

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА КАЛЬСЕКВЕСТРИНА В РАЗВИТИИ ФИБРИЛЛЯЦИИ ПРЕДСЕРДИЙ И СИНДРОМА СЛАБОСТИ СИНУСОВОГО УЗЛА

Е.А. Арчаков, Р.Е. Баталов, С.В. Попов, Э.Ф. Муслимова, А.В. Сморгон, С.А. Афанасьев

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук
E-mail: aea_cardio@mail.ru

THE ROLE OF POLYMORPHISM IN THE CALSEQUESTRIN GENE IN THE DEVELOPMENT OF ATRIAL FIBRILLATION AND SICK SINUS SYNDROME

E.A. Archakov, R.E. Batalov, S.V. Popov, E.F. Muslimova, A.V. Smorgon, S.A. Afanasiev

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences

В настоящее время особое внимание уделяется исследованию роли генетических факторов в развитии сердечно-сосудистой патологии. Широкое внедрение генетических и клеточных технологий в будущем, возможно, решит проблемы профилактики и лечения различных нарушений ритма сердца. Транспортирующие ионные системы кардиомиоцитов играют большую роль в регуляции гомеостаза клеток миокарда. В литературе описаны полиморфные варианты гена кальсеквестрина, связанные с аритмией, внезапной сердечной смертью и развитием сердечной недостаточности у больных ишемической болезнью сердца (ИБС). Цель: проанализировать роль полиморфизма гена кальсеквестрина в развитии фибрилляции предсердий (ФП) и синдрома слабости синусового узла (СССУ). В исследование включено 47 пациентов, средний возраст – $67,0 \pm 15,4$ лет; из них 38 (80,8%) мужчин с ФП – 15 (31,9%), СССУ – 11 (23,4%) и их сочетанием – 21 (44,6%). В исследуемую группу вошли пациенты с ИБС – 27 (57,4%), гипертонической болезнью – 10 (21,2%), миокардитом – 3 (6,4%), идиопатическим нарушением ритма сердца – 7 (14,9%). Всего 35 пациентов имели генотип С/С и 12 – генотип С/Т. Частота встречаемости аллеля С в выборке пациентов с сочетанием ФП и СССУ – 88%, аллеля Т – 12%; в группе с ФП аллель С – 93%, аллель Т – 7%; в группе с СССУ аллель С – 77%, аллель Т – 23%. Заключение. Полученные данные не показали достоверной связи развития ФП и СССУ с генетическим полиморфизмом белка кальсеквестрина.

Ключевые слова: фибрилляция предсердий, синдром слабости синусового узла, кальсеквестрин.

At present, special attention is given to studying the role of genetic factors in the development of cardiovascular diseases. Wide implementation of the genetic and cellular technologies in the future may contribute to solving the problem of prevention and treatment of cardiac arrhythmias. Ion transport systems in the cardiomyocytes play an important role in the regulation of homeostasis of myocardial cells. The literature describes polymorphic variants in the calsequestrin gene associated with arrhythmias, sudden cardiac death, and development of heart failure in patients with ischemic heart disease. Objective: The objective of the study was to analyze the role of polymorphism in the calsequestrin 1 gene in the development of atrial fibrillation (AF) and sick sinus syndrome (SSS). The study included 47 patients aged 67.0 ± 15.4 years (38 men (80.8%)). Among these patients, 15 individuals (31.9%) had AF; 11 patients (23.4%) had SSS; and 21 patients (44.6%) had combination of these pathologies. These patients had coronary artery disease ($n=27$ (57.4%)), hypertension ($n=10$ (21.2%)), myocarditis ($n=3$ (6.4%)), and idiopathic heart rhythm disturbances ($n=7$ (14.9%)). Only 35 patients had C/C genotype and 12 patients had C/T genotype. The frequencies of the C and T alleles in patients with a combination of AF and SSS were 88% and 12%, respectively. The frequencies of the C and T alleles in AF group were 93% and 7%, respectively. The frequencies of the C and T alleles in SSS group were 77% and 23%, respectively. Conclusion. The findings showed no significant associations of AF and SSS with the polymorphisms in the calsequestrin gene.

Key words: atrial fibrillation, sick sinus syndrome, calsequestrin.

ФП – наиболее распространенная аритмия сердца. Известно, что ФП ассоциируется с пятикратным увеличением риска развития инсульта, трехкратным увеличением сердечной недостаточности, двукратным увеличением деменции и смертности [1–3]. ФП – сложное нарушение ритма сердца, которое требует междисциплинарного подхода. В течение длительного времени фармакотерапия была единственным способом лечения ФП. Не так давно были предложены и стали активно развиваться хирургические и интервенционные способы лечения. Несмотря на значительные успехи данных методов, далеко не всегда можно добиться желаемого эффекта.

Достаточно часто в клинической практике наблюдается сочетание ФП и СССУ [4], в основе которого лежит снижение способности синусового узла (СУ) выполнять задачи доминантного пейсмейкера или различные варианты нарушения проведения импульса [5, 6].

Распространенность дисфункции СУ в общей популяции неизвестна. Согласно имеющейся информации, у кардиологических больных она составляет приблизительно 3:5000. Признаки заболевания СУ отмечаются у 6,3–24% больных, в связи с чем они нуждаются в имплантации водителя ритма. Считается, что нарушения функции СУ одинаково часто встречаются у мужчин и жен-

щин. С возрастом частота возникновения CCCU увеличивается.

Органическое происхождение заболевания проводящей системы сердца требует как можно более раннего выявления больных и своевременной хирургической коррекции с целью предотвращения внезапной смерти.

В подавляющем большинстве случаев CCCU является приобретенным и лишь в редких случаях – врожденным заболеванием. В его основе лежат дегенеративные изменения в синусно-предсердной области, обусловленные многими причинами (ИБС, артериальная гипертензия, кардиомиопатии, гемохроматоз, метастазы опухолей, коллагенозы, инфекционные и инфекционно-аллергические заболевания, амилоидоз сердца, токсические поражения, операции на сердце).

В некоторых случаях не удается выявить причину возникновения как CCCU, так и ФП, в связи с чем необходимо более глубокое изучение молекулярно-клеточных механизмов, регуляции гомеостаза ионов.

Ключевым фактором в понимании природы ФП и CCCU может стать полиморфизм генов, кодирующих белки ионных каналов. Мутации в этих генах могут приводить к нарушению гомеостаза ионов в миокарде. Одним из наиболее важных ионов в клетках сердца является ион кальция – Ca^{2+} . Подавляющее большинство клеток, в том числе и кардиомиоциты, имеют специальные системы, которые в покое поддерживают внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} на низком уровне и обеспечивают его быстрое удаление после прекращения действия внешнего сигнала, системы, которые в ответ на этот сигнал обеспечивают вход Ca^{2+} в клетку из окружающей среды или его освобождение из внутриклеточных источников, а также те, которые отвечают на изменение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} изменением своей функциональной активности. Первые два типа систем представлены мембранными белками – Ca^{2+} -каналами и Ca^{2+} -насосами. Последняя подразумевает существование в цитоплазме специальных белков, которые при связывании Ca^{2+} изменяют свою активность, регулируют различные внутриклеточные процессы. В настоящее время такие системы хорошо известны, причем, несмотря на огромное разнообразие клеток и выполняемых ими функций, они достаточно универсальны и имеют много общих свойств. Основным депо и регулятором внутриклеточного транспорта Ca^{2+} в кардиомиоцитах является саркоплазматический ретикулум (СР) [7]. Транспортирующие системы СР осуществляют связывание и перенос этого иона. Так, Ca^{2+} -АТФ-аза СР участвует в процессах обратного захвата ионов Ca^{2+} . Белок – кальсеквестрин обеспечивает связывание Ca^{2+} внутри СР, а рианодиновые рецепторы осуществляют их освобождение. Осцилляции Ca^{2+} внутри клетки играют определяющую роль в процессах электромеханического сопряжения кардиомиоцитов и, соответственно, сократительной активности сердца [8].

Выявлен ряд мутаций гена кальсеквестрина CASQ2, также определяющих развитие желудочковой тахикардии; хотя они описаны в небольшом количестве семей и их доля в общей структуре заболевания неизвестна [9]. Существуют варианты, связанные с семейной аритмогенной дисплазией правого желудочка. В литературе представлено мало информации о роли однонуклеотидных

полиморфизмов гена CASQ2 в развитии сердечно-сосудистой патологии. Тем не менее, описаны полиморфные варианты, связанные с аритмией, внезапной сердечной смертью и развитием сердечной недостаточности (СН) у больных ИБС [10].

В последнее время в литературе довольно часто стали появляться результаты исследований, проведенных на лабораторных животных, которые показывают связь полиморфизма генов кальцийтранспортирующих белков, в том числе кальсеквестрина, рианодиновых рецепторов, с развитием нарушений ритма сердца. По данным авторов этих исследований, с дисфункцией систем могут быть связаны задержка потенциала действия в синоатриальном узле с развитием брадикардии, возникновение эктопической и re-entry активности с развитием ФП [11].

Материал и методы

В исследование включено 47 пациентов, средний возраст – $67,0 \pm 12,4$ лет; из них 38 мужчин 38 (80,8%), с ФП – 15 (31,9%), CCCU – 11 (23,4%) и их сочетанием – 21 (44,6%). В исследуемую группу вошли пациенты с ИБС – 27 (57,4%), гипертонической болезнью – 10 (21,2%), миокардитом – 3 (6,4%), идиопатическим нарушением ритма сердца – 7 (14,9%). Пациенты разделены на 3 группы: первая – пациенты с наличием ФП и CCCU, вторая – только с ФП и третья – с CCCU. Пациентам с верифицированным диагнозом CCCU имплантирован электрокардиостимулятор (ЭКС). Всем исследуемым взята кровь из кубитальной вены в пробирку с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) для последующего проведения генетического анализа. Получены образцы ДНК у 47 пациентов с ФП и CCCU. Выделение ДНК из цельной крови осуществляли с помощью набора реагентов “Wizard Genomic DNA Purification Kit” (“Promega”, USA) по предлагаемому фирмой протоколу. Выполнена полимеразная цепная реакция (ПЦР) с использованием набора реактивов (ООО “ТестГен”, Россия) и амплификатора T-100 (Bio-Rad).

Используемые праймеры:

- Прямой праймер: CCAGAACTATAAGCTGAATACACCA.
- Обратный праймер: AATAATAATAAATCATAAAACCCATTTGATTTTCTTGACAA.

Условия амплификации. Первая денатурация: 95°C – 2 мин 35 циклов; 94°C – 10 с; 62°C – 20 с; 72°C – 20 с. Последний синтез цепи: 72°C – 2 мин.

Для определения генотипа производилось последующее расщепление продуктов ПЦР с использованием рестриктазы CASQ2-rs6684209 (BssT1I, НПО “СибЭнзим”, Россия). Регистрация результатов осуществлялась электрофоретическим методом в 4%-м агарозном геле на основе однократного трис-боратного буфера с добавлением бромистого этидия. В своей работе мы использовали электрофоретические камеры и гель-документирующую систему Bio-Rad Gel Doc 2000TM производства фирмы “Bio-Rad” (USA).

После обработки рестриктазой получают следующие продукты:

- Фрагмент длиной 207 п.н. (пар нуклеотидов) – генотип С/С.

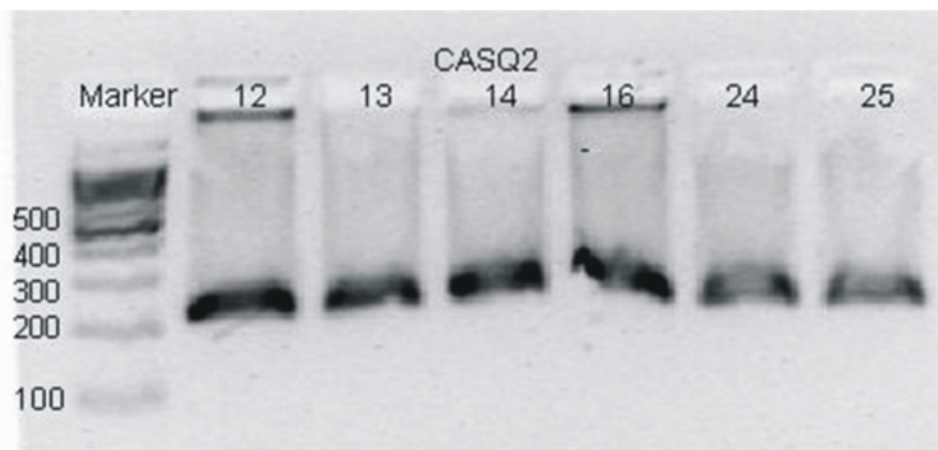


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов рестрикции гена кальсеквестрина (CASQ2), указывающая на длину полученных фрагментов, что демонстрирует генотип С/С. Сверху цифрами указаны номера проб, сбоку – количество пар нуклеотидов

- Фрагменты длиной 182 и 25 п.н. – генотип Т/Т.
- Фрагменты длиной 207, 182 и 25 п.н. – генотип С/Т.

Результаты и обсуждение

Выполнен анализ полиморфизма rs6684209 гена кальсеквестрина CASQ2 у 47 пациентов методом анализа полиморфизма длин рестриционных фрагментов (ПДРФ-анализ), рисунок 1.

Всего 35 пациентов имели генотип С/С и 12 – генотип С/Т. У первой группы пациентов выявлен генотип С/С полиморфизма rs6684209 гена CASQ2 у 16, генотип С/Т – у 5. У второй группы пациентов обнаружен генотип С/С гена CASQ2 в 13 случаях, генотип С/Т – в 2. В третьей группе 6 пациентов имели гомозиготный генотип и 5 – гетерозиготный (рис. 2).

Частота встречаемости аллеля С в выборке пациентов с сочетанием ФП и CCCУ – 88%, аллеля Т – 12%, в группе с ФП аллель С – 93%, аллель Т – 7%, в группе с CCCУ аллель С – 77%, аллель Т – 23%.

Результаты статистической обработки полученных данных представлены в таблице. В нашем исследовании распределение генотипов гена CASQ2 в обследованных группах соответствовало равновесию Харди–Вейнберга. Частота встречаемости генотипов и аллелей в исследовании оказалась сопоставима с данными, полученными в европейской популяции (рис. 3).

Анализ распределения частот генотипов полиморфизма С/Т гена CASQ2 и аллелей не показал наличия статистически значимых различий между исследуемыми группами ($\chi^2=0,91$, $p=0,63$; $\chi^2=1,7$, $p=0,42$).

Для оценки взаимосвязи носительства того или иного аллеля гена CASQ2 с развитием ФП и CCCУ рассчитана величина показателя OR (Odds Ratio – отношение шансов). С учетом полученных данных положительной ассоциации между изучаемым фактором и развитием патологического состояния не выявлено.

Полученные результаты у небольшой группы пациентов не выявили связи полиморфизма гена CASQ2 с та-

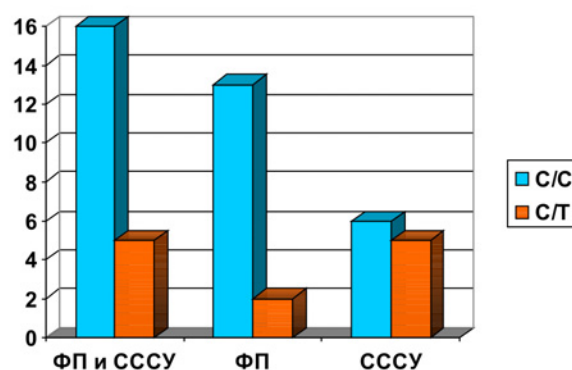


Рис. 2. Распространенность генотипов С/С и С/Т у пациентов разных групп, где слева по оси представлено количество пациентов: С/С и С/Т – генотипы CASQ2.

Таблица

Распределение частот генотипов CASQ2 и аллелей в группах исследования

Группы	Генотипы		Аллель	
	С/С (%)	С/Т (%)	С (%)	Т (%)
ФП и CCCУ (n=21)	76,2	23,8	88,0	12,0
ФП (n=15)	86,7	13,3	93,0	7,0
CCCУ (n=11)	55,0	45,0	77,0	23,0
p	p1=0,63		p2=0,42	

Примечание: С и Т – аллели гена CASQ2, – значимость различий в распределении генотипов и аллелей между исследуемыми группами (p1 и p2 соответственно).

кими заболеваниями, как ФП и CCCУ. По данным литературных источников, мутация CASQ2 встречается в 1–2% случаев у пациентов с полиморфной желудочковой тахикардией. Распространенность мутации у пациентов с другими нарушениями ритма сердца неизвестна.

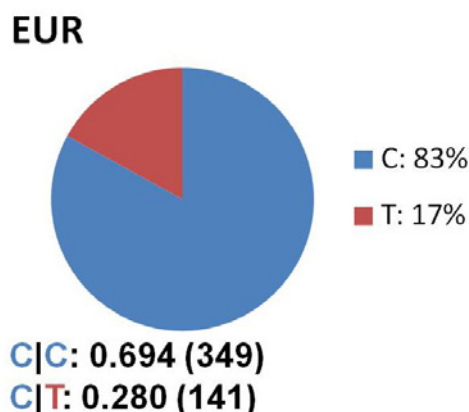


Рис. 3. Частота встречаемости генотипов и аллелей в европейской популяции, где С и Т – аллели гена CASQ2

Выводы

Связи развития ФП и CCCУ с генетическим полиморфизмом белка кальсеквестрина в исследуемой выборке не выявлено.

Литература

1. January C.T., Wann L.S., Alpert J.S. et al. Guideline for the management of patients with atrial fibrillation // J. Am. Coll. Cardiol. – 2014. – Vol. 64, No. 21. – P. 2246–2280.
2. Turakhia M., Solomon M.D., Jhaveri M. et al. Burden, timing, and relationship of cardiovascular hospitalization to mortality among Medicare beneficiaries with newly diagnosed atrial fibrillation // Am. Heart J. – 2013. – Vol. 166, No. 3. – P. 573–580.
3. Kirchhof P., Auricchio A., Bax J. et al. Outcome parameters for trials in atrial fibrillation: executive summary // Eur. Heart J. – 2007. – Vol. 28. – P. 2803–2817.
4. Lehnart S.E., Maier L.S., Hasenfuss G. Abnormalities of calcium metabolism and myocardial contractility depression in the failing heart // Heart Fail. Rev. – 2009. – Vol. 14. – P. 213–224.
5. Priori S.G., Allot E., Blomstrom-Lundqvist C. et al. Update of the guidelines on sudden cardiac death of the European Society of Cardiology // Eur. Heart J. – 2003. – Vol. 24. – P. 13–15.
6. Емельянчик Е.Ю., Анциферова Е.В., Чернова А.А. и др. Диагностика синдрома слабости синусового узла у детей // Вестн. аритмол. – 2010. – Т. 32, № 61. – С. 6–14.
7. Franzini-Armstrong C., Protasi F., Ramesh V. Shape, size, and distribution of Ca(2+) release units and couplons in skeletal and cardiac muscles // Biophys. J. – 1999. – No. 77. – P. 1528–1539.
8. Heinzel F.R., MacQuaide N., Biesmans L., Sipido K. Dyssynchrony of Ca2+ release from the sarcoplasmic reticulum as subcellular mechanism of cardiac contractile dysfunction // J. Mol. Cell Cardiol. – 2011. – Vol. 50, No. 3. – P. 390–400.
9. Бокерия О.Л., Ахобеков А.А. Ионные каналы и их роль в развитии нарушений ритма сердца // Анн. аритмол. – 2014. – Т. 11, № 3. – С. 277–284.
10. Refaat M.M., Aouizerat B.E., Pullinger C.R. Association of CASQ2 polymorphisms with sudden cardiac arrest and heart failure in patients with coronary artery disease // Heart Rhythm. – 2014. – Vol. 11. – P. 646–652.
11. Glukhov A.V., Kalyanasundaram A., Lou Q. et al. Calsequestrin 2

deletion causes sinoatrial node dysfunction and atrial arrhythmias associated with altered sarcoplasmic reticulum calcium cycling and degenerative fibrosis within the mouse atrial pacemaker complex // Eur. Heart J. – 2015 – Vol. 14, No. 36(11). – P. 686–697.

12. Gussak I., Antzelevitch C. Electrical diseases of the heart. Genetics, mechanisms, treatment, prevention. – London : Springer-Verlag, 2008. – P. 461–654, 705–719.

Поступила 10.01.2017

Сведения об авторах

Арчаков Евгений Александрович, аспирант отделения хирургического лечения сложных нарушений ритма сердца и электрокардиостимуляции Научно-исследовательского института кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук.

Адрес: 634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а.

E-mail: aea_cardio@mail.ru.

Баталов Роман Ефимович, канд. мед. наук, старший научный сотрудник отделения хирургического лечения сложных нарушений ритма сердца и электрокардиостимуляции Научно-исследовательского института кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук.

Адрес: 634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а.

E-mail: romancer@cardio.tsu.ru.

Попов Сергей Валентинович, докт. мед. наук, профессор, академик РАН, директор Научно-исследовательского института кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, руководитель отделения хирургического лечения сложных нарушений ритма сердца и электрокардиостимуляции Научно-исследовательского института кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук.

Адрес: 634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а.

E-mail: psv@cardio-tomsk.ru.

Муслимова Эльвира Фаритовна, канд. мед. наук, младший научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики Научно-исследовательского института кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук.

Адрес: 634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а.

E-mail: muslimovef@ya.ru.

Сморгон Андрей Владимирович, младший научный сотрудник отделения функциональной и ультразвуковой диагностики Научно-исследовательского института кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук.

Адрес: 634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а.

E-mail: sav.ssmu@gmail.ru.

Афанасьев Сергей Александрович, докт. мед. наук, профессор, руководитель лаборатории молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики Научно-ис-

довательского института кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук.

Адрес: 634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а.
E-mail: tursky@cardiotomsk.ru.

УДК 616.12-008.313.2-089

ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ КОМБИНИРОВАННОГО ЭТАПНОГО ПОДХОДА В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ С ФИБРИЛЛЯЦИЕЙ ПРЕДСЕРДИЙ И КОРОНАРНЫМ ШУНТИРОВАНИЕМ

Ю.И. Богданов, Ю.Ю. Вечерский, Р.Е. Баталов, В.В. Затолокин, С.В. Попов

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук
E-mail: yuri-bogdanov@mail.ru

LONG-TERM RESULTS OF COMBINED STEPWISE APPROACH IN TREATMENT OF PATIENTS WITH ATRIAL FIBRILLATION AND CORONARY ARTERY BYPASS GRAFTING

Y.I. Bogdanov, Yu.Yu. Vechersky, R.E. Batalov, V.V. Zatolokin. S.V. Popov

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences

Статья посвящена проблеме хирургического лечения ишемической болезни сердца (ИБС) в сочетании с фибрилляцией предсердий (ФП). Несмотря на увеличение хирургических вмешательств по коррекции ФП во время коронарного шунтирования (КШ), в среднем хирургическая абляция ФП выполняется лишь у 27,5% пациентов во время КШ. В статье приведены отдаленные результаты одноцентрового, проспективного исследования по оценке эффективности комбинированного этапного подхода в лечении больных с ФП и КШ в сравнении с одноэтапной хирургической абляцией ФП.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, фибрилляция предсердий, коронарное шунтирование, хирургическая абляция.

The article is devoted to surgical treatment of the coronary artery disease in combination with atrial fibrillation. Despite the growing number of surgical atrial fibrillation ablation procedures during coronary artery bypass grafting surgery, only 27.5% of patients receive intervention for atrial fibrillation correction in addition to CABG. Article comprises long-term results of the prospective, single-center trial on clinical efficacy of combined stepwise approach in treatment of patients with atrial fibrillation and CABG in comparison with surgical ablation alone.

Key words: coronary artery disease, atrial fibrillation, coronary artery bypass grafting, surgical ablation.

ФП является наиболее распространенным видом нарушения ритма сердца среди наджелудочковых тахикардий. По данным многоцентровых клинических исследований выявлено, что распространенность ФП составляет около 0,5% в возрасте от 50 до 59 лет, после 75 лет – до 9%, причем чаще регистрируется у мужчин. По данным Фремингемского исследования, наличие ФП увеличивает риск инсульта в 5 раз. У больных ИБС или сердечной недостаточностью ФП удваивает риск инсульта у мужчин, а у женщин утраивает. Для лиц в возрасте от 80 до 89 лет ФП является единственным сердечно-сосудистым заболеванием, которое независимо от других факторов влияет на частоту инсультов. Атрибутивный риск инсульта снижается с возрастом при всех сердечно-сосудистых состояниях, кроме ФП, при которой риск значительно увеличивается [1].

В ретроспективном исследовании, включавшем 21534 пациента после операции аортокоронарного шунтирования (АКШ), было показано, что ФП в предоперационном периоде является независимым предиктором ранней и отдаленной летальности [2]. Несколько когортных исследований признали ФП маркером для повышенной летальности [3]. Средний возраст пациентов, которым выполняется операция АКШ, увеличивается, следовательно, увеличивается число пациентов с ФП, подлежащих операции АКШ. По данным одного из исследований, распространенность ФП у пациентов с изолированной АКШ составляет от 2,7% у молодых пациентов до 22,3% для пациентов в возрасте 75–80 лет. Как правило, пациенты с ФП, подвергающиеся операции АКШ, более пожилые, со сниженной фракцией выброса (ФВ), они чаще страдают сахарным диабетом и артериальной гипертензией по сравнению с пациентами без ФП [5].