

# Первые результаты секвенирования панели генов при внезапной сердечной смерти молодых мужчин

Максимов В.Н.<sup>1,2</sup>, Иванощук Д.Е.<sup>1</sup>, Орлов П.С.<sup>1</sup>, Иванова А.А.<sup>1</sup>, Малютина С.К.<sup>1,2</sup>,  
Максимова С.В.<sup>2</sup>, Родина И.А.<sup>3</sup>, Хамович О.В.<sup>3</sup>, Новосёлов В.П.<sup>2,3</sup>

- 1 — Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины - филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» 630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1
- 2 — ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации 630091, г. Новосибирск, Красный проспект, д. 52
- 3 — ГБУЗ Новосибирской области «Новосибирское областное клиническое бюро судебно-медицинской экспертизы» 630087, г. Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, д. 134

Цель исследования: поиск причинных мутаций в генах-кандидатах внезапной сердечной смерти (ВСС) у мужчин, умерших в возрасте до 45 лет. Группа ВСС (30 образцов) была сформирована с использованием критериев ВСС ВОЗ и Европейского общества кардиологов. Средний возраст  $31,3 \pm 5,3$  года. Геномную ДНК выделяли из ткани миокарда методом фенол-хлороформной экстракции. Выполнили секвенирование клинического экзоста. На первом этапе проанализировали результаты секвенирования 16 генов, мутации в которых приводят к ССЗ, ассоциированным с повышенным риском ВСС: *KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*, *AKAP9*, *ANK2*, *CACNA1C*, *CALM1*, *CALM2*, *CAV3*, *KCNE1*, *KCNE2*, *KCNJ2*, *KCNJ5*, *SCN4B*, *SNTA1*, *SCN10A*. Из 30 образцов с ВСС при анализе результатов секвенирования 16 генов было обнаружено 6 вероятно патогенных миссенс-мутаций в 7 образцах (23,3 %). В гене *SCN10A* обнаружено 2 мутации, в *KCNH2*, *KCNE1*, *AKAP9*, *SNTA1* – по одной мутации. Подводя первые итоги пилотного исследования ВСС можно сделать следующие предварительные выводы: необходимо продолжение исследований в области молекулярной аутопсии в России, для повышения результативности поиска причинных мутаций, желательны снижение возраста случаев ВСС включаемых в исследование, а также работа с семьями умерших ВСС.

**Ключевые слова:** внезапная сердечная смерть, мутация, NGS, панель генов, экзост

**Для цитирования:** Максимов В.Н., Иванощук Д.Е., Орлов П.С., Иванова А.А., Малютина С.К., Максимова С.В., Родина И.А., Хамович О.В., Новосёлов В.П. Первые результаты секвенирования панели генов при внезапной сердечной смерти молодых мужчин. *Медицинская генетика* 2020; 19(5): 36-38.

**DOI:** 10.25557/2073-7998.2020.05.36-38

**Автор для корреспонденции:** Максимов В.Н., e-mail: medik11@mail.ru

**Финансирование.** Работа поддержана грантом РФФИ № 17-29-06026, а также частично бюджетными проектами № 0324-2016-0002 и № 0120.0502961.

**Конфликт интересов.** Автор декларирует отсутствие конфликта интересов.

**Поступила:** 20.05.2020

## The first results of gene panel sequencing in sudden cardiac death in young men

Maksimov V.N.<sup>1,2</sup>, Ivanoshchuk D.E.<sup>1</sup>, Orlov P.S.<sup>1</sup>, Ivanova A.A.<sup>1</sup>, Malyutina S.K.<sup>1,2</sup>,  
Maksimova S.V.<sup>2</sup>, Rodina I.A.<sup>3</sup>, Khamovich O.V.<sup>3</sup>, Novoselov V.P.<sup>2,3</sup>

- 1 — Research Institute of Internal and Preventive Medicine -Branch of the Federal State Budget Scientific Institution «The Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences» B. Bogatkova str., 175/1, Novosibirsk, 630089, Russia
- 2 — Novosibirsk State Medical University Krasny prospect, 52, Novosibirsk, 630091, Russia
- 3 — Novosibirsk Regional Clinical Bureau of Forensic Expertise Nemirovich-Danchenko str., 134, Novosibirsk, 630087, Russia

Objective: Search for causal mutations in candidate genes for sudden cardiac death (SCD) in men who die before the age of 45. Materials and methods. The SCD group (30 samples) was formed using the criteria for sudden cardiac death of the WHO and the European Society of Cardiology. The average age is  $31,3 \pm 5,3$  years. Genomic DNA was isolated from myocardial tissue using phenol-chloroform extraction. Clinical exome sequencing was performed. At the first stage, the results of sequencing of 16 genes were analyzed, mutations in which result in CVD associated with an increased risk of SCD: *KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*, *AKAP9*, *ANK2*, *CACNA1C*, *CALM1*, *CALM2*, *CAV3*, *KCNE1*, *KCNE2*, *KCNJ5*, *KCNJ5*, *SNTA1*, *SCN10A*. Results. Of 30 samples with SCD, when analyzing the results of sequencing 16 genes, 6 probably pathogenic missense mutations were found in 7 samples (23.3%). 2 mutations were found in the *SCN10A* gene, one mutation in *KCNH2*, *KCNE1*, *AKAP9*, *SNTA1*. Findings. Summing up the first results of a pilot SCD

study, the following preliminary conclusions can be drawn: it is necessary to continue research in the field of molecular autopsy in Russia, in order to increase the effectiveness of the search for causative mutations, it is desirable to reduce the age of SCD cases included in the study, as well as work with families of deceased SCD.

**Keywords:** sudden cardiac death, mutation, NGS, gene panel, exom

**For citation:** Maksimov V.N., Ivanoshchuk D.E., Orlov P.S., Ivanova A.A., Malyutina S.K., Maksimova S.V., Rodina I.A., Khamovich O.V., Novoselov V.P. The first results of gene panel sequencing in sudden cardiac death in young men. *Medical genetics*. 2020; 19(5): 36-38. (In Rus)

**DOI:** 10.25557/2073-7998.2020.05.36-38

**Corresponding author:** Maksimov V.N., e-mail: medik11@mail.ru

**Funding.** This work was supported by the RFBR grant No. 17-29-06026, as well as partially by budget projects No. 0324-2016-0002 and No. 0120.0502961.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Accepted:** 20.05.2020

Группа ВСС (30 человек) была сформирована с использованием критериев внезапной сердечной смерти ВОЗ и Европейского Общества Кардиологов (возраст от 20 до 45 лет). Аутопсийный материал был набран у внезапно умерших вне лечебно-профилактических учреждений мужчин, жителей г. Новосибирска, подвергшихся судебно-медицинскому исследованию, которое было проведено по стандартному протоколу на базе Новосибирского областного клинического бюро судебно-медицинской экспертизы. Средний возраст мужчин, включенных в группу ВСС составил  $31,3 \pm 5,3$  года. В ходе проведения судебно-медицинского исследования у умерших забиралась ткань миокарда массой 5–10 г, которая в дальнейшем хранилась при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  до этапа выделения ДНК.

Геномную ДНК выделяли модифицированным фенол-хлороформным методом из миокарда мужчин умерших ВСС. Качество анализируемой ДНК оценено с помощью системы капиллярного электрофореза Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Tec.Inc.USA). Полноэкзомный анализ был выполнен на платформе Illumina (Illumina, Calif., USA). Анализ данных секвенирования включал картирование данных на геном человека версии GRCh37 с помощью программы BWA. ПЦР-дубликаты были удалены с помощью PICARD tool. Выявление однонуклеотидных вариантов (SNV) и инсерций-делетий было проведено с использованием набора утилит SAMtools. Аннотация полученных SNV производилась с помощью программы VEP с использованием базы данных GNOMAD. Варианты с частотой встречаемости более 0,01 % и синонимичные варианты были исключены из анализа. При анализе также учитывались данные тестирования *in silico* с помощью программ PolyPhen-2, Mutation Taster, SIFT, PROVEAN. Поиск функционально-значимых замен проводился в первую очередь в генах, ассоциированных с Long QT по данным GeneReviews – *KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*, *AKAP9*, *ANK2*, *CACNA1C*, *CALM1*, *CALM2*, *CAV3*, *KCNE1*, *KCNE2*, *KCNJ2*, *KCNJ5*, *SCN4B*, *SNTA1*, а также в *SCN10A*.

## Результаты

Обнаружено 6 вероятно патогенных миссенс-мутаций в 7 образцах (23,3 %). В гене *SCN10A* обнаружено 3 мутации, в *RYR2* – 2 мутации, в *KCNH2*, *KCNE1*, *AKAP9*, *SNTA1* – по одной мутации. Много это или мало – 23,3 %? А для этого нужно сравнить с другими исследованиями: процент обнаруженных вариантов последовательности ДНК, ассоциированных с ВСС очень сильно варьирует – от 5 до 80%, но в большинстве исследований около 30 %. Изучаемые группы от 10 до 100 человек, очень немного работ с большим количеством участников. Есть исследования, выполненные только на мужчинах, остальные с разной долей женщин (от 1 до 30%). Возраст, умерших, включенных в исследования от 1 года и до 60 лет и старше. В зависимости от возраста исследуемой группы меняется и структура ВСС: во многих случаях это кардиомиопатии и каналопатии, в группах постарше добавляется ишемическая болезнь сердца, а некоторые исследователи включили и поражения аорты, например, в крупнейшее на сегодняшний день исследование, выполненное в США [1]. Авторы выполнили секвенирование полного экзона 600 случаев ВСС у взрослых и 600 контролей. Среди 1200 образцов (ВСС и контроль) авторы идентифицировали 5178 генетических вариантов и классифицировали 14 как патогенные или вероятные патогенные, которые выявили у 15 человек с ВСС (2,5%) и 0% в контроле ( $p < 0,0001$ ). Среди 4525 участников проспективного когортного исследования у 41 (0,9%) был патогенный или вероятный патогенный вариант, и у этих людей риск сердечно-сосудистой смерти был в 3,24 раза выше в течение среднего периода наблюдения 14,3 года ( $p = 0,02$ ). NGS идентифицирует патогенный или вероятный патогенный вариант в небольшой, но потенциально важной подгруппе взрослых погибших от ВСС [1].

В часть исследований помимо умерших включены выжившие и члены семей пробандов. Количество изучаемых генов от 6 до полного экзона. Есть

ещё ряд трудностей: разная пенетрантность и экспрессивность известных мутаций, влияние полиморфизмов в этом же гене (особенно в промоторе), мутации в других генах (олигогенные варианты ВСС), CNV, метилирование. Отдельная проблема — это обнаружение фенотипических признаков наследственной патологии, на ранней стадии развития заболевания. Beauséjour Ladouceur V. и Abrams D.J. полагают, что оптимальной стратегией должен быть всеобъемлющий, многоступенчатый процесс, включающий глубокое фенотипирование пробанда и его кровных родственников, в сочетании с подробным генетическим анализом для выявления причинных мутаций [2]. К сожалению идентификация фенотипических признаков наследственной патологии, на ранней стадии развития заболевания у живых тоже вызывает большие трудности у клиницистов разного профиля. А наследственные заболевания с поражением сердца нередко проявляются при высокой нагрузке, и как следствие, значительная часть случаев ВСС как среди спортсменов, так среди военнослужащих срочного призыва происходит на фоне нераспознанных наследственных заболеваний.

### Выводы

Подводя первые итоги пилотного исследования ВСС можно сделать следующие предварительные выводы: необходимо продолжение исследований в области молекулярной аутопсии в России для повышения результативности поиска причинных мутаций; желательны снижение возраста случаев ВСС включаемых в исследование, а также работа с семьями умерших ВСС для уточнения медицинского анамнеза погибшего, обстоятельств смерти, верификации найденных замен с помощью исследования родственников (клинического, молекулярно-генетического), повышение осведомлённости врачей о наследственных заболеваниях с повышенным риском ВСС

### Литература/ References

1. Khera A.V., Mason-Suares H., Brockman D., et al. Rare Genetic Variants Associated With Sudden Cardiac Death in Adults. *J Am Coll Cardiol.* 2019 Nov 26;74(21):2623–2634. doi: 10.1016/j.jacc.2019.08.1060.
2. Beauséjour Ladouceur V., Abrams D.J.. Whole-Exome Molecular Autopsy After Exertional Sudden Cardiac Death: Not a Panacea but a Step in the Right Direction. *Circ Cardiovasc Genet.* 2016 Jun;9(3):210–212. DOI: 10.1161/CIRCGENETICS.116.001484