of Sudden Unexpected Death of a Young Adult in a Hot Bath: Molecular Analysis Using Next-Generation DNA Sequencing / Y. Hata, K. Kinoshita, N. Nishida – Text: electronic // Clin Med Insights Case Rep. – 2017. – N

10. – P. 1179547617702884. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5398417/ (date of access: 18.02.2021).

174. *HDAC9* [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/9734 (дата обращения: 24.12.2021).

175. HDAC9 Variant Rs2107595 Modifies Susceptibility to Coronary Artery Disease and the Severity of Coronary Atherosclerosis in a Chinese Han Population / X. B. Wang, Y. D. Han, S. Sabina [et al.]. – DOI: 10.1371/journal.pone.0160449. – Text: electronic // PLoS One. – 2016. – Vol. 11, N 8. – P. e0160449. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4975504/.

176. *HMGCR* [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3156 (дата обращения: 24.12.2020).

177. HMGCR rs17671591 SNP Determines Lower Plasma LDL-C after Atorvastatin Therapy in Chilean Individuals / A. Cuevas, C. Fernández, L. Ferrada [et al.] // Basic Clin Pharmacol Toxicol. – 2016. – Vol. 118, N 4. – P. 292-7. DOI: 10.1111/bcpt.12493

178. Hypermethylation at loci sensitive to the prenatal environment is associated with increased incidence of myocardial infarction / R. P. Talens, J. W. Jukema, S. Trompet [et al.] // Int J Epidemiol. – 2012. – Vol. 41, N 1. – P. 106–115.

179. Hypomethylation of Interleukin-6 Promoter is Associated with the Risk of Coronary Heart Disease / H. P. Zuo, Y. Y. Guo, L. Che, X. Z. Wu // Arq Bras Cardiol. – 2016. – Vol. 107, N 2. – P. 131–136.

180. Identification and validation of regulatory SNPs that modulate transcription factor chromatin binding and gene expression in prostate cancer / H. J. Jin, S. Jung, A. R. DebRoy [et al.] // Oncotarget. – 2016. – Vol. 7, N 34. – P. 54616–54626.

181. Identification of genes associated with sudden cardiac death: a network- and pathway-based approach / J. Wei, X. Ni, Y. Dai [et al.] // J Thorac Dis. – 2021. – Vol. 13, N 6. – P. 3610–3627.

182. Identification of a sudden cardiac death susceptibility locus at 2q24.2 through genome-wide association in European ancestry individuals / D. E. Arking, M. J. Junttila, P. Goyette [et al.]. – Text: electronic // PLoS Genet. – 2011. – Vol. 7, N 6. – P.

e1002158. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3128111/ (date of access: 11.08.2021).

183. Identification of genetic susceptibility loci for intestinal Behçet's disease / S. W. Kim, Y. S. Jung, J. B. Ahn [et al.] // Sci Rep. – 2017. – N 7. – P. 39850.

184. Identification of Potential Biomarkers for CAD Using Integrated Expression and Methylation Data / X. Zhang, Y. Xiang, D. He [et al.] // Front Genet. – 2020. – N 11. – P. 778.

185. Identification of rare variants in cardiac sodium channel β4-subunit gene SCN4B associated with ventricular tachycardia / Q. Yang, H. Xiong, C. Xu [et al.] // Mol Genet Genomics. – 2019. – Vol. 294, N 4. – P. 1059–1071.

186. Identification of SAMD9L as a susceptibility locus for intravenous immunoglobulin resistance in Kawasaki disease by genome-wide association analysis / J. J. Kim, S. W. Yun, J. J. Yu [et al.] // Pharmacogenomics J. – 2020. – N 20. – P. 80–86.

187. Importance of Variant Interpretation in Whole-Exome Molecular Autopsy: Population-Based Case Series / G. W. Shanks, D. J. Tester, J. P. Ackerman [et al.] // Circulation. – 2018. – Vol. 137, N 25. – P. 2705–2715.

188. Inflammation and sudden cardiac death in a community-based population of older adults: the Cardiovascular Health Study / A. A. Hussein, J. S. Gottdiener, T. M. Bartz [et al.] // Heart Rhythm. – 2013. – Vol. 10, N 10. – P. 1425–32.

189. Influence of genetic modifiers on sudden cardiac death cases / T. Jenewein, T. Neumann, D. Erkapic [et al.] // Int J Legal Med. – 2018. – Vol. 132, N 2. – P. 379–385.

190. Integrated DNA methylation and gene expression analysis in the pathogenesis of coronary artery disease / L. Miao, R. X. Yin, Q. H. Zhang [et al.] // Aging (Albany NY). – 2019. – Vol. 11, N 5. – P. 1486–1500.

191. Integration of gene expression and DNA methylation profiles provides a molecular subtype for risk assessment in atherosclerosis / S. C. Ma, H. P. Zhang, F. Q. Kong [et al.] // Mol Med Rep. – 2016. – Vol. 13, N 6. – P. 4791–4799.

192. Investigating Coronary Artery Disease methylome through targeted bisulfite sequencing / S. Ghose, S. Ghosh, V. S. Tanwar [et al.] // Gene. – 2019. – N 721. – P. 144107.

193. Is High Serum LDL/HDL Cholesterol Ratio an Emerging Risk Factor for Sudden Cardiac Death? Findings from the KIHD Study / S. K. Kunutsor, F. Zaccardi, J. Karppi [et al.] // J Atheroscler Thromb. – 2017. – Vol. 24, N 6. – P. 600–608.

194. Is There a Role for Genetics in the Prevention of Sudden Cardiac Death? / A. Faragli, K. Underwood, S. G. Priori, A. Mazzanti // J Cardiovasc Electrophysiol. – 2016. – Vol. 2, N 9. – P. 1124–1132.

195. Joint effect of blood pressure and C-reactive protein and the risk of sudden cardiac death: A prospective cohort study / S. Kurl, S. Y. Jae, A. Voutilainen [et al.] // Int J Cardiol. – 2021. – N 326. – P. 184–188.

196. *KCNA5* [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3741 (дата обращения: 24.12.2020).

197. *KCND3* [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3752 (дата обращения: 24.12.2020).

198. *KCNH2* [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3757 (дата обращения: 24.12.2020).

199. KCNN2 polymorphisms and cardiac tachyarrhythmias / C. C. Yu, T. Chia-Ti, P. L. Chen [et al.]. – Text: electronic // Medicine (Baltimore). - 2016. - Vol. 95, N 29. – P. e4312. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5265796/ (date of access: 11.08.2021).

200. KCNS1, but not GCH1, is associated with pain intensity in a black southern African population with HIV-associated sensory neuropathy: a genetic association study / L. Hendry, Z. Lombard, A. Wadley [et al.] // J Acquir Immune Defic Syndr. – 2013. – Vol. 63, N 1. – P. 27–30.

201. Kirchhof, P. High-density lipoprotein shortens the ventricular action potential. A novel explanation for how statins prevent sudden arrhythmic death? / P. Kirchhof, L. Fabritz //J Am Coll Cardiol. – 2011. – Vol. 58, N 1. – P. 45–7.

202. Kuulasmaa, K. WHO MONICA Project and its Connections to the North Karelia Project / K. Kuulasmaa, H. Tolonen // Glob Heart. – 2016. – Vol. 11, N 2. – P. 217–21.

203. Laukkanen, J. A. Relation of systemic blood pressure to sudden cardiac death / J. A. Laukkanen, J. R. Jennings, J. Kauhanen // Am J Cardiol. – 2012. – Vol. 110, N 3. – P. 378–82.

204. Lemaitre RN Interaction of methylation-related genetic variants with circulating fatty acids on plasma lipids: a meta-analysis of 7 studies and methylation analysis of 3 studies in the Cohorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology consortium / Y. Ma, J. L. Follis, C. E. Smith [et al.] // Am J Clin Nutr. – 2016. – Vol. 103, N 2. – P. 567–78.

205. Liu, X. Associations between common ion channel single nucleotide polymorphisms and sudden cardiac death in adults: A MOOSE-compliant meta-analysis / X. Liu, J. Shi, P. Xiao // Medicine (Baltimore). – 2018. – Vol. 97, N 38. – e12428.

206. LncRNA-LINC00472 contributes to the pathogenesis of atrial fibrillation (Af) by reducing expression of JP2 and RyR2 via miR-24 / L. Y. Wang, H. Shen, Q. Yang [et al.] // Biomed Pharmacother. – 2019. – N 120. – P. 109364.

207. Long-term prognostic value of resting heart rate in patients with suspected or proven coronary artery disease / A. Diaz, M. G. Bourassa, M. C. Guertin, J. C. Tardif // Eur Heart J. – 2005. – Vol. 26, N 10. – P. 967–74.

208. Lower Methylation of the ANGPTL2 Gene in Leukocytes from Post-Acute Coronary Syndrome Patients / A. Nguyen, M. Mamarbachi, V. Turcot [et al.] –Text: electronic // PLoS One. – 2016. Vol. 11, N 4. – P. e0153920. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4839636/ (date of access: 11.08.2021).

209. Mangum, K. D. A novel familial truncating mutation in the filamin C gene associated with cardiac arrhythmias / K. D. Mangum, S. J. Ferns //Eur J Med Genet. – 2019. – Vol. 62, N 4. – P. 282–285.

210. Markers of Myocardial Stress, Myocardial Injury, and Subclinical Inflammation and the Risk of Sudden Death / B. M. Everett, M. V. Moorthy, J. T. Tikkanen [et al.] // Circulation. – 2020. – Vol. 142, N 12. – P. 1148–1158.

211. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and myeloperoxidase (MPO) levels in patients with nonobstructive coronary artery disease detected by coronary computed tomographic angiography / Z. H. Hou, B. Lu, Y. Gao [et al.] // Acad Radiol. – 2013. – Vol. 20, N 1. – P. 25–31.

212. McCauley M. D. Ryanodine receptor phosphorylation, calcium/calmodulin-dependent protein kinase II, and life-threatening ventricular arrhythmias / M. D. McCauley, X. H. Wehrens // Trends Cardiovasc Med. – 2011. – Vol. 21, N 2. – P. 48–51.

213. Mediterranean and Dietary Approaches to Stop Hypertension dietary patterns and risk of sudden cardiac death in postmenopausal women / M. L. Bertoia, E. W. Triche, D. S. Michaud [et al.] // Am J Clin Nutr. – 2014. – Vol. 99, N 2. – P. 344–51.

214. Mediterranean Diet Score, Dietary Patterns, and Risk of Sudden Cardiac Death in the REGARDS Study / J. M. Shikany, M. M. Safford, O. Soroka [et al.] – Text: electronic // J Am Heart Assoc. – 2021. – Vol. 10, N 13. – P. e019158. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8403280/ (date of access: 11.01.2021).

215. Methylome-wide Association Study of Atrial Fibrillation in Framingham Heart Study / H. Lin, X. Yin, Z. Xie [et al.] // Sci Rep. – 2017. - N 7. – P. 40377.

216. Mitochondrial EFTs defects in juvenile-onset Leigh disease, ataxia, neuropathy, and optic atrophy / S. Ahola, P. Isohanni, L. Euro [et al.] // Neurology. – 2014. – Vol. 83, N 8. – P. 743–751.

217. Mizusawa, Y. Recent advances in genetic testing and counseling for inherited arrhythmias / Y. Mizusawa // J Arrhythm. – 2016. – Vol. 32, N 5. – P. 389-397.

218. MLP and CARP are linked to chronic PKCα signalling in dilated cardiomyopathy / S. Lange, K. Gehmlich, A. S. Lun [et al.] // Nat Commun. – 2016. – Vol. 7. – P. 120.

219. Molecular and Functional Characterization of Rare CACNA1C Variants in Sudden Unexplained Death in the Young / B. S. Sutphin, N. J. Boczek, H. Barajas-Martínez [et al.] // Congenit Heart Dis. – 2016. – Vol. 11, N 6. – P. 683–692.

220. Molecular Autopsy for Sudden Death in the Young: Is Data Aggregation the Key? / M. Rueda, J. L. Wagner, T. C. Phillips [et al.] // Front Cardiovasc Med. – 2017. – Vol. 4, N 72.

221. Moore, L. D. DNA methylation and its basic function / L. D. Moore, T. Le, G. Fan // Neuropsychopharmacology. – 2013. – Vol. 38, N 1. – P. 23–38.

222. Multiallelic rare variants support an oligogenic origin of sudden cardiac death in the young / H. Jaouadi, Y. Bouyacoub, S. Chabrak [et al.] // Herz. – 2021. – N 46. – P. 94–102.

223. Mutations in calmodulin cause ventricular tachycardia and sudden cardiac death / M. Nyegaard, M. T. Overgaard, M. T. Søndergaard [et al.] // Am J Hum Genet. – 2012. – Vol. 91, N 4. – P. 703–712.

224. Mutations in the beta-myosin heavy chain gene in southern Chinese families with hypertrophic cardiomyopathy / D. D. Zheng, J. H. Yang, Q. Tao [et al.] // J Int Med Res. – 2010. – Vol. 38, N 3. – P. 810–20.

225. Mutations in the cardiac L-type calcium channel associated with inherited J-wave syndromes and sudden cardiac death / E. Burashnikov, R. Pfeiffer, H. Barajas-Martinez [et al.] // Heart Rhythm. – 2010. – Vol. 7, N 12. – P. 1872–1882.

226. Mutations of desmoglein-2 in sudden death from arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy and sudden unexplained death / M. Zhang, A. Xue, Y. Shen [et al.] // Forensic Sci Int. – 2015. – N 255. – P. 85–88.

227. Mutations of the beta myosin heavy chain gene in hypertrophic cardiomyopathy: critical functional sites determine prognosis / A. Woo, H. Rakowski, J. C. Liew [et al.] // Heart. – 2003. – Vol. 89, N 10. – P. 1179–1185.

228. Mutations of the light meromyosin domain of the beta-myosin heavy chain rod in hypertrophic cardiomyopathy / E. Blair, C. Redwood, M. de Jesus Oliveira [et al.] // Circ Res. – 2002. – Vol. 90, N 3. – P. 263–269.

229. Mutations of the SCN4B-encoded sodium channel β4 subunit in familial atrial fibrillation / R. G. Li, Q. Wang, Y. J. Xu [et al.] // Int J Mol Med. – 2013. – Vol. 32, N 1. – P. 144–150.

230. Nadarajah, R. Is hypertensive left ventricular hypertrophy a cause of sustained ventricular arrhythmias in humans? / R. Nadarajah, P. A. Patel, M. H. Tayebjee // J Hum Hypertens. – 2021. – Vol. 35, N 6. – P. 492–498.

231. Nationwide burden of sudden cardiac death: A study of 54,028 deaths in Denmark / T. H. Lynge, B. Risgaard, J. Banner [et al.] // Heart Rhythm. – 2021. – Vol. 18, N 10. – P. 1657–1665.

232. Natural and Undetermined Sudden Death: Value of Post-Mortem Genetic Investigation / O. Sanchez, O. Campuzano, A. Fernández-Falgueras [et al.]. –: electronic // PLoS One. – 2016. – Vol. 11, N 12. – P. e0167358. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5145162/ (date of access: 11.08.2021).

233. Next-generation sequencing of 100 candidate genes in young victims of suspected sudden cardiac death with structural abnormalities of the heart / C. L. Hertz, S. L. Christiansen, L. Ferrero-Miliani [et al.] // Int J Legal Med. – 2016. – Vol. 130, N 1. – P. 91–102.

234. Next-generation sequencing of nine atrial fibrillation candidate genes identified novel de novo mutations in patients with extreme trait of atrial fibrillation / C. T. Tsai, C. S. Hsieh, S. N. Chang [et al.] // J Med Genet. – 2015. – Vol. 52, N 1. – P. 28–36.

235. Novel loci associated with increased risk of sudden cardiac death in the context of coronary artery disease / A. Huertas-Vazquez, C. P. Nelson, X. Guo [et al.]. – Text: electronic // PLoS One. - 2013. - Vol. 8, N 4. – P. e59905. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3617189/ (date of access: 11.08.2021).

236. Novel long non-coding RNA GACAT3 promotes gastric cancer cell proliferation through the IL-6/STAT3 signaling pathway / W. Shen, Y. Yuan, M. Zhao [et al.] // Tumour Biol. – 2016. – Vol. 37, N 11. – P. 14895-14902. Ramos-Molina B. Phosphorylation and Alternative Splicing of 7B2 Reduce Prohormone Convertase 2 Activation / B. Ramos-Molina, I. Lindberg // Mol Endocrinol. – 2015. – Vol. 29, N 5. – P. 756–64.

237. Osteopontin and LDLR Are Upregulated in Hearts of Sudden Cardiac Death Victims With Heart Failure With Preserved Ejection Fraction and Diabetes

Mellitus / M. Patel, D. Rodriguez, K. Yousefi [et al.] // Front Cardiovasc Med. – 2020. – N 7. – P. 610282.

238. *PARVB* [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/29780 (дата обращения: 20.04.2017).

239. Pathway analysis using genome-wide association study data for coronary restenosis--a potential role for the PARVB gene / J. J. Verschuren, S. Trompet, M. L. Sampietro [et al.] – Text: electronic // PLoS One. – 2013. – Vol. 8, N 8. – P. e70676. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3739784/ (date of access: 11.08.2021).

240. *PDCD6IP* [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/10015 (дата обращения: 20.04.2017).

241. Pentraxin 3 (PTX3) promoter methylation associated with PTX3 plasma levels and neutrophil to lymphocyte ratio in coronary artery disease / T. M. Guo, L. L. Huang, K. Liu [et al.] // J Geriatr Cardiol. – 2016. – Vol. 13, N 8. – P. 712–717.

242. Physical activity and risk of sudden cardiac death in individuals at high risk for cardiovascular disease: A protocol for systematic review and meta-analysis / Q. Wu, F. Li, Y. Jia [et al.]. – Text: electronic // Medicine (Baltimore). – 2021. – Vol. 100, N 19. - P. e25890. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8133227/ (date of access: 11.08.2021).

243. Physical activity and the risk of sudden cardiac death: a systematic review and meta-analysis of prospective studies / D. Aune, S. Schlesinger, M. Hamer [et al.] // BMC Cardiovasc Disord. – 2020. – Vol. 20, N 1. – P. 318.

244. Pentraxin-3 Predicts Long-Term Cardiac Events in Patients with Chronic Heart Failure / H. Liu, X. Guo, K. Yao [et al.] // Biomed Res Int. – 2015. - N 2015. – P. 817615.

245. *PKP2* [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5318 (дата обращения: 20.04.2017).

246. PKP2 mutations in sudden death from arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC) and sudden unexpected death with negative autopsy

(SUDNA) / M. Zhang, F. Tavora, J. B. Oliveira [et al.] // Circ J. – 2012. – Vol. 76, N 1. – P. 189–94.

247. Plakophilin-2 c.419C>T and risk of heart failure and arrhythmias in the general population / A. H. Christensen, P. R. Kamstrup, E. Gandjbakhch [et al.] // Eur J Hum Genet. – 2016. – Vol. 24, N 5. – P. 732–8.

248. *PLCB1* [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/23236 (дата обращения: 20.04.2017).

249. *PLK2* [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/10769 (дата обращения: 24.12.2020).

250. Plk2 Regulated by miR-128 Induces Ischemia-Reperfusion Injury in Cardiac Cells / D. Zhao, E. Shun, F. Ling [et al.] // Mol Ther Nucleic Acids. – 2020. – N 19. – P. 458–467.

251. Polo-Like Kinase 2 is Dynamically Regulated to Coordinate Proliferation and Early Lineage Specification Downstream of Yes-Associated Protein 1 in Cardiac Progenitor Cells / M. Mochizuki, V. Lorenz, R. Ivanek [et al.] – Text: electronic // J Am Heart Assoc. – 2017. – Vol. 6, N 10. – P. e005920. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5721832/ (date of access: 01.01.2021).

252. Polymorphism of HDAC9 Gene Is Associated with Increased Risk of Acute Coronary Syndrome in Chinese Han Population / Z. Han, X. Dong, C. Zhang [et al.] – Text: electronic // Biomed Res Int. – 2016. – N 2016. – P. 3746276. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5013224/ (date of access: 01.08.2021).

253. Polymorphisms in the GNAS Gene as Predictors of Ventricular Tachyarrhythmias and Sudden Cardiac Death: Results From the DISCOVERY Trial and Oregon Sudden Unexpected Death Study / H. Wieneke, J. H. Svendsen, J. Lande [et al.]. –Text: electronic // J Am Heart Assoc. – 2016. – Vol. 5, N 12. – P. e003905. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5210425/ (date of access: 11.08.2021).

254. Post-mortem genetic analysis in juvenile cases of sudden cardiac death / O. Campuzano, O. Sanchez-Molero, C. Allegue [et al.] // Forensic Sci Int. – 2014. – N 245. – P. 30–37.

255. Post-mortem Whole exome sequencing with gene-specific analysis for autopsy-negative sudden unexplained death in the young: a case series / N. Narula, D. J. Tester, A. Paulmichl [et al.] // Pediatr Cardiol. – 2015. – Vol. 36, N 4. – P. 768–778.

256. Postmortem genetic analysis of sudden unexplained death syndrome under 50 years of age: A next-generation sequencing study / Y. Hata, K. Kinoshita, K. Mizumaki [et al.] // Heart Rhythm. – 2016. – Vol. 13, N 7. – P. 1544–1551.

257. Postmortem genetic screening for the identification, verification, and reporting of genetic variants contributing to the sudden death of the young / D. N. Methner, S. E. Scherer, K. Welch [et al.] // Genome Res. – 2016. – Vol. 26, N 9. – P. 1170–1177.

258. Postmortem plasma pentraxin 3 is a useful marker of fatal acute coronary syndrome / M. Tojo, K. Shintani-Ishida, H. Tsuboi [et al.] // Sci Rep. – 2019. – Vol. 9, N 1. – P. 8090.

259. Predicting sudden cardiac death using common genetic risk variants for coronary artery disease / J. A. Hernesniemi, L. P. Lyytikäinen, N. Oksala [et al.] // Eur Heart J. – 2015. – Vol. 36, N 26. – P. 1669–1675.

260. Predictors of sudden cardiac death in atrial fibrillation: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study / R. J. Koene, F. L. Norby, A. Maheshwari [et al.]. – Text: electronic // PLoS One. – 2017. – Vol. 12, N 11. – P. e0187659. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5678684/ (date of access: 11.08.2021).

261. Preliminary study of the relationship between promoter methylation of the ANGPTL2 gene and coronary heart disease / J. Zhou, L. Chen, X. Yang [et al.] –Text: electronic // J Clin Lab Anal. – 2019. – P. e22702. - URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6818569/ (date of access: 11.08.2021).

262. Priori, S. G. Genetic testing to predict sudden cardiac death: current perspectives and future goals / S. G. Priori // Indian Heart J. – 2014. – N 66, Suppl. 1. – P. S58–60.

263. Probing the epigenetic signatures in subjects with coronary artery disease / B. Indumathi, S. S. Oruganti, S. M. Naushad, V. K. Kutala // Mol Biol Rep. – 2020. – Vol. 47, N 9. – P. 6693–6703.

264. Puckelwartz, M. Emery-Dreifuss muscular dystrophy / M. Puckelwartz, E. M. McNally // Handb Clin Neurol. – 2011. – N 101. – P. 155–66.

265. Putative role of Brugada syndrome genes in familial atrial fibrillation / P. E. Maltese, E. Aldanova, N. Kriuchkova [et al.] // Eur Rev Med Pharmacol Sci. – 2019. – Vol. 23, N 17. – P. 7582–7598.

266. Rai V. Role of risk stratification and genetics in sudden cardiac death / V. Rai, D. K. Agrawal // Can J Physiol Pharmacol. – 2017. – Vol. 95, N 3. – P. 225-238.

267. Rare Genetic Variants Associated With Sudden Cardiac Death in Adults / A. V. Khera, H. Mason-Suares, D. Brockman [et al.] // J Am Coll Cardiol. – 2019. – Vol. 74, N 21. – P. 2623–2634.

268. Re-analysis of whole-exome sequencing data uncovers novel diagnostic variants and improves molecular diagnostic yields for sudden death and idiopathic diseases / E. L. Salfati, E. G. Spencer, S. E. Topol [et al.] // Genome Med. – 2019. – Vol. 11, N 1. – P. 83.

269. Resting heart rate and the risk of cardiovascular disease, total cancer, and all-cause mortality - A systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies / D. Aune, A. Sen, B. ó'Hartaigh [et al.] // Nutr Metab Cardiovasc Dis. – 2017. – Vol. 27, N 6. – P. 504–517.

270. Retrospective Analysis of Sudden Cardiac Deaths in a 10-Year Autopsy Series in the City of Isparta in Turkey / A. Yildiz, S. S. Gürpinar, F. E.Yağci [et al.] // Am J Forensic Med Pathol. – 2020. Vol. 41, N 4. – P. 263–268.

271. Right ventricular hypertrophy is associated with cardiovascular events in hypertrophic cardiomyopathy: evidence from study with magnetic resonance imaging / Y. Nagata, T. Konno, N. Fujino [et al.] // Can J Cardiol. – 2015. – Vol. 31, N 6. – P. 702–708.

272. Risk Factors of Sudden Cardiac Death in the Young: Multiple-Year Community-Wide Assessment / R. Jayaraman, K. Reinier, S. Nair [et al.] // Circulation. – 2018. – Vol. 137, N 15. – P. 1561–1570.

273. Risk of sudden coronary death based on genetic background in Chinese Han population / N. Zhang, X. Lv, X. Cheng [et al.] // Exp Ther Med. – 2021. – Vol. 22, N 4. – P. 1068.

274. Risk stratification of cardiac arrhythmias and sudden cardiac death in type 2 diabetes mellitus patients receiving insulin therapy: A population-based cohort study / S. Lee, K. Jeevaratnam, T. Liu [et al.] // Clin Cardiol. – 2021. – Vol. 44, N 11. – P. 1602–1612.

275. Roles of long noncoding RNAs in gastric cancer and their clinical applications / W. Sun, Y. Yang, C. Xu [et al.] // J Cancer Res Clin Oncol. – 2016. – Vol. 142, N 11. – P. 2231–2237.

276. rs10867772 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?do_not_redirect&rs = rs10867772 (дата обращения: 21.12.2020).

277. rs12804550 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?do_not_redirect&rs = rs12804550 (дата обращения: 18.12.2020).

278. rs12904699 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?do_not_redirect&rs = rs12904699 (дата обращения: 14.10.2021).

279. rs139614200 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs139614200?vertical_tab = true (дата обращения: 14.10.2021).

280. rs143512106 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs143512106?horizontal_tab = true#publications (дата обращения: 04.08.2022).

281. rs199473660 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs199473660?vertical_tab = true (дата обращения: 14.10.2021).

282. rs199935488 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs199935488?vertical_tab = true (дата обращения: 04.08.2022).

283. rs200181804 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs200181804?horizontal_tab = true (дата обращения: 04.08.2022).

284. rs201572079 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs201572079?vertical_tab = true (дата обращения: 04.08.2022).

285. rs201754030 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs201754030?horizontal_tab = true (дата обращения: 21.01.2022).

286. rs201453600 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs201453600?horizontal_tab = true (дата обращения: 21.01.2022).

287. rs202014478 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs202014478?horizontal_tab = true (дата обращения: 21.01.2022).

288. rs2340917 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs2340917?vertical_tab = true (дата обращения: 21.01.2022).

289. rs34554140 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?do_not_redirect&rs = rs34554140 (дата обращения: 21.12.2020).

290. rs34643859 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?do_not_redirect&rs = rs34643859 (дата обращения: 21.12.2020).

291. rs4514993 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?do_not_redirect&rs = rs4514993 (дата обращения: 21.12.2020).

292. rs4700290 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?do_not_redirect&rs = rs4700290 (дата обращения: 21.12.2020).

293. rs61757671 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs61757671?horizontal_tab = true (дата обращения: 06.06.2022).

294. rs61999948 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs61999948 (дата обращения: 21.09.2019).

295. rs6670279 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?do_not_redirect&rs = rs6670279 (дата обращения: 06.06.2022).

296. rs6762529 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?do_not_redirect&rs = rs6762529 (дата обращения: 26.05.2019).

297. rs6874185 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?do_not_redirect&rs = rs6874185 (дата обращения: 06.06.2022).

298. rs71461059 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?do_not_redirect&rs = rs71461059 (дата обращения: 26.05.2019).

299. rs7164665 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?do_not_redirect&rs = rs7164665 (дата обращения: 26.05.2019).

300. rs7172856 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs7172856 (дата обращения: 21.09.2019).

301. rs72648237 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs72648237?horizontal_tab = true (дата обращения: 01.02.2021).

302. rs72648272 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs72648272?vertical_tab = true (дата обращения: 24.12.2021).

303. rs727504479 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs727504479?vertical_tab = true (дата обращения: 24.12.2021).

304. rs75555045 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?do_not_redirect&rs = rs75555045 (дата обращения: 24.02.2021).

305. rs774107448 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs774107448?vertical_tab = true (дата обращения: 24.11.2021).

306. SCG5 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/6447#gene-expression (дата обращения: 24.11.2021).

307. SCN11A variant as possible pain generator in sensory axonal neuropathy / F. Ginanneschi, A. Rubegni, F. Moro [et al.] // Neurol Sci. – 2019. – Vol. 40, N 6. – P. 1295–1297.

308. Sepulveda, J. L. The parvins / J. L. Sepulveda, C. Wu // Cell Mol Life Sci. – 2006. – Vol. 63, N 1. – P. 25–35.

309. Severe dyslipidaemia, atherosclerosis, and sudden cardiac death in mice lacking all NO synthases fed a high-fat diet / Y. Yatera, K. Shibata, Y. Furuno [et al.] // Cardiovasc Res. – 2010. – Vol. 87, N 4. – P. 675–82.

310. Sexually dimorphic DNA-methylation in cardiometabolic health: A systematic review / E. Asllanaj, X. Zhang, C. Ochoa Rosales [et al.] // Maturitas. – 2020. – N 135. – P. 6–26

311. Single nucleotide polymorphisms in arrhythmia genes modify the risk of cardiac events and sudden death in long QT syndrome / N. Earle, D. Yeo Han, A. Pilbrow [et al.] // Heart Rhythm. – 2014. – Vol. 11, N 1. – P. 76–82.

312. Smith, J. D. New role for histone deacetylase 9 in atherosclerosis and inflammation / J. D. Smith // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 2014. – Vol. 34, N 9. – P. 1798-9.

313. Smoking, F2RL3 methylation, and prognosis in stable coronary heart disease / L. P. Breitling, K. Salzmann, D. Rothenbacher [et al.] // Eur Heart J. – 2012. – Vol. 33, N 22. – P. 2841–2848.

314. SNTA1 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/6640 (дата обращения: 25.12.2021).

315. Soldatov, N. M. CACNB2: An Emerging Pharmacological Target for Hypertension, Heart Failure, Arrhythmia and Mental Disorders / N. M. Soldatov // Curr Mol Pharmacol/ - 2015. – Vol. 8, N 1. – P. 32–42.

316. SREBP2 is upregulated in esophageal squamous cell carcinoma and co-operates with c-Myc to regulate HMGCR expression / C. Zhong, L. Fan, Z. Li [et al.] // Mol Med Rep. – 2019 – Vol. 20, N 4. – P. 3003–3010.

317. Sudden cardiac death among Iranian population: a two decades follow-up of Tehran lipid and glucose study / H. Toreyhi, S. Asgari, D. Khalili [et al.] // Sci Rep. 2021. – Vol. 11, N 1. – P. 15720.

318. Sudden cardiac death among persons with diabetes aged 1-49 years: a 10-year nationwide study of 14 294 deaths in Denmark / T. H. Lynge, J. Svane, U. Pedersen-Bjergaard [et al.] // Eur Heart J. – 2020. – Vol. 41, N 28. – P. 2699–2706.

319. Sudden cardiac death during physical exercise: Characteristics of victims and autopsy findings / T. Toukola, E. Hookana, J. Junttila [et al.] // Ann Med. – 2015. – Vol 47, N 3. – P. 263–8.

320. Sudden cardiac death in persons aged 50 years or younger: diagnostic yield of a regional molecular autopsy program using massive sequencing / T. Ripoll-Vera, C. Pérez Luengo, J. C. Borondo Alcázar [et al.] // Rev Esp Cardiol (Engl Ed). – 2021. – Vol. 74, N 5. – P. 402–413.

321. Sudden Cardiac Death in Women. Circulation / M. A. E. Haukilahti, L. Holmström, J. Vähätalo [et al.] // Circulation. – 2019. – Vol. 139, N 8. – P. 1012–1021.

322. Sudden Cardiac Death Risk Distribution in the United States Population (from NHANES, 2005 to 2012) / K. A. Olson, R. B. Patel, F. S. Ahmad [et al.] // Am J Cardiol. – 2019. – Vol. 123, N 8. – P. 1249–1254.

323. Sudden unexpected cardiac death and postmortem identification of a novel RYR2 gene mutation / N. Mahlke, S. Dittmann, E. Schulze-Bahr [et al.] // Int J Legal Med. – 2019. – Vol. 133, N 6. – P. 1835–1838.

324. Sudden unexpected death in the young - Value of massive parallel sequencing in postmortem genetic analyses / S. Scheiper, E. Ramos-Luis, A. Blanco-Verea [et al.] // Forensic Sci Int. – 2018. – N 293. – P. 70–76.

325. Survival is affected by mutation type and molecular mechanism in vascular Ehlers-Danlos syndrome (EDS type IV) / M. G. Pepin, U. Schwarze, K. M. Rice [et al.] // Genet Med. – 2014. – Vol. 16, N 12. – P. 881–8.

326. Svane, J. Diabetes and the Risk of Sudden Cardiac Death / J. Svane, U. Pedersen-Bjergaard, J. Tfelt-Hansen // Curr Cardiol Rep. – 2020. – Vol. 22, N 10. – P. 112.

327. Syncope and risk of sudden cardiac arrest in coronary artery disease / A. L. Aro, C. Rusinaru, A. Uy-Evanado [et al.] // Int J Cardiol. – 2017. – N 231. – P. 26–30.

328. SYNE2 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?cmd = Retrieve&dopt = Graphics&list_uids = 23224 (дата обращения: 24.12.2021).

329. Systematic Meta-Analysis of the Association Between a Common NOS1AP Genetic Polymorphism, the QTc Interval, and Sudden Death / X. Zang, S. Li, Y. Zhao [et al.] // Int Heart J. – 2019. – Vol. 60, N 5. – P. 1083–1090.

330. Tabaei, S. DNA methylation abnormalities in atherosclerosis / S. Tabaei, S. S. Tabaee // Artif Cells Nanomed Biotechnol. – 2019. – Vol. 47, N 1. – P. 2031-2041.

331. Tadic, M. Heart rate as a predictor of cardiovascular risk / M. Tadic, C. Cuspidi, G. Grassi // Eur J Clin Invest. 2018. – Vol. 48, N 3.

332. Targeted DNA Methylation Profiling of Human Cardiac Tissue Reveals Novel Epigenetic Traits and Gene Deregulation Across Different Heart Failure Patient Subtypes / N. Glezeva, B. Moran, P. Collier [et al.]. – Text: electronic // Circ Heart Fail.

– 2019. – Vol. 12, N 3. – P. e005765. – URL: https://www.ahajournals.org/doi/epub/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.118.005765 (date of access: 11.08.2021).

333. Targeted molecular genetic testing in young sudden cardiac death victims from Western Denmark / M. K. Larsen, S. L. Christiansen, C. L. Hertz [et al.] // Int J Legal Med. – 2020. – Vol. 134, N 1. – P. 111–121.

334. Targeted next generation sequencing application in cardiac channelopathies: Analysis of a cohort of autopsy-negative sudden unexplained deaths / A. Farrugia, C. Keyser, C. Hollard [et al.] // Forensic Sci Int. – 2015. – N 254. – P. 5–11.

335. TGFB3 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7043 (дата обращения: 24.12.2020).

336. The 9p21 Locus and its Potential Role in Atherosclerosis Susceptibility; Molecular Mechanisms and Clinical Implications / A. Tajbakhsh, M. S. Khorrami, S. M. Hassanian [et al.] // Curr Pharm Des. – 2016. – Vol. 22, N 37. – P. 5730–5737.

337. The blood genome-wide DNA methylation analysis reveals novel epigenetic changes in human heart failure / B. Li, Z. H. Feng, H. Sun [et al.] // Eur Rev Med Pharmacol Sci. – 2017. – Vol. 21, N 8. – P. 1828–1836.

338. The crystal structure of the human titin:obscurin complex reveals a conserved yet specific muscle M-band zipper module / S. Pernigo, A. Fukuzawa, A. Pandini [et al.] // J Mol Biol. – 2015. – Vol. 427, N 4. – P. 718–36.

339. The effect of ABCA1 rs2230806 common gene variant on plasma lipid levels in patients with dyslipidemia / G. P. Smirnov, P. P. Malyshev, T. A. Rozhkova [et al.] // Klin Lab Diagn. – 2018. – Vol. 63, N 7. – P. 410–413.

340. The Metabolic Syndrome and Risk of Sudden Cardiac Death: The Atherosclerosis Risk in Communities Study / P. L. Hess, H. R. Al-Khalidi, D. J. Friedman [et al.] – Text: electronic // J Am Heart Assoc. – 2017. – Vol. 6, N 8. – P. e006103. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5586451/ (date of access: 11.11.2020).

341. The new kids on the block of arrhythmogenic disorders: Short QT syndrome and early repolarization / A. Mazzanti, K. Underwood, D. Nevelev [et al.] // J Cardiovasc Electrophysiol. – 2017. – Vol. 28, N 10. – P. 1226–1236.

342. The proarrhythmic conundrum of alcohol intake / T. A. Manolis, E. J. Apostolopoulos, A. A. Manolis [et al.] // Trends Cardiovasc Med. – 2021. – S1050-1738(21)00039–6.

343. The role of DNA methylation in coronary artery disease / L. Duan, J. Hu, X. Xiong [et al.] // Gene. – 2018. - N 646. – P. 91–97.

344. The role of epigenetic modifications in cardiovascular disease: A systematic review / T. Muka, F. Koromani, E. Portilla [et al.] // Int J Cardiol. – 2016. - N 212. – P. 174–183.

345. The rs13388259 Intergenic Polymorphism in the Genomic Context of the BCYRN1 Gene Is Associated with Parkinson's Disease in the Hungarian Population / S. Márki, A. Göblös, E. Szlávicz [et al.] // Parkinsons Dis. – 2018. – N 2018. – 9351598.

346. 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) / S. G. Priori, C. Blomström-Lundqvist, A. Mazzanti [et al.] // G Ital Cardiol. – 2016. – Vol. 17, N 2. – P. 108–70.

347. The type of variants at the COL3A1 gene associates with the phenotype and severity of vascular Ehlers-Danlos syndrome / M. Frank, J. Albuisson, B. Ranque [et al.] // Eur J Hum Genet. – 2015. – Vol. 23, N 12. – P. 1657-64. doi: 10.1038/ejhg.2015.32.

348. Temporal trends in coronary heart disease mortality and sudden cardiac death from 1950 to 1999: the Framingham Heart Study / C. S. Fox, J. C. Evans, M. G. Larson [et al.] // Circulation. – 2004. – Vol. 110, N 5. – P. 522–7.

349. Temporal Trends in the Clinical and Pathological Characteristics of Victims of Sudden Cardiac Death in the Absence of Previously Identified Heart Disease / M. J. Junttila, E. Hookana, K. S. Kaikkonen [et al.] – Text: electronic // Circ Arrhythm

Electrophysiol. – 2016. – Vol. 9, N 6. – P. e003723. – URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27301265/ date of access: 11.08.2021).

350. Temporal variability of T-wave morphology and risk of sudden cardiac death in patients with coronary artery disease / J. T. Rahola, A. M. Kiviniemi, O. H. Ukkola [et al.]. –Text: electronic // Ann Noninvasive Electrocardiol. – 2021. – P. e12830. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8164143/ (date of access: 11.08.2021).

351. Titin mutations in iPS cells define sarcomere insufficiency as a cause of dilated cardiomyopathy / J. T. Hinson, A. Chopra, N. Nafissi [et al.] // Science. – 2015. – Vol. 349, N 6251. – P. 982–6.

352. TLE1 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7088 (дата обращения: 24.12.2020).

353. Tobacco and electronic cigarettes adversely impact ECG indexes of ventricular repolarization: implication for sudden death risk / M. Ip, E. Diamantakos, K. Haptonstall [et al.]. –Text: electronic // Am J Physiol Heart Circ Physiol. - 2020. - Vol. 318, N 5. – P. H1176–H1184. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7346537/ (date of access: 11.08.2021).

354. Tobacco smoking and the risk of sudden cardiac death: a systematic review and meta-analysis of prospective studies / D. Aune, S. Schlesinger, T. Norat, E. Riboli // Eur J Epidemiol. – 2018. – Vol. 33, N 6. – P. 509–521.

355. TSFM [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/10102 (дата обращения: 19.02.2020).

356. TTN [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7273 (дата обращения: 19.02.2020).

357. Unveiling a sudden unexplained death case by whole exome sequencing and bioinformatic analysis / M. Modena, V. Castiglione, P. Aretini [et al.]. –Text: electronic // Mol Genet Genomic Med. – 2020. – Vol. 8, N 4. – P. e1182. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7196487/ (date of access: 11.08.2021).

358. Usefulness of Single Nucleotide Polymorphisms as Predictors of Sudden Cardiac Death / L. Tamariz, J. Balda, D. Pareja [et al.] // Am J Cardiol. – 2019. – Vol. 123, N 12. – P. 1900–1905.

359. Variants in NKX2-5 and FLNC Cause Dilated Cardiomyopathy and Sudden Cardiac Death / G. Sveinbjornsson, E. F. Olafsdottir, R. B. Thorolfsdottir [et al.]. – Text: electronic // Circ Genom Precis Med. – 2018. – Vol. 11, N 8. – P. e002151. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs201754030?vertical_tab = true (date of access: 11.08.2021).

360. Wilde, A. A. M. European Heart Rhythm Association (EHRA)/Heart Rhythm Society (HRS)/Asia Pacific Heart Rhythm Society (APHRS)/Latin American Heart Rhythm Society (LAHRS) Expert Consensus Statement on the state of genetic testing for cardiac diseases / A. A. M. Wilde, C. Semsarian, M. F. Márquez // Heart Rhythm – 2022. – Vol. 24, N 8. – P. 1307–1367

361. Whole-exome sequencing identifies a novel mutation of GPD1L (R189X) associated with familial conduction disease and sudden death / H. Huang, Y. Q. Chen, L. L. Fan [et al.] // J Cell Mol Med. – 2018. – Vol. 22, N 2. – P. 1350–1354.

362. Whole exome sequencing identified a pathogenic mutation in RYR2 in a Chinese family with unexplained sudden death / Y. Lin, S. He, Z. Liao [et al.] // J Electrocardiol. – 2018. – Vol. 51, N 2. – P. 309–315.

363. Whole-exome sequencing identifies Y1495X of SCN5A to be associated with familial conduction disease and sudden death / Z. P. Tan, L. Xie, Y. Deng [et al.] // Sci Rep. – 2014. – N 4. – P. 5616.

364. Whole-exome sequencing provides insights into monogenic disease prevalence in Northwest Russia / Y. A. Barbitoff, R. K. Skitchenko, O. I. Poleshchuk [et al.] – Text: electronic // Mol Genet Genomic Med. – 2019. – Vol. 7, N 11. – P. e964. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6825859/ (date of access: 11.08.2021).

365. Whole-exome sequencing reveals MYH7 p.R671C mutation in three different phenotypes of familial hypertrophic cardiomyopathy / W. Yu, M. M. Huang, G. H. Zhang [et al.] // Exp Ther Med. – 2021. – Vol. 22, N 3. – P. 1002.

366. Whole genome and transcriptome sequencing of post-mortem cardiac tissues from sudden cardiac death victims identifies a gene regulatory variant in NEXN / J. D. Andersen, S. B. Jacobsen, L. C. Trudsø [et al.] // Int J Legal Med. – 2019. – Vol. 133, N 6. – P. 1699–1709.

367. Wide QRS-T Angle on the 12-Lead ECG as a Predictor of Sudden Death Beyond the LV Ejection Fraction / K. C. Chua, C. Teodorescu, K. Reinier [et al.] // J Cardiovasc Electrophysiol. – 2016. – Vol. 27, N 7. – P. 833–9.

368. Winkel, B.G. How to prevent SCD in the young? / B. G. Winkel, R. Jabbari, J. Tfelt-Hansen // Int J Cardiol. – 2017. – N 237. – P. 6–9.

369. Yamagishi, K. The criteria for metabolic syndrome and the national health screening and education system in Japan / K. Yamagishi, H. Iso. – Text: electronic // Epidemiol Health. – 2017. – N 39. – P. e2017003. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5343105/ (date of access: 11.08.2021).

370. Yu, J. Epigenetics in dilated cardiomyopathy / J. Yu, C. Zeng, Y. Wang // Curr Opin Cardiol. – 2019. – Vol. 34, N 3. – P. 260–269.

371. Zhang, D. Association between resting heart rate and coronary artery disease, stroke, sudden death and noncardiovascular diseases: a meta-analysis / D. Zhang, W. Wang, F. Li. – Text: electronic // CMAJ. – 2016. – Vol. 188, N 15. - P. E384–E392. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5056889/ (date of access: 10.08.2021).

372. Zhang, S. Sudden cardiac death in China: current status and future perspectives / S. Zhang. – Text: electronic // Europace. – 2015. – N 17, Suppl. 2. – P. ii14-8. – URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26842111/ (date of access: 11.08.2021).

373. Zhou, C. CDKN2A methylation in esophageal cancer: a meta-analysis / C. Zhou, J. Li, Q. Li // Oncotarget. - 2017. - Vol. 8, N 30. - P. 50071–50083.

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

Рисунок 1 – Смертность населения от ССЗ по данным ВОЗ, 2014 год (на 100000 населения) 16
Рисунок 2 – Структура причин смертности населения Новосибирской области, 2019 год 17
Таблица 1 – Ассоциированные с развитием внезапной сердечной смерти однонуклеотидные полиморфизмы генетической шкалы риска ИБС 54
Таблица 2 – Однонуклеотидные полиморфизмы повышенного кумулятивного риска внезапной сердечной смерти 65
Таблица 3 – Гены-кандидаты для изучения метилирования при внезапной сердечной смерти 73
Рисунок 3 – Группы, включенные в исследование 82
Таблица 4 – Выбранные для верификации в качестве новых молекулярно-генетических маркеров внезапной сердечной смерти однонуклеотидные полиморфизмы (этап 1) 91
Таблица 5 – Выбранные для верификации у лиц умерших внезапной сердечной смертью мутации (этап 2) 94
Таблица 6 – Выбранные для верификации в качестве новых молекулярно-генетических маркеров внезапной сердечной смерти однонуклеотидные полиморфизмы (этап 4) 96
Таблица 7 – Соответствие в контрольной группе наблюдаемых частот генотипов однонуклеотидных полиморфизмов равновесию Харди-Вайнберга 104
Таблица 8 – Частоты генотипов и аллелей rs34554140 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе 106
Рисунок 4 – Частоты генотипов rs34554140 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе 107
Рисунок 5 – Частоты генотипов rs6670279 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе 109

Таблица 9 – Частоты генотипов и аллелей rs6670279 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе 110
Таблица 10 – Толщина миокарда правого желудочка в зависимости от генотипа rs6670279 111
Рисунок 6 – Частоты генотипов rs12904699 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе 113
Таблица 11 – Частоты генотипов и аллелей rs12904699 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе 114
Рисунок 7 – Частоты генотипов rs12904699 в группе женщин 115
Таблица 12 – Толщина миокарда правого желудочка в группе внезапной сердечной смерти в зависимости от генотипа rs12904699..... 116
Рисунок 8 – Частоты генотипов rs6762529 у лиц старше 50 лет..... 116
Таблица 13 – Частоты генотипов и аллелей rs6762529 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе 117
Таблица 14 – Индекс атерогенности в контрольной группе в зависимости от генотипа rs6762529..... 118
Рисунок 9 – Частоты генотипов rs12170546 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе 120
Таблица 15 – Частоты генотипов и аллелей rs12170546 гена *PARVB* в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе..... 121
Рисунок 10 – Частоты генотипов rs16994849 в группе младше 50 лет 123
Рисунок 11 – Частоты генотипов rs16994849 в группе мужчин старше 50 лет.... 123
Таблица 16 – Частоты генотипов и аллелей rs16994849 гена *PLCB1* в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе..... 124
Рисунок 12 – Частоты генотипов rs6582147 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе 126
Таблица 17 – Частоты генотипов и аллелей rs6582147 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе 127
Таблица 18 – Толщина межжелудочковой перегородки в группе внезапной сердечной смерти в зависимости от генотипа rs6582147..... 128

Таблица 19 – Частоты генотипов и аллелей rs2136810 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе 129
Рисунок 13 – Частоты генотипов rs2136810 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе 130
Рисунок 14 – Частоты генотипов rs2136810 в группе старше 50 лет 130
Таблица 20 – Индекс массы тела в контрольной группе в зависимости от генотипа rs2136810 131
Таблица 21 – Частоты генотипов и аллелей rs10010305 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе 132
Рисунок 15 – Частоты генотипов rs10010305 в группе мужчин 133
Таблица 22 – Частоты генотипов и аллелей rs17797829 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе 134
Рисунок 16 – Частоты генотипов rs17797829 в группе женщин 135
Рисунок 17 – Частоты генотипов rs17797829 в группе женщин старше 50 лет ... 135
Таблица 23 – Частоты генотипов и аллелей rs35089892 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе 137
Рисунок 18 – Частоты генотипов rs35089892 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе 137
Таблица 24 – Частоты генотипов и аллелей rs61999948 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе 140
Рисунок 19 – Частоты генотипов rs61999948 в группе лиц младше 50 лет 141
Таблица 25 – Частоты генотипов и аллелей rs6874185, rs10867772, rs4700290, rs75555045, rs7164665, rs71461059, rs62116755, rs78143315, rs13246896, rs7172856 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе 143
Таблица 26 – Анализ комбинации рисковых генотипов полиморфизмов друг с другом 151
Рисунок 20 – Гель-электрофорез продуктов амплификации 154
Рисунок 21 – Сиквенс образца с неизмененным генотипом 155
Рисунок 22 – Сиквенс гетерозиготного образца 155

Таблица 27 – Варианты, вероятно ассоциированные с внезапной сердечной смертью 164
Рисунок 23 – Сиквенс образца №557 (c.326A>T, ген *TGFB3)*..... 166
Рисунок 24 – Сиквенс образца №3015 (rs201754030, c.919C>T, ген *TSFM)*..... 174
Рисунок 25 – Сиквенс образца № 3019 (rs121912998, c.88G>A, ген *DSP*) 176
Рисунок 26 – Сиквенс образца № 3024 (rs200181804, c.75340 T>C, ген *TTN*) 178
Рисунок 27 – Сиквенс образца № 3024 (rs72648237, c.84463 G>A, ген *TTN*)..... 178
Рисунок 28 – Сиквенс образца № 3026 (rs150821281, c.419 C>T, ген *PKP2*)..... 179
Рисунок 29 – Сиквенс образца № 3028 (rs143512106, c.2653 C>T, ген *KCNH2*).. 182
Рисунок 30 – Сиквенс образца № 3029 (rs61757671, c.6070 G>A, ген *AKAP9*).... 183
Таблица 28 – Частоты генотипов и аллелей rs34643859 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе 186
Рисунок 31 – Частоты генотипов rs34643859 в группе женщин младше 50 лет .. 187
Таблица 29 – Толщина миокарда правого желудочка в группе внезапной сердечной смерти в зависимости от генотипа rs34643859..... 187
Таблица 30 – Частота сердечных сокращений в зависимости от генотипа rs34643859 в группе контроля..... 188
Таблица 31 – Частоты генотипов и аллелей rs12804550, rs4514993, rs1008832, rs4027402, rs2340917, rs58225473 в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе 192
Таблица 32 – Частоты редкого аллеля полиморфизмов, полученные по результатам экзомного секвенирования и по данным gnomAD..... 194
Рисунок 32 – Статус метилирования промотора гена *ABCA1* в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе 195
Рисунок 33 – Статус метилирования промотора гена *HMGCR* в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе 197
Рисунок 34 – Статус метилирования гена *F2RL3* в группе внезапной сердечной смерти и контрольной группе 201

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Таблица А.1 – Последовательность праймеров для ПЦР исследованных однонуклеотидных полиморфизмов и мутаций генов

№	ОНП	Последовательность праймеров (F;R)
1	rs34554140	5’-CTGGAAGCAGCTAGACAGC-3’; 5’-GGTCAGGGAGACACACTCG-3’
2	rs6670279	5’-GACACCTGGATGAGCTGCACAGC-3’; 5’-CCCGGCCAAATTTGTGTTG-3’
3	rs6874185	5’-AGCAGCTCTTAGCTGTGACT-3’; 5’-ATCTCAGAGCCCTCAAAGC-3’
4	rs10867772	5’-AAAGAACTTTCAGTTATGCTTACCC-3’; 5’-AGGGCTGAATTATAGTAAAATTTCG-3’
5	rs4700290	5’-AAGTATAGGGTGCAGCGAA-3’; 5’-GAGGTATCTTGTTTTCTCAAGCG-3’
6	rs75555045	5’-TGTGTAAATATTCTGCTGCG-3’; 5’-GGGAAACTCTTGCTTAGAA-3’
7	rs12904699	5’-TTCCTTCCCTCCTTCCGCAA-3’; 5’-CTGGGATTACAGGCGTGAGGAA-3’
8	rs7164665	5’-TGTCTGGCCAGAAAGCTGTACA-3’; 5’-ATCCGCCCCAACAAGGATC-3’
9	rs71461059	5’-CACCAGATGCAGCAGCAATT-3’; 5’-GTTAAACTTTCCCAAAGTCACAGCG-3’
10	rs6762529	5’- GTTCACAGGATGGATAAGAAAAGGC-3’; 5’-CGCTACATGCCCCAATTAAA-3’
11	rs62116755	5’-GGAGTGACACTGGAACATCAGT-3’; 5’-CAGGAAAAGTTGCTGAGTTGTACTA-3’
12	rs12170546	5’-GGTGCCTGGCAAACAGA-3’; 5’-TTCCACTTCCCAGGAGAC-3’
13	rs16994849	5’-ACTGATAATTTTAGTGAATAAAGTGTCG-3’; 5’-AAGAAAAAGATCAGAGTTATCCTAAAA-3’
14	rs78143315	5’-CCTGGGGAATGGAGGTTGGGGATCTTAACAATCATG-3’; 5’-TGAGCCCCAATTAACTCCACAGAAGCG-3’

Продолжение таблицы А.1

№	ОНП	Последовательность праймеров (F;R)
15	rs6582147	5’-ATCCTAATAACCTTGGAATC-3’; 5’-TGGCCTGAATTCTTATAAA-3’
16	rs10010305	5’-ATTGTGTGTAATGTAGAGTA-3’; 5’-ATTCCCATCAACAGA-3’
17	rs2136810	5’-CACAAGTTTCCTTAAAATCG-3’; 5’-CTTTCTTCTTCCTTCTCTCT-3’
18	rs17797829	5’-CCCGCTTCAGAGGGAGTGTAAACT-3’; 5’-TGGGAGGCCCAAGCTCTGAAT-3’
19	rs13246896	5’-TAGGTTTCCTGCTGAAGAGCA-3’; 5’-TCTAGCTCTCTTTCATCCTTTACTG-3’
20	rs35089892	5’-CCTCTGGGTGCTGTCCACTT-3’; 5’-AGGCACAGAGAGGAGCTCAA-3’
21	rs7172856	5’-AAGAGGTGGGCTGTGATGG-3’; 5’-GACTCATTTGGAGACAGGGC-3’
22	rs61999948	5’-AGTTTTTTGTTTAATGGGAGGC-3’; 5’-GGGGGTAAAAATCACAAACTTT-3’
23	D4301N (*TTN*)	5’-GAGAATAAACTGGTGCCTTCA-3’; 5’-CAGACATACTCTCCTTGATGGTCT-3’
24	I22160T (*TTN*)	5’-CTCACTGGAATTACCAATCAGCGTA-3’; 5’-GCTGTCCTTTACAGTCAGTGTGG-3’
25	R249Q (*MYH7*)	5’-TTGGGACTTGGACTGGTGG-3’; 5’-GCAGATGCCAACTTTCCTGT-3’
26	A1744S (*MYH7*)	5’-GCAAGCAAGGCTTGAGAGCTATGC-3’; 5’-TCCGTGATGGCCTTCTTGG-3’
27	A189T (*JPH2*)	5’-ACAGCAACGGCACGGTGGCC-3’; 5’-CCTCGGCATTGGCCAGGAGGCT-3’
28	H4552R (*RYR2*)	5’-AAAGGCTGTATTTCTTTTGTCTTTTGC-3’; 5’-TACATAGTGAACTGCGATGATTCCA-3’
29	Y1495X (*SCN5A*)	5’-CATCAAGAAGGCAAGATC-3’; 5’-CCCAGCTTCTTCATGGAATA-3’

Продолжение таблицы А.1

№	ОНП	Последовательность праймеров (F;R)
30	S434Y (*VCL*)	5’-AGAAAGAGATGACATTCTACGGT-3’; 5’-GGGAATTGAAATATGTATGTTCTTG-3’
31	T171M (*CACNA1C*)	5’-TCTCTTTCTCATAATTTGTA-3’; 5’-TATAAAATCTAGTAGGTTCCAG-3’
32	9928_9929insE (*TTN*)	5’-TGAAGAGGAAGTTGTAACCCATG-3’; 5’-GGCACCACTTCTTCCTCAGTTAT-3’
33	rs34643859	5’-CCGCACGCCACCCACGTTC-3’; 5’-CCAGGAAGGGAAGCCCGGGT-3’
34	rs12804550	5’-AGAGCAAGTGGCTGGCGTT-3’; 5’-ACCACCCTCTCATCTACCCG-3’
35	rs4514993	5’-TTCATGGTGATGGTGAGGAT-3’; 5’-CATTGGAACAAAGTAGTTCG-3’
36	rs1008832	5’-GTCCCCTTCGGTCACAGGAGTT-3’; 5’-GGCAGCAGGTGTGAGCGAAT-3’
37	rs4027402	5’-TTGTCTGTGGCTTTATTTTTAGGATTCTGTG-3’; 5’-GCAGTTTCTGCAATTTTTCCTCAAGC-3’
38	rs2340917	5’-GTGCCATGGCAGTGGAGTCATGTA-3’; 5’-TTCTGGCACGAGCTCCTCTGGAGAG-3’
39	rs58225473	5’-ACCACAACGAGTGCAACA-3’; 5’-ACTCATTGGCGGATGTGAAT-3’
Примечание. F – прямой праймер, R – обратный праймер		

Таблица А.2 – Условия ПЦР исследованных однонуклеотидных полиморфизмов и мутаций генов

№	ОНП	Смесь для ПЦР (номер смеси в таблице А.3 в приложении А)	Условия ПЦР	Длина продукта (п.н.)	Рестриктаза	Генотип - длины продуктов после рестрикции (п.н.)
1	rs34554140	1	33 цикла: 95^0C 30 с, 58^0C 30 с, 72^0C 30 с	195	TaqI	AA - 195, AT - 195, 176, 19, TT - 19, 176
2	rs6670279	2	35 циклов: 95^0C 30 с, 62^0C 30 с, 72^0C 30 с	158	PvuII	AA - 158, AT - 158, 136, 22, TT - 136, 22
3	rs6874185	3	35 циклов: 95^0C 30 с, 56^0C 30 с, 72^0C 30 с	237	HinfI	TT - 237, CT - 237, 220, 17, CC - 220, 17
4	rs10867772	4	33 цикла: 95^0C 30 с, 52^0C 30 с, 72^0C 40 с	233	TaqI	AA - 233, TA - 233, 210, 23, TT - 210, 23
5	rs4700290	5	33 цикла: 95^0C 30 с, 48^0C 30 с, 72^0C 40 с	212	AspLEI	AA - 212, GG - 191, 21, AG - 212, 191, 21
6	rs75555045	6	35 циклов: 95^0C 30 с, 50^0C 30 с, 72^0C 30 с	167	AspLEI	TT - 167, CC - 147, 20, CT - 167, 147, 20

Продолжение таблицы А.2

№	ОНП	Смесь для ПЦР (номер смеси в таблице А.3 в приложении А)	Условия ПЦР	Длина продукта (п.н.)	Рестриктаза	Генотип - длины продуктов после рестрикции (п.н.)
7	rs12904699	7	35 циклов: 95^0C 30 с, 56^0C 30 с, 72^0C 30 с	153	HinfI	GG - 153, AA - 133, 20, AG - 153, 133, 20
8	rs7164665	3	35 циклов: 95^0C 30 с, 58^0C 30 с, 72^0C 30 с	103	TaqI	TT - 103, CC - 85, 18, CT - 103, 85, 18
9	rs71461059	8	35 циклов: 95^0C 30 с, 48^0C 30 с, 72^0C 30 с	129	AspLEI	AA - 129, GG - 104, 25, GA - 129, 104, 25
10	rs6762529	8	35 циклов: 95^0C 30 с, 58^0C 30 с, 72^0C 30 с	258	HaeIII	TT - 258, CC - 234, 24, CT - 258, 234, 24
11	rs62116755	9	35 циклов: 95^0C 30 с, 56^0C 30 с, 72^0C 30 с	167	HaeIII	TT - 167, CC - 89, 78, CT - 167, 89, 78
12	rs12170546	10	33 цикла: 95^0C 30 с, 58^0C 30 с, 72^0C 30 с	115	BamHI	TT - 115, CC - 79, 36, TC - 115, 79, 36

Продолжение таблицы А.2

№	ОНП	Смесь для ПЦР (номер смеси в таблице А.3 в приложении А)	Условия ПЦР	Длина продукта (п.н.)	Рестриктаза	Генотип - длины продуктов после рестрикции (п.н.)
13	rs16994849	3	33 цикла: 95^0C 30 с, 58^0C 30 с, 72^0C 30 с	189	TaqI	GG - 189, AA - 162, 27, AG - 189, 162, 27
14	rs78143315	11	33 цикла: 95^0C 30 с, 60^0C 30 с, 72^0C 30 с	216	AspLEI	AA - 216, GG - 192, 24, GA- 216, 192, 24
15	rs6582147	3	33 цикла: 95^0C 30 с, 46^0C 30 с, 72^0C 30 с	97	TaqI	TT - 97, GG - 78, 19, TG - 97, 78, 19
16	rs10010305	12	35 циклов: 95^0C 30 с, 58^0C 30 с, 72^0C 30 с	93	RsaI	TT - 93, CC - 74, 19, TC - 93, 74, 19
17	rs2136810	13	35 циклов: 95^0C 30 с, 50^0C 30 с, 72^0C 20 с	96	TaqI	GG - 96, AA - 78, 18, AG - 96, 78, 18
18	rs17797829	8	33 цикла: 95^0C 30 с, 48^0C 30 с, 72^0C 30 с	135	HinfI	AA - 135, GG - 117, 18, GA - 135, 117, 18

Продолжение таблицы А.2

№	ОНП	Смесь для ПЦР (номер смеси в таблице А.3 в приложении А)	Условия ПЦР	Длина продукта (п.н.)	Рестриктаза	Генотип - длины продуктов после рестрикции (п.н.)
19	rs13246896	12	35 циклов: 95^0C 30 с, 59^0C 30 с, 72^0C 30 с	109	EcoRV	TT - 23, 86, AA - 109, AT - 109, 86, 23
20	rs35089892	10	33 цикла: 95^0C 30 с, 56^0C 30 с, 72^0C 30 с	114	AspLEI	TT - 114, CC - 57, 89, CT - 146, 89, 57
21	rs7172856	3	33 цикла: 95^0C 30 с, 62^0C 30 с, 72^0C 30 с	116	HaeIII	AA - 116, GG - 98, 18, GA - 116, 98, 18
22	rs61999948	1	35 циклов: 95^0C 30 с, 54^0C 30 с, 72^0C 30 с	202	HaeIII	TT - 202, CC - 181, 21, CT - 202, 181, 21
23	D4301N (*TTN*)	10	33 цикла: 95^0C 30 с, 58^0C 30 с, 72^0C 30 с	114	TaqI	GG – 71, 39, AA - 114, AG - 114, 71, 39
24	I22160T (*TTN*)	18	33 цикла: 95^0C 30 с, 60^0C 30 с, 72^0C 30 с	186	RsaI	TT – 124, 62, CC – 124, 38, 22 TC – 124, 62, 38, 22

Продолжение таблицы А.2

№	ОНП	Смесь для ПЦР (номер смеси в таблице А.3 в приложении А)	Условия ПЦР	Длина продукта (п.н.)	Рестриктаза	Генотип - длины продуктов после рестрикции (п.н.)
25	R249Q (*MYH7*)	1	33 цикла: 95^0C 30 с, 58^0C 30 с, 72^0C 30 с	130	TaqI	AA - 130, GG - 92, 36, 2 GA - 130, 92, 36, 2
26	A1744S (*MYH7*)	9	33 цикла: 95^0C 30 с, 62^0C 30 с, 72^0C 30 с	198	HinfI	TT – 147, 51, GG - 198, GT – 198, 147, 51
27	A189T (*JPH2*)	19	33 цикла: 95^0C 30 с, 56^0C 30 с, 72^0C 30 с		AspleI	AA - 95, 25, GG - 59, 36, 25 GA - 95, 59, 36, 25
28	H4552R (*RYR2*)	8	35 циклов: 95^0C 30 с, 58^0C 30 с, 72^0C 30 с	200	BssT1 I	GG – 200, AA - 177, 23 AG – 200, 177, 23
29	Y1495X (*SCN5A*)	20	35 циклов: 95^0C 30 с, 64^0C 30 с, 72^0C 30 с	150	SspI	AA - 131, 19, CA – 150, 131, 19, CC - 150
30	S434Y (*VCL*)	21	35 циклов: 95^0C 30 с, 60^0C 30 с, 72^0C 30 с	186	Rsa I	AA - 163, 23, CA – 186, 163, 23, CC - 186

Продолжение таблицы А.2

№	ОНП	Смесь для ПЦР (номер смеси в таблице А.3 в приложении А)	Условия ПЦР	Длина продукта (п.н.)	Рестриктаза	Генотип - длины продуктов после рестрикции (п.н.)
31	T171M (*CACNA1C*)	22	35 циклов: 95^0C 30 с, 50^0C 30 с, 72^0C 30 с	112	Rsa I	TT - 112, CC - 93, 19, CT - 112, 93, 19
32	9928_9929insE (*TTN*)	23	30 циклов: 95^0C 30 с, 62^0C 30 с, 72^0C 30 с	102	-	-
33	rs34643859	14	33 цикла: 95^0C 30 с, 62^0C 30 с, 72^0C 30 с	155	RsaI	CC - 155, TT - 136, 19, TC - 155, 136, 19
34	rs12804550	6	35 циклов: 95^0C 30 с, 62^0C 30 с, 72^0C 30 с	208	RsaI	GG - 208, AA - 187, 21, GA - 208, 187, 21
35	rs4514993	15	35 циклов: 95^0C 30 с, 54^0C 30 с, 72^0C 30 с	208	TaqI	AA - 208, TT - 190, 18, AT - 208, 190, 18

Продолжение таблицы А.2

№	ОНП	Смесь для ПЦР (номер смеси в таблице А.3 в приложении А)	Условия ПЦР	Длина продукта (п.н.)	Рестриктаза	Генотип - длины продуктов после рестрикции (п.н.)
36	rs1008832	16	35 циклов: 95^0C 30 с, 56^0C 30 с, 72^0C 30 с	130	HinfI	AA - 130, GG - 110, 20, AG - 130, 110, 20
37	rs4027402	6	35 циклов: 95^0C 30 с, 46^0C 30 с, 72^0C 30 с	185	AspleI	TT - 185, CC - 158, 27, CT - 185, 158, 27
38	rs2340917	15	35 циклов: 95^0C 30 с, 60^0C 30 с, 72^0C 30 с	110	RsaI	TT - 110, CC - 87, 23, TC - 110, 87, 23
39	rs58225473	17	35 циклов: 95^0C 30 с, 58^0C 30 с, 72^0C 30 с	136	HinfI	TT - 136, GG - 119, 17, TG - 136, 119, 17

Таблица А.3 – Смеси для ПЦР

Номер смеси	Состав (общий объем 25 мкл)
1	Трис-HCI (pH 9,0) 75 мМ, $(NH_4)_2SO_4$ 20мМ, Tween-20 0,01 %, 2,5 мМ $MgCl_2$, по 0,8 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единица активности Taq-ДНК-полимеразы ("СибЭнзим", Новосибирск)
2	Трис-HCI (pH 9,0) 75 мМ, $(NH_4)_2SO_4$ 20мМ, Tween-20 0,01 %, 3,0 мМ $MgCl_2$, по 0,9 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единица активности Taq-ДНК-полимеразы ("СибЭнзим", Новосибирск)
3	Трис-HCI (pH 9,0) 75 мМ, $(NH_4)_2SO_4$ 20мМ, Tween-20 0,01 %, 3,0 мМ $MgCl_2$, по 0,8 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единица активности SynTaq ДНК-полимеразы с ингибирующими активность фермента антителами ("Синтол", Москва)
4	Трис-HCI (pH 9,0) 75 мМ, $(NH_4)_2SO_4$ 20мМ, Tween-20 0,01 %, 4,0 мМ $MgCl_2$, по 0,8 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единица активности Taq-ДНК-полимеразы ("СибЭнзим", Новосибирск)
5	12,5 мкл реакционной смеси БиоМастер LR HS-ПЦР-Color (2×) (ООО "БИОЛАБМИКС", Новосибирск), по 0,4 мМ каждого праймера, 2 мкг ДНК
6	12,5 мкл реакционной смеси БиоМастер LR HS-ПЦР-Color (2×) (ООО "БИОЛАБМИКС", Новосибирск), 1,0 мМ MgCl2, по 0,8 мМ каждого праймера, 2 мкг ДНК
7	12,5 мкл реакционной смеси БиоМастер LR HS-ПЦР-Color (2×) (ООО "БИОЛАБМИКС", Новосибирск), по 0,2 мМ каждого праймера, 2 мкг ДНК
8	Трис-HCI (pH 9,0) 75 мМ, $(NH_4)_2SO_4$ 20мМ, Tween-20 0,01 %, 3,5 мМ $MgCl_2$, по 0,8 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единица активности Taq-ДНК-полимеразы ("СибЭнзим", Новосибирск)
9	Трис-HCI (pH 9,0) 75 мМ, $(NH_4)2SO_4$ 20мМ, Tween-20 0,01 %, 2,5 мМ $MgCl_2$, по 0,3 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единица активности Taq-ДНК-полимеразы ("СибЭнзим", Новосибирск)
10	Трис-HCI (pH 9,0) 75 мМ, $(NH_4)2SO_4$ 20мМ, Tween-20 0,01 %, 2,5 мМ $MgCl_2$, по 0,4 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единица активности Taq-ДНК-полимеразы ("СибЭнзим", Новосибирск)
11	10 мкл 2,5 кратной смеси для ПЦР-РВ №М-428 (ЗАО «Синтол», Москва), 3,5 мМ $MgCl_2$, по 0,6 мМ каждого праймера

Продолжение таблицы А.3

Номер смеси	Состав (общий объем 25 мкл)
12	10 мкл 2,5 кратной смеси для ПЦР-РВ №М-428 (ЗАО «Синтол», Москва), 3,0 мМ $MgCl_2$, по 0,8 мМ каждого праймера
13	10 мкл БиоМастер HS-Taq ПЦР-Color (2×) (ООО БИОЛАБМИКС, Новосибирск), 1,0 мМ $MgCl_2$, по 0,6 мМ каждого праймера
14	12,5 мкл реакционной смеси БиоМастер LR HS-ПЦР-Color (2×) (ООО "БИОЛАБМИКС", Новосибирск), по 0,6 мМ каждого праймера, 2 мкг ДНК
15	12,5 мкл реакционной смеси БиоМастер HS-Taq ПЦР-Color (2×) (ООО "БИОЛАБМИКС", Новосибирск), по 0,8 мМ каждого праймера, 2 мкг ДНК
16	Трис-HCI (pH 9,0) 75 мМ, $(NH_4)_2SO_4$ 20мМ, Tween-20 0,01 %, 3,5 мМ $MgCl_2$, по 1,2 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единица активности Hot Start Taq ДНК полимеразы
17	10 мкл 2,5 кратной смеси для ПЦР-РВ №М-428 (ЗАО «Синтол», Москва), 2,5 мМ MgCl2, по 0,8 мМ каждого праймера
18	Трис-HCI (pH 9,0) 75 мМ, $(NH_4)_2SO_4$ 20мМ, Tween-20 0,01 %, 3,0 мМ $MgCl_2$, по 0,3 мМ каждого праймера, 0,3 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единица активности Taq-ДНК-полимеразы («СибЭнзим», Новосибирск)
19	Трис-HCI (pH 9,0) 75 мМ, $(NH_4)_2SO_4$ 20мМ, Tween-20 0,01 %, 1,5 мМ $MgCl_2$, по 0,4 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единица активности Taq-ДНК-полимеразы («СибЭнзим», Новосибирск)
20	10 мкл 2,5 кратной смеси для ПЦР-РВ №М-428 (ЗАО «Синтол», Москва), 2,5 мМ MgCl2, по 0,6 мМ каждого праймера
21	Трис-HCI (pH 9,0) 75 мМ, $(NH_4)_2SO_4$ 20мМ, Tween-20 0,01 %, 3,0 мМ $MgCl_2$, по 0,6 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единица активности Taq-ДНК-полимеразы («СибЭнзим», Новосибирск)
22	Трис-HCI (pH 9,0) 75 мМ, $(NH_4)_2SO_4$ 20мМ, Tween-20 0,01 %, 4,0 мМ $MgCl_2$, по 1,2 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единица активности Taq-ДНК-полимеразы («СибЭнзим», Новосибирск)
23	Трис-HCI (pH 9,0) 75 мМ, $(NH_4)_2SO_4$ 20мМ, Tween-20 0,01 %, 2,5 мМ $MgCl_2$, по 0,6 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единица активности Taq-ДНК-полимеразы («СибЭнзим», Новосибирск)

Таблица А.4 – Проанализированные гены (экзомное секвенирование, этап 3)

№	Ген (символ)	Ген (официальное полное имя), локализация (номер хромосомы)	Illumina	Нозология, с которой ассоциирован ген
1	*ABCA1*	ATP binding cassette subfamily A member 1, 9q31.1		Болезнь Танжера (анальфалипопротеинемия) [25]
2	*ABCC9*	ATP binding cassette subfamily C member 9, 12p12.1	+	синдром Бругада, ДКМП [GR], ГКМП [360]
3	*ABCG5*	ATP binding cassette subfamily G member 5, 2p21	+	ситостеролемия [GR]
4	*ABCG8*	ATP binding cassette subfamily G member 8, 2p21	+	ситостеролемия [GR]
5	*ACTA1*	actin alpha 1, skeletal muscle, 1q42.13	+	
6	*ACTA2*	actin alpha 2, smooth muscle, 10q23.31	+	
7	*ACTC1*	actin alpha cardiac muscle 1, 15q14	+	ДКМП, ГКМП [GR, 360]
8	*ACTN2*	actinin alpha 2, 1q43	+	ДКМП, ГКМП [GR, 360]
9	*AKAP9*	A-kinase anchoring protein 9, 7q21.2	+	LQTS [GR]
10	*ALMS1*	ALMS1 centrosome and basal body associated protein, 2p13.1	+	
11	*ALPK3*	alpha kinase 3, 15q25.3	+	ГКМП [GR]
12	*ANK2*	ankyrin 2, 4q25-q26	+	LQTS [GR]
13	*ANKRD1*	ankyrin repeat domain 1, 10q23.31	+	ДКМП, ГКМП [GR]

Продолжение таблицы А.4

№	Ген (символ)	Ген (официальное полное имя), локализация (номер хромосомы)	Illumina	Нозология, с которой ассоциирован ген
14	*APOA4*	apolipoprotein A4, 11q23.3	+	
15	*APOA5*	apolipoprotein A5, 11q23.3		синдром наследственной хиломикронемии [25]
16	*APOB*	apolipoprotein B, 2p24.1	+	СГХС [GR, 25]
17	*APOC2*	apolipoprotein C2, 19q13.32	+	синдром наследственной хиломикронемии [25]
18	*APOC3*	apolipoprotein C3, 11q23.3		гипертриглицеридемия [25]
19	*APOE*	apolipoprotein E, 19q13.32	+	семейная дисбеталипопротеинемия [25]
20	*BAG3*	BAG cochaperone 3, 10q26.11	+	ДКМП [GR, 360], ГКМП [360]
21	*BRAF*	B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase, 7q34	+	
22	*CACNA1C*	calcium voltage-gated channel subunit alpha1 C, 12p13.33	+	LQTS [GR, 360], синдром Бругада [GR], ГКМП [360]
23	*CACNA1D*	calcium voltage-gated channel subunit alpha1 D, 3p21.1		СССУ [360]
24	*CACNA2D1*	calcium voltage-gated channel auxiliary subunit alpha2delta 1, 7q21.11	+	синдром Бругада [GR]
25	*CACNB2*	calcium voltage-gated channel auxiliary subunit beta 2, 10p12.33-p12.31	+	синдром Бругада [GR]
26	*CALM1*	calmodulin 1, 14q32.11	+	LQTS, CPVT [GR, 360]
27	*CALM2*	calmodulin 2, 2p21		LQTS [GR, 360],CPVT [360]
28	*CALM3*	calmodulin 3, 19q13.32		LQTS, CPVT [360]

Продолжение таблицы А.4

№	Ген (символ)	Ген (официальное полное имя), локализация (номер хромосомы)	Illumina	Нозология, с которой ассоциирован ген
29	*CALR3*	calreticulin 3, 19p13.11	+	ГКМП [GR]
30	*CASQ2*	calsequestrin 2, 1p13.1	+	CPVT [GR, 360]
31	*CAV3*	caveolin 3, 3p25.3	+	LQTS [GR], ГКМП [360]
32	*CBL*	Cbl proto-oncogene, 11q23.3	+	
33	*CBS*	cystathionine beta-synthase, 21q22.3	+	
34	*CETP*	cholesteryl ester transfer protein, 16q13	+	
35	*COL3A1*	collagen type III alpha 1 chain, 2q32.2	+	
36	*COL5A1*	collagen type V alpha 1 chain, 9q34.3	+	
37	*COL5A2*	collagen type V alpha 2 chain, 2q32.2	+	
38	*COX15*	cytochrome c oxidase assembly homolog COX15, 10q24.2	+	ГКМП [360]
39	*CRYAB*	crystallin alpha B, 11q23.1	+	ГКМП [360]
40	*CREB3L3*	cAMP responsive element binding protein 3 like 3, 19p13.3	+	
41	*CRELD1*	cysteine rich with EGF like domains 1, 3p25.3	+	
42	*CSRP3*	cysteine and glycine rich protein 3, 11p15.1	+	ДКМП [GR], ГКМП [GR, 360]
43	*CTNNA3*	catenin alpha 3, 10q21.3		ARVC [GR]
44	*CTF1*	cardiotrophin 1, 16p11.2	+	ДКМП [GR]
45	*DES*	desmin, 2q35	+	ARVC, ДКМП [GR, 360], ГКМП, нарушения проводимости [360]

Продолжение таблицы А.4

№	Ген (символ)	Ген (официальное полное имя), локализация (номер хромосомы)	Illumina	Нозология, с которой ассоциирован ген
46	*DMD*	dystrophin, Xp21.2-p21.1	+	Мышечная дистрофия Дюшенна/Беккера (ДКМП) [GR], нарушения проводимости [360]
47	*DMPK*	DM1 protein kinase, 19q13.32		нарушения проводимости [360]
48	*DNAJC19*	DnaJ heat shock protein family (Hsp40) member C19, 3q26.33	+	
49	*DOLK*	dolichol kinase, 9q34.11	+	
50	*DPP6*	dipeptidyl peptidase like 6, 7q36.2	+	
51	*DSC2*	desmocollin 2, 18q12.1	+	ARVC [GR, 360]
52	*DSG2*	desmoglein 2, 18q12.1	+	ARVC [GR, 360], ДКМП [GR]
53	*DSP*	desmoplakin, 6p24.3	+	ARVC, ДКМП [GR, 360], синдрома Карвахаль (ДКМП) [GR]
54	*DTNA*	dystrobrevin alpha, 18q12.1	+	ДКМП [GR]
55	*EFEMP2*	EGF containing fibulin extracellular matrix protein 2, 11q13.1	+	
56	*ELN*	elastin, 7q11.23	+	
57	*EMD*	emerin, Xq28	+	Мышечная дистрофия Эмери–Дрейфуса (ДКМП) [GR], нарушения проводимости, СССУ [360]

Продолжение таблицы А.4

№	Ген (символ)	Ген (официальное полное имя), локализация (номер хромосомы)	Illumina	Нозология, с которой ассоциирован ген
58	*EYA4*	EYA transcriptional coactivator and phosphatase 4, 6q23.2	+	ДКМП [GR]
59	*FBN1*	fibrillin 1, 15q21.1	+	
60	*FBN2*	fibrillin 2, 5q23.3	+	
61	*FHL1*	four and a half LIM domains 1, Xq26.3	+	ГКМП [360]
62	*FHL2*	four and a half LIM domains 2, 2q12.2	+	
63	*FKRP*	fukutin related protein, 19q13.32	+	
64	*FGF12*	fibroblast growth factor 12, 3q28-q29		синдром Бругада [GR]
65	*FHOD3*	formin homology 2 domain containing 3, 18q12.2		ГКМП [360]
66	*FKTN*	fukutin, 9q31.2	+	
67	*FLNC*	filamin C, 7q32.1		ДКМП [GR] ARVC, ГКМП, ДКМП [360]
68	*FXN*	frataxin, 9q21.11	+	Атаксия Фрейдриха (ГКМП) [GR]
69	*GAA*	alpha glucosidase, 17q25.3	+	ДКМП [360]
70	*GATAD1*	GATA zinc finger domain containing 1, 7q21.2	+	ДКМП [GR]
71	*GCKR*	glucokinase regulator, 2p23.3	+	
72	*GJA5*	gap junction protein alpha 5, 1q21.2	+	ФП [360]
73	*GJC1*	gap junction protein gamma 1, 17q21.31		ФП, нарушения проводимости [360]

Продолжение таблицы А.4

№	Ген (символ)	Ген (официальное полное имя), локализация (номер хромосомы)	Illumina	Нозология, с которой ассоциирован ген
74	*GLA*	galactosidase alpha, Xq22.1	+	Синдром Фабри (ГКМП) [GR], нарушения проводимости, ГКМП [360]
75	*GNB2*	G protein subunit beta 2, 7q22.1		СССУ [360]
76	*GNB5*	G protein subunit beta 5, 15q21.2		СССУ [360]
77	*GPD1*	glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1, 12q13.12		гипертриглицеридемия [25]
78	*GPD1L*	glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1 like, 3p22.3	+	синдром Бругада [GR]
79	*GPIHBP1*	glycosylphosphatidylinositol anchored high density lipoprotein binding protein 1, 8q24.3	+	синдром наследственной хиломикронемии [25]
80	*HADHA*	hydroxyacyl-CoA dehydrogenase trifunctional multienzyme complex subunit alpha, 2p23.3	+	
81	*HCN4*	hyperpolarization activated cyclic nucleotide gated potassium channel 4, 15q24.1	+	синдром Бругада [GR], СССУ [360]
82	*HFE*	homeostatic iron regulator, 6p22.2	+	
83	*HRAS*	HRas proto-oncogene, GTPase, 11p15.5	+	
84	*HSPB8*	heat shock protein family B (small) member 8, 12q24.23	+	
85	*ILK*	integrin linked kinase, 11p15.4	+	ДКМП [GR]

Продолжение таблицы А.4

№	Ген (символ)	Ген (официальное полное имя), локализация (номер хромосомы)	Illumina	Нозология, с которой ассоциирован ген
86	*JAG1*	jagged canonical Notch ligand 1, 20p12.2	+	
87	*JPH2*	junctophilin 2, 20q13.12	+	ДКМП, ГКМП [GR, 360]
88	*JUP*	junction plakoglobin, 17q21.2	+	ARVC [GR, 360]
89	*KCNA5*	potassium voltage-gated channel subfamily A member 5, 12p13.32	+	ФП [360]
90	*KCND3*	potassium voltage-gated channel subfamily D member 3, 1p13.2	+	синдром Бругада [GR]
91	*KCNE1*	potassium voltage-gated channel subfamily E regulatory subunit 1, 21q22.12	+	LQTS [GR, 360]
92	*KCNE2*	potassium voltage-gated channel subfamily E regulatory subunit 2, 21q22.11	+	LQTS [GR, 360]
93	*KCNE3*	potassium voltage-gated channel subfamily E regulatory subunit 3, 11q13.4	+	синдром Бругада [GR]
94	*KCNE5*	potassium voltage-gated channel subfamily E regulatory subunit 5, Xq23		синдром Бругада [GR]

Продолжение таблицы А.4

№	Ген (символ)	Ген (официальное полное имя), локализация (номер хромосомы)	Illumina	Нозология, с которой ассоциирован ген
95	*KCNH2*	potassium voltage-gated channel subfamily H member 2, 7q36.1	+	LQTS [GR, 360], синдром Бругада [GR], SQTS, ФП [360]
96	*KCNJ2*	potassium inwardly rectifying channel subfamily J member 2, 17q24.3	+	LQTS [GR, 360], SQTS, CPVT [360]
97	*KCNJ5*	potassium inwardly rectifying channel subfamily J member 5, 11q24.3	+	LQTS [GR], СССУ [360]
98	*KCNJ8*	potassium inwardly rectifying channel subfamily J member 8, 12p12.1	+	синдром Бругада [GR]
99	*KCNQ1*	potassium voltage-gated channel subfamily Q member 1, 11p15.5-p15.4	+	LQTS [GR, 360], SQTS, ФП, СССУ [360]
100	*KLF10*	Kruppel like factor 10, 8q22.3	+	ГКМП [GR]
101	*KRAS*	KRAS proto-oncogene, GTPase, 12p12.1	+	
102	*LAMA2*	laminin subunit alpha 2, 6q22.33	+	
103	*LAMA4*	laminin subunit alpha 4, 6q21	+	ДКМП [GR]
104	*LAMP2*	lysosomal associated membrane protein 2, Xq24	+	болезнь Данона (ГКМП) [GR], ГКМП, нарушения проводимости [360]
105	*LCAT*	lecithin-cholesterol acyltransferase, 16q22.1		наследственный дефицит лецитин холестерол ацилтрансферазы [25]
106	*LDB3*	LIM domain binding 3, 10q23.2	+	ДКМП [GR], ГКМП [360]

Продолжение таблицы А.4

№	Ген (символ)	Ген (официальное полное имя), локализация (номер хромосомы)	Illumina	Нозология, с которой ассоциирован ген
107	*LDLR*	low density lipoprotein receptor, 19p13.2	+	СГХС [GR, 25]
108	*LDLRAP1*	low density lipoprotein receptor adaptor protein 1, 1p36.11	+	
109	*LMF1*	lipase maturation factor 1, 16p13.3	+	синдром наследственной хиломикронемии [25]
110	*LMNA*	lamin A/C, 1q22	+	ARVC, мышечная дистрофия Эмери–Дрейфуса (ДКМП), ДКМП [GR, 360], нарушения проводимости, ФП, СССУ [360]
111	*LPL*	lipoprotein lipase, 8p21.3	+	синдром наследственной хиломикронемии [25]
112	*LTBP2*	latent transforming growth factor beta binding protein 2, 14q24.3	+	
113	*MAP2K1*	mitogen-activated protein kinase kinase 1, 15q22.31	+	
114	*MAP2K2*	mitogen-activated protein kinase kinase 2, 19p13.3	+	
115	*MIB1*	MIB E3 ubiquitin protein ligase 1, 18q11.2	+	
116	*MYBPC3*	myosin binding protein C3, 11p11.2	+	ДКМП [GR], ГКМП [GR, 23, 360]
117	*MYH6*	myosin heavy chain 6, 14q11.2	+	ДКМП, ГКМП [GR]
118	*MYH7*	myosin heavy chain 7, 14q11.2	+	дистальная миопатия Лэнга (ДКМП) [GR], ДКМП [GR, 360], ГКМП [GR, 23, 360]
119	*MYH11*	myosin heavy chain 11, 16p13.11	+	
120	*MYL2*	myosin light chain 2, 12q24.11	+	ДКМП [GR], ГКМП [GR, 360]

Продолжение таблицы А.4

№	Ген (символ)	Ген (официальное полное имя), локализация (номер хромосомы)	Illumina	Нозология, с которой ассоциирован ген
121	*MYL3*	myosin light chain 3, 3p21.31	+	ГКМП [GR, 23, 360]
122	*MYL4*	myosin light chain 4, 17q21.32		ФП, нарушения проводимости [360]
123	*MYLK*	myosin light chain kinase, 3q21.1	+	
124	*MYLK2*	myosin light chain kinase 2, 20q11.21	+	ГКМП [GR]
125	*MYO6*	myosin VI, 6q14.1	+	ГКМП [360]
126	*MYOZ2*	myozenin 2, 4q26	+	ГКМП [GR]
127	*MYPN*	myopalladin, 10q21.3	+	ДКМП, ГКМП [GR]
128	*MYOM1*	myomesin 1, 18p11.31		ГКМП [GR]
129	*NEBL*	nebulette, 10p12.31		ДКМП [GR]
130	*NEXN*	nexilin F-actin binding protein, 1p31.1	+	ДКМП [GR, 360], ГКМП [GR]
131	*NKX2-5*	NK2 homeobox 5, 5q35.1	+	ДКМП [GR]
132	*NODAL*	nodal growth differentiation factor, 10q22.1	+	
133	*NOTCH1*	notch receptor 1, 9q34.3	+	
134	*NPPA*	natriuretic peptide A, 1p36.22	+	ФП [360]
135	*NRAS*	NRAS proto-oncogene, GTPase, 1p13.2	+	
136	*OBSCN*	obscurin, cytoskeletal calmodulin and titin-interacting RhoGEF, 1q42.13		ДКМП [GR]

Продолжение таблицы А.4

№	Ген (символ)	Ген (официальное полное имя), локализация (номер хромосомы)	Illumina	Нозология, с которой ассоциирован ген
137	*PCSK9*	proprotein convertase subtilisin/kexin type 9, 1p32.3	+	СГХС [GR, 25]
138	*PDLIM3*	PDZ and LIM domain 3, 4q35.1	+	ГКМП [GR]
139	*PKP2*	plakophilin 2, 12p11.21	+	синдром Бругада [GR], ARVC [GR, 360]
140	*PLN*	phospholamban, 6q22.31	+	ARVC, ГКМП, ДКМП [GR, 360]
141	*PLEKHM2*	pleckstrin homology and RUN domain containing M2, 1p36.21		ДКМП [GR]
142	*PRDM16*	PR/SET domain 16, 1p36.32	+	ДКМП [GR]
143	*PRKAG2*	protein kinase AMP-activated non-catalytic subunit gamma 2, 7q36.1	+	Болезнь накопления гликогена в сердце (ГКМП) [GR] ГКМП, СССУ [360]
144	*PRKAR1A*	protein kinase cAMP-dependent type I regulatory subunit alpha, 17q24.2	+	
145	*PSEN2*	presenilin 2, 1q42.13		ДКМП [GR]
146	*PTPN11*	protein tyrosine phosphatase non-receptor type 11, 12q24.13	+	ГКМП [360]
147	*RAF1*	Raf-1 proto-oncogene, serine/threonine kinase, 3p25.2	+	ГКМП [360]
148	*RANGRF*	RAN guanine nucleotide release factor, 17p13.1	+	синдром Бругада [GR]
149	*RBM20*	RNA binding motif protein 20, 10q25.2	+	ДКМП [GR, 360]
150	*RIT1*	Ras like without CAAX 1, 1q22		ГКМП [360]

Продолжение таблицы А.4

№	Ген (символ)	Ген (официальное полное имя), локализация (номер хромосомы)	Illumina	Нозология, с которой ассоциирован ген
151	*RYR1*	ryanodine receptor 1, 19q13.2	+	
152	*RYR2*	ryanodine receptor 2, 1q43		CPVT [GR, 360], ARVC, ГКМП [GR], СССУ [360]
153	*SALL4*	spalt like transcription factor 4, 20q13.2	+	
154	*SCN10A*	sodium voltage-gated channel alpha subunit 10, 3p22.2		синдром Бругада [GR]
155	*SCN1B*	sodium voltage-gated channel beta subunit 1, 19q13.11	+	синдром Бругада [GR]
156	*SCN2B*	sodium voltage-gated channel beta subunit 2, 11q23.3	+	синдром Бругада [GR]
157	*SCN3B*	sodium voltage-gated channel beta subunit 3, 11q24.1	+	синдром Бругада [GR]
158	*SCN4B*	sodium voltage-gated channel beta subunit 4, 11q23.3	+	LQTS [GR]
159	*SCN5A*	sodium voltage-gated channel alpha subunit 5, 3p22.2	+	LQTS, ДКМП [GR, 360], синдром Бругада, ФП, СССУ [360]
160	*SCO2*	synthesis of cytochrome C oxidase 2, 22q13.33	+	
161	*SDHA*	succinate dehydrogenase complex flavoprotein subunit A, 5p15.33	+	
162	*SEMA3A*	semaphorin 3A, 7q21.11		синдром Бругада [GR]
163	*SGCB*	sarcoglycan beta, 4q12	+	
164	*SGCD*	sarcoglycan delta, 5q33.2-q33.3	+	ДКМП [GR]
165	*SGCG*	sarcoglycan gamma, 13q12.12	+	

Продолжение таблицы А.4

№	Ген (символ)	Ген (официальное полное имя), локализация (номер хромосомы)	Illumina	Нозология, с которой ассоциирован ген
166	*SHOC2*	SHOC2 leucine rich repeat scaffold protein, 10q25.2	+	
167	*SGOL1*	shugoshin 1, 3p24.3		СССУ [360]
168	*SLC4A3*	solute carrier family 4 member 3, 2q35		SQTS [360]
169	*SLC2A10*	solute carrier family 2 member 10, 20q13.12	+	
170	*SLC25A4*	solute carrier family 25 member 4, 4q35.1	+	ГКМП [360]
171	*SLMAP*	sarcolemma associated protein, 3p14.3		синдром Бругада [GR]
172	*SMAD3*	SMAD family member 3, 15q22.33	+	
173	*SMAD4*	SMAD family member 4, 18q21.2	+	
174	*SNTA1*	syntrophin alpha 1, 20q11.21	+	LQTS [GR]
175	*SOS1*	SOS Ras/Rac guanine nucleotide exchange factor 1, 2p22.1	+	
176	*SREBF2*	sterol regulatory element binding transcription factor 2, 22q13.2	+	
177	*TAZ (TAFAZZIN)*	tafazzin, phospholipid-lysophospholipid transacylase, Xq28	+	Синдром Барта (ДКМП) [GR]
178	*TBX3*	T-box transcription factor 3, 12q24.21	+	

Продолжение таблицы А.4

№	Ген (символ)	Ген (официальное полное имя), локализация (номер хромосомы)	Illumina	Нозология, с которой ассоциирован ген
179	*TBX5*	T-box transcription factor 5, 12q24.21	+	ФП, нарушения проводимости [360]
180	*TBX20*	T-box transcription factor 20, 7p14.2	+	ДКМП [GR]
181	*TCAP*	titin-cap, 17q12	+	ДКМП, ГКМП [GR]
182	*TECRL*	trans-2,3-enoyl-CoA reductase like, 4q13.1		CPVT [360]
183	*TGFB2*	transforming growth factor beta 2, 1q41	+	
184	*TGFB3*	transforming growth factor beta 3, 14q24.3	+	ARVC [GR]
185	*TGFBR1*	transforming growth factor beta receptor 1, 9q22.33	+	
186	*TGFBR2*	transforming growth factor beta receptor 2, 3p24.1	+	
187	*TMEM43*	transmembrane protein 43, 3p25.1	+	ARVC [GR]
188	*TMPO*	thymopoietin, 12q23.1	+	
189	*TNNC1*	troponin C1, slow skeletal and cardiac type, 3p21.1	+	ДКМП, ГКМП [GR]
190	*TNNI3*	troponin I3, cardiac type, 19q13.42	+	ДКМП [GR], ГКМП [GR, 23]
191	*TNNI3K*	TNNI3 interacting kinase, 1p31.1		ДКМП [GR], нарушения проводимости [360]
192	*TNNT2*	troponin T2, cardiac type, 1q32.1	+	ДКМП [GR, 360], ГКМП [GR, 23, 360]
193	*TPM1*	tropomyosin 1, 15q22.2	+	ДКМП [GR, 360], ГКМП [GR, 23, 360]
194	*TRDN*	triadin, 6q22.31	+	CPVT [GR, 360], LQTS [360]

Продолжение таблицы А.4

№	Ген (символ)	Ген (официальное полное имя), локализация (номер хромосомы)	Illumina	Нозология, с которой ассоциирован ген
195	*TRIM63*	tripartite motif containing 63, 1p36.11	+	ГКМП [GR]
196	*TRPM4*	transient receptor potential cation channel subfamily M member 4, 19q13.33	+	синдром Бругада [GR], нарушения проводимости [360]
197	*TTN*	titin, 2q31.2	+	ARVC [GR], ДКМП [GR, 360], ГКМП [GR], ФП [360]
198	*TTR*	transthyretin, 18q12.1	+	Наследственный транстиретиновый амилоидоз (ГКМП) [GR], ГКМП [360]
199	*TXNRD2*	thioredoxin reductase 2, 22q11.21	+	
200	*USF1*	upstream transcription factor 1, 1q23.3		СГХС [25]
201	*VCL*	vinculin, 10q22.2	+	ДКМП [GR, 360], ГКМП [GR]
202	*ZBTB17*	zinc finger and BTB domain containing 17, 1p36.13	+	
203	*ZHX3*	zinc fingers and homeoboxes 3, 20q12	+	
204	*ZIC3*	Zic family member 3, Xq26.3	+	
205	*ZNF9 (CNBP)*	CCHC-type zinc finger nucleic acid binding protein, 3q21.3		нарушения проводимости [360]
Примечание: информация приведена согласно базе данных dbGene https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/;				

Таблица А.5 – Условия метилспецифической ПЦР

№	Ген	Последовательность праймеров (F;R)	Условия ПЦР	Длина продукта, пар нуклеотидов	Смесь для ПЦР объемом 25 мкл
1	*ABCA1*	MF: 5’-AATTTTATTGGTGTTTTTGGTTGTC-3’ MR: 5’-ATATCTTAAAATCCGCGATCTACG-3’	1 цикл 95^0C 5 минут, 35 циклов: 95^0C 30 с, 60^0C 30 с, 72^0C 30 с, 1 цикл 72^0C 7 минут	139	Трис-HCI (pH 9,0) 75 мМ, $(NH_4)_2SO_4$ 20мМ, Tween-20 0,01 %, 2,75 мМ $MgCl_2$, 0,8 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единица активности Hot Start Taq ДНК полимеразы (ООО "Биосан", Новосибирск)
		UF: 5’-AATTTTATTGGTGTTTTTGGTTGTT-3’ UR: 5’-TATCTTAAAATCCACAATCTACATC-3’	1 цикл 95^0C 5 минут, 35 циклов: 95^0C 30 с, 62^0C 30 с, 72^0C 30 с, 1 цикл 72^0C 7 минут	138	Трис-HCI (pH 9,0) 75 мМ, $(NH_4)_2SO_4$ 20мМ, Tween-20 0,01 %, 2,5 мМ $MgCl_2$, 1,0 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единица активности Hot Start Taq ДНК полимеразы (ООО "Биосан", Новосибирск)

Продолжение таблицы А.5

№	Ген	Последовательность праймеров (F;R)	Условия ПЦР	Длина продукта, пар нуклеотидов	Смесь для ПЦР объемом 25 мкл
2	*HMGCR*	MF: 5’-TATAAGAGAGAGAGACGTAGGTGATC-3’ MR: 5’-CCCGTACTCGTCCTAACTATAATAA-3’	1 цикл 95^0C 5 минут, 33 цикла: 95^0C 30 с, 55^0C 30 с, 72^0C 30 с, 1 цикл 72^0C 7 минут	290	Трис-HCI (pH 9,0) 75 мМ, $(NH_4)_2SO_4$ 20мМ, Tween-20 0,01 %, 2,0 мМ $MgCl_2$, 0,4 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единица активности Hot Start Taq ДНК полимеразы (ООО "Биосан", Новосибирск).
		UF:5’-GTATATAAGAGAGAGAGATGTAGGTGATT-3’ UR:5’-TAACCCATACTCATCCTAACTATAATAA-3’	1 цикл 95^0C 5 минут, 33 цикла: 95^0C 30 с, 54^0C 30 с, 72^0C 30 с, 1 цикл 72^0C 7 минут	290	Трис-HCI (pH 9,0) 75 мМ, $(NH_4)_2SO_4$ 20мМ, Tween-20 0,01 %, 1,5 мМ $MgCl_2$, 0,6 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единица активности Hot Start Taq ДНК полимеразы (ООО "Биосан", Новосибирск).

Продолжение таблицы А.5

№	Ген	Последовательность праймеров (F;R)	Условия ПЦР	Длина продукта, пар нуклеотидов	Смесь для ПЦР объемом 25 мкл
3	*F2RL3*	MF: 5’- TTGGGGTAATTTTTATGGTGTTTAC -3’ MR: 5’- AAAATAAATACCCATACCCCGAC -3’	1 цикл 95^0C 5 минут, 33 цикла: 95^0C 30 с, 62^0C 30 с, 72^0C 30 с, 1 цикл 72^0C 7 минут	202	Трис-HCI (pH 9,0) 75 мМ, $(NH_4)_2SO_4$ 20мМ, Tween-20 0,01 %, 1,7 мМ $MgCl_2$, 0,52 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единица активности Hot Start Taq ДНК полимеразы (ООО "Биосан", Новосибирск)
		UF:5’- GGGTAATTTTTATGGTGTTTATGT -3’ UR:5’- AAAAAATAAATACCCATACCCCAA -3’		202	Трис-HCI (pH 9,0) 75 мМ, $(NH_4)_2SO_4$ 20мМ, Tween-20 0,01 %, 2,5 мМ $MgCl_2$, 0,52 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единица активности Hot Start Taq ДНК полимеразы (ООО "Биосан", Новосибирск

Продолжение таблицы А.5

№	Ген	Последовательность праймеров (F;R)	Условия ПЦР	Длина продукта, пар нуклеотидов	Смесь для ПЦР объемом 25 мкл
4	*CDKN2A*	MF: 5’- TTATTAGAGGGTGGGGCGGATCGC -3’ MR: 5’- GACCCCGAACCGCGACCGTAA -3’	1 цикл 95^0C 5 минут, 33 цикла: 95^0C 30 с, 58^0C 30 с, 72^0C 15 с, 1 цикл 72^0C 7 минут	151	Трис-HCI (pH 9,0) 75 мМ, $(NH_4)_2SO_4$ 20мМ, Tween-20 0,01 %, 1,5 мМ $MgCl_2$, 0,4 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единица активности Hot Start Taq ДНК полимеразы (ООО "Биосан", Новосибирск)
		UF:5’- TTATTAGAGGGTGGGGTGGATTGT -3’ UR:5’- CAACCCCAAACCACAACCATAA -3’	1 цикл 95^0C 5 минут, 33 цикла: 95^0C 30 с, 62^0C 30 с, 15^0C 30 с, 1 цикл 72^0C 7 минут	151	

Примечание: MF – прямой праймер для метилированной последовательности, MR – обратный праймер для метилированной последовательности, UF – прямой праймер для неметилированной последовательности, UR – обратный праймер для неметилированной последовательности, с - секунда