

УДК 577.21

ПОИСКИ ЭПИСТАТИЧЕСКИ ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ В СОСТАВЕ БИАЛЛЕЛЬНЫХ СОЧЕТАНИЙ С ВАЗОГАГАЛЬНЫМИ ОБМОРОКАМИ

© 2024 г. Б. В. Титов^{1,2}, Н. А. Матвеева^{1,2}, Е. А. Базылева¹, А. В. Певзнер¹,
О. О. Фаворова^{1,2,*}

¹Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии им. академика Е.И. Чазова Москва, 121552 Россия

²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Москва, 117997 Россия

*e-mail: olga.favorova@gmail.com

Поступила в редакцию 22.07.2023 г.

После доработки 14.08.2023 г.

Принята к публикации 18.08.2023 г.

Наиболее частой причиной внезапной потери сознания являются вазовагальные обмороки (ВВО), которые возникают вследствие гипоперфузии головного мозга из-за нарушения вегетативного контроля кровообращения, приводящего к артериальной гипотензии. Известно, что к ВВО существует генетическая предрасположенность, однако данные о роли отдельных генов довольно противоречивы. С помощью программного обеспечения APSampler, использующего метод Монте-Карло Марковскими цепями и Байесовскую непараметрическую статистику, мы выявили биаллельные сочетания, ассоциированные с ВВО, и исследовали характер взаимодействия между их компонентами. Для анализа использовали полученные нами ранее результаты геномного типирования однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) пяти генов, продукты которых участвуют в нейрогуморальной регуляции, и четырех SNP, расположенных в локусе 2q32.1, дополненные данными для новых индивидов, включенных в исследование. В общую выборку вошло 175 больных с подтвержденным диагнозом ВВО и 200 индивидов контрольной группы без обмороков в анамнезе. Обнаружено 11 ассоциированных с ВВО попарных сочетаний SNP различных генов. пять из этих сочетаний оказались эпистатическими, причем в четырех из них вовлечены SNP локуса 2q32.1, лежащие внутри или вблизи генов некодирующих РНК. Высказано предположение, что гены некодирующих РНК, локализованные на хромосоме 2, могут прямо или опосредованно (через каскады взаимодействий) участвовать в регуляции активности генов, образующих с ними эпистатические пары.

Ключевые слова: генетический полиморфизм, эпистатические взаимодействия, генетическая предрасположенность, синкопальные состояния, вазовагальные обмороки.

DOI: 10.31857/S0016675824030092 EDN: DOIQNK

Обморок (синкопе) представляет собой преходящую потерю сознания вследствие церебральной гипоперфузии и характеризуется внезапным началом и полным спонтанным восстановлением. Согласно последней патофизиологической классификации синкопальных состояний 2018 г. [1] (рекомендации на русском языке [2]), обмороки разделяют на рефлекторные (нейрогенные), ортостатические и кардиальные. Вазовагальные обмороки (ВВО) входят в группу рефлекторных обмороков и являются наиболее частой причиной преходящей потери сознания. Механизм развития ВВО включает снижение частоты сердечных сокращений (ЧСС) и тонуса сосудов на фоне нарушения работы вегетативной нервной системы и нейрогуморальной регуляции, что в конечном

итоге приводит к падению артериального давления (АД), уменьшению кровоснабжения головного мозга и потере сознания [3, 4].

ВВО относят к мультифакториальным полигенным заболеваниям; хотя причины развития ВВО до конца не ясны, не вызывает сомнения, что важная роль среди них принадлежит наследственной предрасположенности [5]. Поскольку в основе патогенеза ВВО лежит нарушение нейрогуморальной регуляции [6], в качестве возможных генов предрасположенности рассматривают гены, кодирующие рецепторы, белки-переносчики и ферменты, участвующие в синтезе нейромедиаторов и вазоактивных молекул, таких как адреналин, норадреналин, аденозин, оксид азота, вазопрессин, эндотелин и другие, однако довольно многочис-

ленные данные о роли отдельных генов-кандидатов как правило противоречивы [5].

Первое исследование генетической составляющей обмороков методом полногеномного поиска ассоциаций (GWAS) было проведено в 2020 г. на выборке пациентов из ресурса Британского биобанка (The UK Biobank resource), страдающих, согласно Международной классификации заболеваний, обмороками или коллапсом (рубрики 780.2 по МКБ-9 и R55 по МКБ-10), и валидировано на данных Датского биобанка неонатального скрининга [7]. В этой работе был идентифицирован новый локус в области 2q32.1 хромосомы 2, однонуклеотидные полиморфные варианты (SNP) которого оказались ассоциированными с заболеванием ($p < 5 \times 10^{-8}$). Наиболее значимой была ассоциация с rs12465214 ($p = 5.8 \times 10^{-15}$). В марте 2023 г. были опубликованы результаты мета-анализа данных пяти биобанков разных стран (Исландия, Британия, Дания, США и Финляндия) [8], который показал ассоциацию с риском развития обмороков и коллапса, снова без разделения их на патогенетические варианты, 18 независимых SNP, из которых rs12465214, локализованный в области 2q32.1, был обнаружен ранее в работе [7], а остальные 17 были новыми. Мета-анализ выявил общий генетический фон обмороков и коллапса с патологией сердечно-сосудистой системы, что свидетельствует о важности тщательного контроля за состоянием здоровья людей с синкопе.

Мы сосредоточили свои исследования генетической предрасположенности к обморокам на одном типе рефлекторных (нейрогенных) обмороков – на ВВО. Цель настоящей работы – поиск ассоциированных с ВВО биаллельных эпистатических сочетаний генов; термин “эпистаз” использовали для обозначения взаимодействия различных генов, при котором проявление одного гена находится под влиянием другого гена, неаллельного ему (независимо от направления эффекта) [9]. Для этого анализа использовали полученные нами ранее результаты геномного типирования полиморфных вариантов генов нейрогуморальной регуляции [10], дополненные данными для новых пациентов, включенных в исследование (далее – гены группы 1), и полиморфных вариантов в области 2q32.1 [11] (далее – гены группы 2). Провели поиск биаллельных сочетаний двух типов: а) включающих два варианта генов группы 1 и б) включающих вариант гена группы 1 совместно с вариантом

гена группы 2, а также исследовали характер взаимодействия между компонентами всех найденных сочетаний.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования

В исследование генетической предрасположенности к ВВО методом “случай–контроль” было включено 175 неродственных больных ВВО (средний возраст \pm стандартное отклонение 35.89 ± 15.7 лет), из них 63 мужчины (средний возраст 34.5 ± 15.5 лет) и 112 женщин (средний возраст 36 ± 15.7 лет) из числа пациентов Института клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова ФГБУ НМИЦК им. акад. Е.И. Чазова Минздрава России. Всем пациентам проводилось стандартное клинико-инструментальное обследование, включавшее физикальный осмотр, регистрацию ЭКГ в 12 отведениях, суточное холтеровское мониторирование ЭКГ, эхокардиографию, оценку барорефлекторного контроля с помощью анализа временных последовательных изменений систолического АД и ЧСС, пробу Вальсальвы–Вебера, пробу с кистевым жимом, пробу с глубоким дыханием. Диагноз ВВО был поставлен на основании типичных провоцирующих факторов и клинических проявлений. Среди триггеров обмороков наиболее часто встречались пребывание в положении ортостаза в душном помещении (100%), венепункция или реакция на другое болевое воздействие (95%). 92% больных описывали наличие предвестников в виде тошноты, потливости, головокружения, ощущения “потемнения в глазах”. Во всех случаях бессознательный период был кратковременным (менее 1 мин), пациенты быстро “приходили в себя” после приступа, спутанности (характерной для эпилептических приступов) не отмечено ни у одного больного. Во всех случаях по результатам инструментального обследования были исключены иные (кардиальные, неврологические и метаболические) причины приступов потери сознания.

Контрольная группа включала 200 индивидов (средний возраст 36.7 ± 13.7 лет) без обмороков в анамнезе, из них 108 мужчин (средний возраст 36.1 ± 12.9 лет) и 92 женщины (средний возраст 37.4 ± 14.6 лет). Эту группу составили 72 человека, у которых при проведении обследования не было выявлено каких-либо заболеваний, и 128 пациентов, проходивших стационарное обследование и лечение либо в связи с различными нарушениями ритма сердца (редкие пароксизмы атриовентри-

кулярной узловой реципрокной тахикардии, трепетания или фибрилляции предсердий), либо по поводу транзиторной артериальной гипертензии. При их обследовании ни в одном случае не было обнаружено признаков органического поражения миокарда, а также других соматических или неврологических заболеваний.

Критериями исключения из исследования являлись ишемическая болезнь сердца, стенокардия II–IV функционального класса, острый коронарный синдром (нестабильная стенокардия, острый инфаркт миокарда), злокачественная и рефрактерная артериальная гипертензия, хроническая сердечная недостаточность II–IV функционального класса (по NYHA), злокачественные желудочковые аритмии, почечная, печеночная недостаточность, онкологические заболевания, декомпенсация эндокринных патологий (сахарный диабет, тиреотоксикоз, гипотиреоз), невазовагальный генез синкопальных состояний, психические расстройства, алкоголизм, заболевания периферической и центральной нервной системы. От всех участников исследования было получено информированное согласие.

Генотипирование

Генотипирование было проведено для всех включенных в исследование индивидов. Геномную ДНК из периферической крови выделяли с использованием коммерческого набора QIAamp DNA BloodMiniKit (QIAGEN, Германия). Геномное типирование полиморфных участков rs2070744 в гене *NOS3*, rs1048101 в гене *ADRA1A*, rs1801253 в гене *ADRB1*, rs4680 в гене *COMT*, rs5751876 в гене *ADORA2A* и rs12465214, rs12621296, rs17582219, rs1344706 в области 2q32.1 проводили методом ПЦР с детекцией в режиме реального времени с применением соответствующих коммерческих наборов TaqMan® SNP Genotyping Assay (Applied Biosystems) по инструкциям производителя на приборе StepOnePlus™. Для подтверждения правильности анализа производили повторное генотипирование случайно выбранных проб в количестве 10% от исходной выборки. Все выбранные SNP имели частоту микромного аллеля не ниже 5%.

Статистический анализ результатов генотипирования

Оценку отклонения наблюдаемых частот генотипов от равновесия Харди–Вайнберга по критерию χ^2 проводили с помощью алгоритма максимизации математического ожидания (expectation

maximization, EM) с использованием программного обеспечения (ПО) Haploview 4.2 (<http://www.broad.mit.edu/mpg/haploview/index.php>).

Для сравнения в группах больных ВВО и здоровых индивидов частот носительства аллелей и генотипов отдельных полиморфных участков и их биаллельных сочетаний было использовано оригинальное ПО APSampler [12, 13]. APSampler использует метод Монте-Карло Марковскими цепями и Байесовскую непараметрическую статистику для выявления ассоциаций генотипа с фенотипическим признаком и проводит валидацию результатов на основании традиционного статистического подхода, для чего в комплекс включена программа, которая оценивает значимость ассоциаций каждого найденного основным алгоритмом аллеля/генотипа или их сочетания с признаком по значениям точного критерия Фишера, отношения шансов (ОШ) и его 95%-го доверительного интервала (ДИ). Применяется односторонний точный критерий, т.к. данное ПО при выявлении ассоциации указывает также и ее направление. Значимыми считали различия сравниваемых частот при значении $p_f < 0.05$, при условии, что значения 95%ДИ для ОШ не пересекают 1. Кроме того, для валидации полученных результатов APSampler использует пермутационный тест; значение p_{perm} для аллеля или аллельного сочетания определяется как вероятность того, что после сбалансированного перемешивания меток “больной” и “контроль” (100 пермутаций) и нового поиска с помощью APSampler оценка значимости ассоциации с заболеванием произвольно найденного аллеля или аллельного сочетания будет не хуже, чем исходная оценка. Значимыми считали величины $p_{perm} < 0.05$.

Найденные с помощью APSampler сочетания считали ассоциированными с заболеванием, если любой входящий в сочетание аллель/генотип характеризуется меньшей значимостью ассоциации, чем само сочетание. Исходя из представления о возможности аддитивного вклада компонентов сочетаний или же эпистатического взаимодействия между ними, оценивали их природу с помощью точного трехфакторного теста, подобного критерию Фишера (the exact three-way Fisher-like interaction numeric test, FLINT), и фактора синергии (ФС, synergy factor) [14], входящих в состав инструментов ПО APSampler. Взаимодействие компонентов сочетаний считали эпистатическим, если величина p_{FLINT} была менее 0.05, а значение 95%-ного ДИ для ФС не пересекало 1.

Таблица 1. Включенные в исследование полиморфные участки, их локализация и продукты близлежащих генов

rs	Ближайший(е) ген(ы)*	Хромосомная локализация	Продукт гена(ов)
rs17582219	<i>LOC105373777</i>	2q32.1	нкРНК LOC105373777
rs12621296	<i>LOC105373777</i> <i>LOC102724340</i>		нкРНК LOC105373777 нкРНК LOC102724340
rs12465214	<i>LOC102724340</i> <i>LOC105373776</i> <i>MIR548AE1</i>		нкРНК LOC102724340 нкРНК LOC105373776 микроРНК 548ae-1
rs1344706	<i>ZNF804A</i>		Белок цинкового пальца 804A
rs2070744	<i>NOS3 (eNOS)</i>	7q36.1	Синтаза оксида азота
rs1048101	<i>ADRA1A</i>	8p21.2	Альфа 1A адренергический рецептор
rs1801253	<i>ADRB1</i>	10q25.3	Бета 1 адренергический рецептор
rs4680	<i>COMT</i>	22q11.21	Катехол-О-метилтрансфераза
rs5751876	<i>ADORA2A</i>	22q11.23	Рецептор аденозина A2A

Примечание. нкРНК – некодирующая РНК, * – гены выделены жирным шрифтом, если полиморфизм локализован непосредственно в гене.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для 175 неродственных больных ВВО и 200 индивидов контрольной группы проведено в настоящей работе или ранее [10, 11] генотипирование SNP, представленных в табл. 1. Это SNP, для которых мы ранее показали ассоциацию с ВВО; они локализованы в области генов, вовлеченных в нейрогуморальную передачу сигналов: rs1048101 гена *ADRA1A*, rs18012531 гена *ADRB1*, rs5751876 гена *ADORA2A*, rs4680 гена *COMT*, rs2070744 гена *NOS3 (eNOS)* [10] (гены группы 1), и на хромосоме 2 в области 2q32.1: SNP

rs17582219, rs12621296, rs12465214 и rs1344706 [11] (гены группы 2).

Проведенный с использованием ПО Haploview 4.2 анализ не выявил отклонений от равновесия Харди–Вайнберга ($p > 0.01$) для всех исследуемых SNP ни у пациентов с ВВО, ни в контрольной группе.

Полученные в настоящей работе данные по ассоциации с ВВО носительства отдельных аллелей и генотипов риска полиморфных участков генов группы 1 – *COMT*, *ADRA1A*, *ADORA2A* и

Таблица 2. Ассоциация с риском ВВО носительства аллелей и генотипов полиморфных участков генов, продукты которых участвуют в нейрогуморальной передаче сигналов (гены группы 1)

Аллели/генотипы	Данные настоящей работы (175 больных ВВО и 200 контролей)		Данные из [10] (157 больных ВВО и 161 контроль)**	
	Частота носительства, случай/контроль	Величина p (p_{perm})* [ОШ (95%ДИ)]	Частота носительства, случай/контроль	Величина p [ОШ (95%ДИ)]
<i>COMT*G</i> (<i>G/G + A/G</i>)	0.78/0.64	0.0015 (0.018) [2.04 (1.29–3.24)]	0.78/0.64	0.0050 [1.96 (1.2–3.22)]
<i>ADRA1A*G/G</i>	0.63/0.49	0.0041 (0.047) [1.78(1.18–2.69)]	0.62/0.50	0.020 [1.64 (1.05–2.56)]
<i>ADORA2A*C/C</i>	0.42/0.29	0.0056 [1.78 (1.16–2.72)]	0.41/0.30	0.0079 [1.83 (1.14–2.93)]
<i>ADRB1*G</i> (<i>G/G + C/G</i>)	0.69/0.57	0.009 [1.70 (1.11–2.61)]	0.68/0.58	0.027 [1.61 (1.02–2.55)]

Примечание. * – в скобках представлены величины p_{perm} , если они достигают уровня значимости (<0.05); ** – для сопоставления с данными настоящей работы результаты исследования [10] оценены с использованием одностороннего критерия Фишера.

Таблица 3. Результаты анализа эпистатических взаимодействий между компонентами ассоциированных с ВВО биаллельных сочетаний исследованных генов

Биаллельные сочетания	Частота носительства, случай/контроль	Величина p (p_{perm})* [ОШ (95%ДИ)]	Величина p_{FLINT} [ФС (95%ДИ)]
а) Совместное носительство вариантов генов, продукты которых участвуют в нейрогуморальной передаче сигналов (группа 1)			
<i>COMT</i> * <i>G</i> (<i>G/G</i> + <i>A/G</i>) + <i>ADORA2A</i> * <i>C/C</i>	0.33/0.15	0.000032 (0.00041) [2.78 (1.69–4.59)]	НЗ
<i>COMT</i> * <i>G</i> (<i>G/G</i> + <i>A/G</i>) + <i>NOS3</i> * <i>T</i> (<i>T/T</i> + <i>C/T</i>)	0.73/0.56	0.00031 (0.004) [2.18 (1.40–3.37)]	0.043 [5.42 (1.16–25.4)]
<i>ADRA1A</i> * <i>A</i> (<i>A/A</i> + <i>A/G</i>) + <i>ADORA2A</i> * <i>T</i> (<i>T/T</i> + <i>C/T</i>)	0.20/0.38	0.00014 (0.002) [0.42 (0.26–0.67)]	НЗ
б) Совместное носительство варианта гена группы 1 и варианта гена, локализованного в области 2q32.1 (группа 2)			
<i>ADRA1A</i> * <i>G/G</i> + rs12465214* <i>A</i> (<i>A/A</i> + <i>A/C</i>)	0.48/0.31	0.0002 (0.0025) [2.18 (1.43–3.32)]	0.01 [3.52 (1.42–8.74)]
<i>COMT</i> * <i>G</i> (<i>G/G</i> + <i>A/G</i>) + rs12465214* <i>A</i> (<i>A/A</i> + <i>A/C</i>)	0.52/0.32	0.000051 (0.00066) [2.33 (1.53–3.54)]	НЗ
<i>ADRA1A</i> * <i>A</i> (<i>A/A</i> + <i>A/G</i>) + rs17582219* <i>A</i> (<i>A/A</i> + <i>A/G</i>)	0.29/0.47	0.00024 (0.0030) [0.46 (0.30–0.70)]	0.025 [0.16 (0.037–0.70)]
<i>COMT</i> * <i>A/A</i> + rs17582219* <i>A</i> (<i>A/A</i> + <i>A/G</i>)	0.16/0.34	0.000026 (0.00034) [0.36 (0.22–0.59)]	0.0053 [0.11 (0.023–0.53)]

Примечание. НЗ – не значимо; * – в скобках после величины p представлены величины p_{perm} , если они достигают уровня значимости (<0.05).

ADRB1 (табл. 2) полностью подтвердили результаты, полученные нами ранее на меньшей выборке [10]. Увеличение размеров выборки больных со 157 до 175 человек и здоровых индивидов со 161 до 200 человек, не повлияв на частоты носительства найденных аллелей риска, привело к возрастанию уровня значимости ассоциаций. Значения p улучшились в диапазоне до почти 5-кратного, а результаты для вариантов генов *COMT* и *ADRA1A* стали выдерживать пермутационный тест.

В табл. 3 представлены найденные с помощью мультилокусного анализа ассоциированные с ВВО биаллельные сочетания исследованных SNP и результаты оценки характера взаимодействий между компонентами этих сочетаний. Для сочетания *COMT***G*+ *NOS3***T*, выявление которого в работе [10] позволило показать участие гена *NOS3* в формировании предрасположенности к ВВО, наблюдали эпистатический характер взаимодействия между компонентами: $p_{FLINT} = 0.043$; ФС (95%ДИ) = 5.42 (1.16–25.4) (табл. 3,а).

Обнаружено четыре биаллельных сочетания, содержащие вариант гена, продукт которого

участвует в нейрогуморальной передаче сигналов (группа 1), совместно с вариантом, локализованным в области 2q32.1 (группа 2) (табл. 3,б). Аллель rs12465214**A* входил в два сочетания, предрасполагающих к ВВО – одно с генотипом *ADRA1A***G/G* ($p_{perm} = 0.0025$, ОШ = 2.18, 95%ДИ: 1.43–3.32) и второе – с аллелем *COMT***G* ($p_{perm} = 0.00066$, ОШ = 2.33, 95%ДИ: 1.53–3.54). Аллель rs17582219**A* был выявлен в составе двух протективных сочетаний с “зеркальными” вариантами тех же генов: с аллелем *ADRA1A***A* ($p_{perm} = 0.003$, ОШ = 0.46, 95%ДИ: 0.30–0.70) и с генотипом *COMT***A/A* ($p_{perm} = 0.00034$, ОШ = 0.36, 95%ДИ: 0.22–0.59). Эпистатическое взаимодействие наблюдалось между компонентами всех этих сочетаний, за исключением *COMT***G* + rs12465214**A*.

ОБСУЖДЕНИЕ

Подход к анализу генетической предрасположенности к полигенным заболеваниям, основанный на анализе ассоциации признака с носительством сочетаний вариантов генов [15], показал свою высокую информативность благодаря повышению статистической мощности исследова-

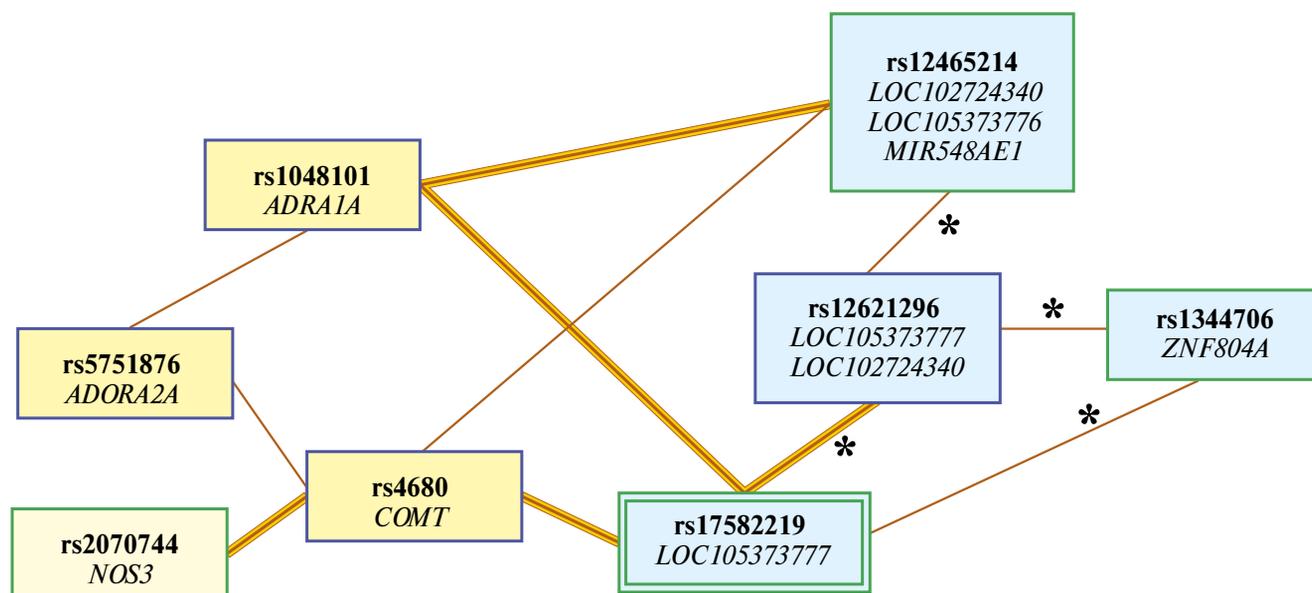


Рис. 1. Схематическое изображение биаллельных сочетаний полиморфных участков различных генов, ассоциированных с ВВО. Каждое сочетание изображено в виде пары SNP как прямоугольники, соединенные оранжевыми линиями; тройные линии связывают компоненты эпистатических сочетаний, одинарные линии – компоненты сочетаний, эпистаза между которыми не обнаружено. Звездочка около линии означает, что сочетание описано в работе [11]. Желтые прямоугольники – SNP в генах, продукты которых участвуют в нейрогуморальной регуляции (группа 1), голубые – SNP, расположенные на хромосоме 2 в локусе 2q32.1 (группа 2). В зеленой рамке – SNP, ассоциация которых с ВВО была показана только в составе сочетаний, в синей рамке – еще и в одиночку.

ния [12]. Использование мультилокусного анализа, реализованного в ПО APSampler, позволяет выявлять сочетанные ассоциации вариантов нескольких генов благодаря кумулятивному эффекту между аллелями этих генов и вычленять из числа сочетаний те, компоненты которых эпистатически взаимодействуют между собой. Этот подход был применен нами ранее при анализе ассоциации с ВВО SNP в составе генов, продукты которых участвуют в нейрогуморальной передаче сигналов [10], а также SNP в области 2q32.1 [11]. В обеих работах он позволил пополнить список генов, вовлеченных в развитие ВВО, за счет генов, ассоциацию которых с заболеванием выявляли только в составе сочетаний.

В настоящем исследовании на выборке больных ВВО и здоровых контролей, для которой ранее исследовали ассоциацию с ВВО биаллельных сочетаний генов группы 2 [11], анализировали взаимодействие генов обеих групп. Для этого SNP группы 1 были протипированы у всех индивидов, включенных в анализ генов группы 2. Увеличение размеров выборок, использованных в работе [10] (157 больных и 161 контролей), до 175 больных и 200 контролей не отразилось на частотах носительства найденных аллелей риска

и привело, согласно данным табл. 2, к возрастанию уровня значимости для всех четырех ассоциированных с ВВО вариантов генов группы 1 (величина p уменьшилась в диапазоне от 1.41 до 4.88 раз). Для анализа причин, приведших к такому изменению значений p , мы оценили статистическую мощность выявления ассоциации этих вариантов в обеих выборках при использовании точного одностороннего критерия Фишера. Изменения мощности исследования оказались достаточными для объяснения полученных результатов. Так, для носительства аллеля $COMT^*G$, который при увеличении размера выборки характеризуется возрастанием уровня значимости в 3.3 раза, статистическая мощность возросла с 0.75 до 0.90.

На рис. 1 представлено схематическое изображение 11 ассоциированных с ВВО биаллельных сочетаний полиморфных участков исследованных нами генов, из которых 5 оказались эпистатическими. В 4 из 5 выявленных эпистатических взаимодействий вовлечены SNP группы 2 – rs17582219, rs12621296 и rs12465214 на хромосоме 2, продуктами ближайших генов которых являются неохарактеризованные некодирующие РНК (нкРНК) LOC105373777, LOC102724340

и LOC105373776; rs12465214 локализован еще и рядом с геном *MIR548AE1*, кодирующим микроРНК 548ae-1 (см. табл. 1). Между этими тремя SNP выявлено значительное сцепление ($D' < 1$, $LOD > 2$) [11]. Эти данные могут указывать на вовлечение в развитие ВВО перечисленных некодирующих генов.

SNP rs1344706, локализованный в интроне 2 гена *ZNF804A*, не входит ни в одно из эпистатических сочетаний. Согласно [11], этот участок очень слабо сцеплен с rs12465214 ($D' < 1$, $LOD < 2$), а с rs17582219 и rs12621296 его сцепления не наблюдалось. Напротив, rs17582219 ассоциирован с ВВО в составе трех эпистатических пар, что может указывать на центральную роль гена *LOC105373777* в наблюдаемых взаимодействиях.

Мы обнаружили единственное эпистатическое сочетание *COMT*G + NOS3*T*, включающее два белок-кодирующих гена, продукты которых участвуют в нейрогуморальной передаче сигналов (группа 1). Это сочетание предрасполагает к развитию ВВО (см. табл. 3а); согласно [9], наличие эпистаза между его компонентами скорее всего связано со свойствами этих конкретных аллелей, а не локусов в целом.

Продукт гена *COMT* – фермент катехол-*O*-метил-трансфераза – участвует в метаболизме адреналина и норадреналина [16]. У носителей аллеля rs4680 *COMT*G* (Val158) повышена активность катехол-*O*-метилтрансферазы [17], что может вследствие распада катехоламинов приводить к уменьшению активации адренорецепторов и, как следствие, к снижению АД и ЧСС. Продукт гена *NOS3* – эндотелиальная синтаза оксида азота (eNOS) – участвует в синтезе одного из основных вазодилататоров – оксида азота NO [18]. У носителей аллеля rs2070744 *NOS3*T* наблюдается повышенная экспрессия гена [19] и более высокий уровень NO в плазме крови [20], что способствует вазодилатации и снижению АД. В хорошем соответствии с данными литературы, мы показали, что аллель rs4680 *COMT*G* является фактором риска ВВО (см. табл. 2), однако значимых ассоциаций ВВО с носительством аллеля rs2070744 *NOS3*T* поодиночке мы не наблюдали. В то же время, присутствующие в обнаруженном нами предрасполагающем сочетании *COMT*G + NOS3*T* аллели не только оказывают однонаправленное влияние на ключевые звенья патогенеза ВВО – снижение тонуса сосудов, ЧСС и АД, но и, согласно нашим данным, находятся в эпистатическом взаимодействии.

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что ВВО имеет четкую генетическую архитектуру, подтверждая заключение, сделанное для объединенной группы синкопе и коллапса [8], однако два списка ассоциированных SNP пересекаются только для rs12465214, локализованного в области 2q32.1. При этом мы наблюдали существенный вклад эпистаза между выбранными нами кандидатными генами в развитие ВВО. Необходимы дальнейшие исследования, чтобы установить, распространяется ли это положение на другие гены, участвующие в формировании генетической предрасположенности к ВВО. Привлекательно предположить, что гены некодирующих РНК, локализованные на хромосоме 2, прямо или опосредованно (через каскады взаимодействий) участвуют в регуляции активности генов, образующих с ними эпистатические пары.

Исследование выполнено в рамках Государственного задания ФГБУ “Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии им. академика Е.И. Чазова” Минздрава России (№ 121031300196-1).

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики.

От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Brignole M., Moya A., de Lange F.J. et al. ESC Scientific Document Group. 2018 ESC Guidelines for the diagnosis and management of syncope // European Heart J. 2018. Vol. 39. P. 1883–1948. <https://doi.org/10.5603/KP.2018.0161>
2. Brignole M., Moya A., de Lange F.J. et al. Рекомендации ЕОК по диагностике и лечению синкопальных состояний 2018 // Росс. кардиол. журнал. 2019. Т. 24. № 7. С. 130–194. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2019-7-130-194>
3. Buszko K., Kujawski S., Newton J.L., Zalewski P. Hemodynamic response to the head-up tilt test in patients with syncope: a predictor of the test outcome: A meta-analysis

- approach // *Front. Physiology*. 2019. V. 10. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00184>
4. *Dockx K., Avau B., De Buck E. et al.* Physical manoeuvres as a preventive intervention to manage vasovagal syncope: A systematic review // *PLoS One*. 2019. V. 14. № 2. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212012>
 5. *Matveeva N., Titov B., Bazyleva E. et al.* Towards understanding the genetic nature of vasovagal syncope // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. № 19. <https://doi.org/10.3390/ijms221910316>
 6. *Benditt D.G., van Dijk J.G., Krishnappa D. et al.* Neurohormones in the Pathophysiology of Vasovagal Syncope in Adults // *Front. Cardiovascular Med.* 2020. V. 7. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2020.00076>
 7. *Hadji-Turdeghal K., Andreassen L., Hagen C.M. et al.* Genome-wide association study identifies locus at chromosome 2q32.1 associated with syncope and collapse // *Cardiovascular Res.* 2020. V. 116. № 1. P. 138–148. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvz106>
 8. *Aegisdottir H.M., Thorolfsdottir R.B., Sveinbjornsson G. et al.* Genetic variants associated with syncope implicate neural and autonomic processes // *European Heart J.* 2023. V. 44. № 12. P. 1070–1080. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehad016>
 9. *Phillips P.C.* Epistasis—the essential role of gene interactions in the structure and evolution of genetic systems // *Nat. Rev. Genetics*. 2008. V. 9. № 11. P. 855–867. <https://doi.org/10.1038/nrg2452>
 10. *Titov B., Matveeva N., Kulakova O. et al.* Vasovagal syncope Is associated with variants in genes involved in neurohumoral signaling pathways // *Genes (Basel)*. 2022. V. 13. № 9. <https://doi.org/10.3390/genes13091653>
 11. *Матвеева Н.А., Титов Б.В., Базылева Е.А. и др.* Ассоциация полиморфных вариантов генома в области 2q32.1 с развитием вазовагальных обмороков // *Мол. биология*. Т. 57. № 5. С. 827 – 832.
 12. *Favorov A.V., Andreewski T.V., Sudomoina M.A. et al.* A Markov chain Monte Carlo technique for identification of combinations of allelic variants underlying complex diseases in humans // *Genetics*. 2005. V. 171. P. 2113–2121. <https://doi.org/10.1534/genetics.105.048090>
 13. APSampler. – URL: <http://apsampler.sourceforge.net/>
 14. *Barsova R.M., Lvovs D., Titov B.V. et al.* Variants of the coagulation and inflammation genes area replicably associated with myocardial infarction and epistatically interact in Russians // *PLoS One*. 2015. V. 10. № 12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144190>
 15. *Lvovs D., Фаворова О.О., Фаворов А.В.* Полигенный подход к исследованиям полигенных заболеваний // *Acta Naturae*. 2012. Т. 4. № 3 (14). С. 62–75 <https://doi.org/10.32607/20758251-2012-4-3-59-71>
 16. *Benarroch E.E.* The autonomic nervous system: Basic anatomy and physiology // *CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology*. 2007. V. 13. P. 13–32. <https://doi.org/10.1212/01.CON.0000299964.20642.9a>
 17. *Chen J., Lipska B.K., Halim N. et al.* Functional analysis of genetic variation in catechol-O-methyltransferase (COMT): Effects on mRNA, protein, and enzyme activity in postmortem human brain // *Am. J. Human Genetics*. 2004. V. 75. № 5. P. 807–821. <https://doi.org/10.1086/425589>
 18. *Vanhoutte P.M.* Nitric oxide: From Good to bad // *Ann. Vasc. Diseases*. 2018. V. 1. № 1. P. 41–51. <https://doi.org/10.3400/avd.ra.17-00134>
 19. *Augeri A.L., Tsongalis G.J., Van Heest J.L. et al.* The endothelial nitric oxide synthase –786 T > C polymorphism and the exercise-induced blood pressure and nitric oxide responses among men with elevated blood pressure // *Atherosclerosis*. 2009. V. 204. № 2. P. e28–34. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2008.12.015>
 20. *Ikenouchi-Sugita A., Yoshimura R., Kishi T. et al.* Three polymorphisms of the eNOS gene and plasma levels of metabolites of nitric oxide in depressed Japanese patients: A preliminary report // *Human Psychopharmacology*. 2011. V. 26. № 7. P.531–534. <https://doi.org/10.1002/hup.1239>

SEARCH FOR EPISTATICALLY INTERACTING GENETIC VARIANTS THAT ARE ASSOCIATED WITH VASOVAGAL SYNCOPE WITHIN BIALLELIC COMBINATIONS

B. V. Titov^{1,2}, N. F. Matveeva^{1,2}, E. A. Bazyleva¹, A. V. Pevzner¹, O. O. Favorova^{1,2,*}

¹*Chazov National Medical Research Center of Cardiology, Moscow, 121552 Russia*

²*Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, 117997 Russia*

**e-mail: olga.favorova@gmail.com*

The most common cause of transient loss of consciousness is vasovagal syncope (VVS), which occurs due to hypoperfusion of the brain due to the interruption of vegetative blood circulation control leading to arterial hypotension. It is known that there is a genetic predisposition to VVS, but the data on the role of individual genes are quite inconsistent. Using APSampler software, which based on a Markov chain Monte Carlo technique and Bayesian nonparametric statistics, we identified biallelic combinations associated with VVS and investigated the nature of interaction between their components. We used the previously obtained results of genomic typing of single nucleotide polymorphisms (SNPs) of 5 genes, the products of which are involved in neurohumoral regulation, and 4 SNPs within locus 2q32.1, supplemented with data for new individuals included in the study. The total sample included 175 patients with a confirmed diagnosis of VVS and 200 control individuals without a history of syncope. Eleven pairwise combinations of SNPs of different genes were found to be associated with VVS. Five of these combinations were epistatic, four of which included SNPs at the 2q32.1 locus located within or near noncoding RNA genes. It is suggested that genes of noncoding RNAs localized on chromosome 2 may directly or indirectly (through cascades of interactions) participate in the regulation of the activity of genes forming epistatic combinations with them.

Keywords: genetic polymorphism, epistatic interaction, genetic predisposition, syncope, vasovagal syncope.