

Вариации числа копий гена *ERLIN1* у больных с ишемической болезнью сердца

Слепцов А.А.^{1,3*}, Назаренко М.С.^{1,3}, Барбараш О.Л.², Пузырев В.П.^{1,3}

¹ — НИИ медицинской генетики, Томский НИМЦ, Томск; * alexei.sleptcov@medgenetics.ru

² — Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний»

³ — Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет»

Актуальность. Несмотря на достигнутые успехи в расшифровке генетической компоненты ишемической болезни сердца (ИБС), только малая часть наследуемости заболевания была объяснена. В настоящее время существует небольшой ряд работ, которые изучают вариации по числу копий участков ДНК (copy number variation, CNV) при сердечно-сосудистой патологии. **Цель.** Оценка уровня CNV в хромосомном регионе 10q24.31 (*ERLIN1*) в клетках коронарных артерий и лейкоцитов периферической крови (ЛПК) у больных с ИБС. **Материалы и методы.** Детекция CNV проводилась методом ПЦР в режиме реального времени с использованием TaqMan-зондов в образцах ДНК ЛПК (n = 110) и ДНК атеросклеротических бляшек из коронарных артерий (n = 33) у больных с ИБС, а также в образцах ДНК ЛПК здоровых индивидов (n = 100). Статистический анализ выполнялся с помощью стандартной кривой согласно методу Pfaffl. **Результаты и выводы.** Установлено, что среди больных ИБС амплификации хромосомного региона 10q24.31 (*ERLIN1*) регистрировались в 3% случаев, тогда как у 1% здоровых индивидов обнаружена делеция анализируемого региона. Кроме того, у двух пациентов данная амплификация представлена только в ЛПК, но не в атеросклеротических бляшках коронарных артерий.

Ключевые слова: вариации числа копий участков ДНК, ишемическая болезнь сердца, атеросклероз

Copy number variation of *ERLIN1* in coronary heart disease

Sleptsov A.A.^{1,3*}, Nazarenko M.S.^{1,3}, Barbarash O.L.², Puzyrev V.P.^{1,3}

¹ — Research Institute of Medical Genetics, Tomsk NRMС, Tomsk, Russia; * alexei.sleptcov@medgenetics.ru

² — Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases

³ — National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia

Despite the advances in uncovering of the genetic component of coronary heart disease (CHD), only a small fraction of the heritability of the disease has been explained. Currently, there are relatively few studies of copy number variation (CNV) in cardiovascular diseases. **Aim.** Assessment of the CNVs 10q24.31 (*ERLIN1*) in the cells of the coronary arteries and white blood cells (WBC) in patients with CHD. **Materials and methods.** Detection of the CNVs was performed by qPCR using TaqMan-probes in WBC samples (n = 110) and atherosclerotic plaques of the coronary arteries (n = 33) in patients with CHD, as well as in WBC samples of healthy individuals (n = 100). Statistical analysis was carried out using a standard curve of Pfaffl method. **Results and conclusions.** We found the amplification in 10q24.31 (*ERLIN1*) region in 3% of patients with CHD, whereas deletion was observed in 1% of healthy individuals. In addition, two patients had amplification in analyzed region only in WBC, but not in the atherosclerotic plaques of the coronary arteries.

Key words: Copy Number Variations, Coronary Heart Disease, Atherosclerosis

Введение

За последнее десятилетие полногеномные ассоциативные исследования (GWAS) выявили 153 однонуклеотидных полиморфизмов (SNP), связанных с ишемической болезнью сердца (ИБС), из которых 46 локусов подтверждены в нескольких работах. Тем не менее они объясняют менее 10% наследуемости данного заболевания [1].

Кроме SNP, в геноме человека существует ряд других структурных вариантов, в том числе вариации числа копий участков ДНК (copy number variation — CNV). Размер CNV варьирует от нескольких сотен пар нуклеотидов до нескольких миллионов. Данные варианты занимают 12—18% генома человека и могут содержать гены, изменяя их «дозу» [2, 3]. Несмотря на то, что CNV

являются важным источником генетического разнообразия, их влияние на фенотипическую изменчивость, включая предрасположенность к болезням человека, остается недостаточно изученной. В настоящее время существует небольшой ряд работ, изучающих CNV при сердечно-сосудистой патологии [4].

В предыдущих работах нашего коллектива был оценен спектр и характер CNV в образцах ДНК атеросклеротических бляшек коронарных артерий и лейкоцитов периферической крови (ЛПК) больных с мультифокальным атеросклерозом методом матричной сравнительной геномной гибридизации [5]. Принимая во внимание тот факт, что продукты окисления холестерина играют важную роль в развитии атеросклеротического процесса, в настоящем исследовании для подтвержде-

ния была отобрана CNV, локализованная в хромосомном регионе — 10q24.31. В данном регионе содержится ген *ERLIN1*, белковый продукт которого входит в состав липидных рафтов эндоплазматического ретикулума и участвует во внутриклеточном обмене холестерина [6].

Цель и задачи исследования — оценка уровня CNV в хромосомном регионе 10q24.31 (*ERLIN1*) в клетках коронарных артерий и лейкоцитов периферической крови у больных с ИБС.

Материалы и методы исследования

Группа больных ИБС включала 110 мужчин (средний возраст $56,1 \pm 7,7$ года). В контрольную группу вошли мужчины без клинических симптомов поражения сердечно-сосудистой системы ($n = 100$; средний возраст $50,1 \pm 8,6$ года). Все обследованные были русской национальности. У индивидов были взяты образцы венозной крови. Кроме того, у 33 пациентов были доступны образцы тканей, пораженных атеросклерозом коронарных артерий, полученных в результате аортокоронарного шунтирования. Выделение ДНК из артерий и ЛПК проводилось с использованием наборов QIAamp DNA Micro Kit (Qiagen), согласно протоколу производителя. Все индивиды подписали информированное согласие на проведение исследования.

Детекция CNV проводилась методом количественной ПЦР в режиме реального времени с применением TaqMan проб Hs00986678_cn (*ERLIN1*), а в качестве калибратора использовались TaqMan пробы для гена *RNAse P*. ПЦР выполнялась в трех повторах, согласно протоколу производителя, на приборе AriaMx Realtime PCR (Agilent). Статистический анализ CNV (амплификация, делеция) проводился методом Pfaffl, принимая во внимание эффективность амплификации для каждой пары праймеров [7]. Значения в диапазоне 0,8–1,2 указывали на две копии участка ДНК, менее 0,6 — на уменьшение числа копий, а более 1,4 рассматривались как увеличение числа копий. В качестве референсной ДНК выступала «ДНК мужчины европейского происхождения» (Agilent Euro Male, 5190).

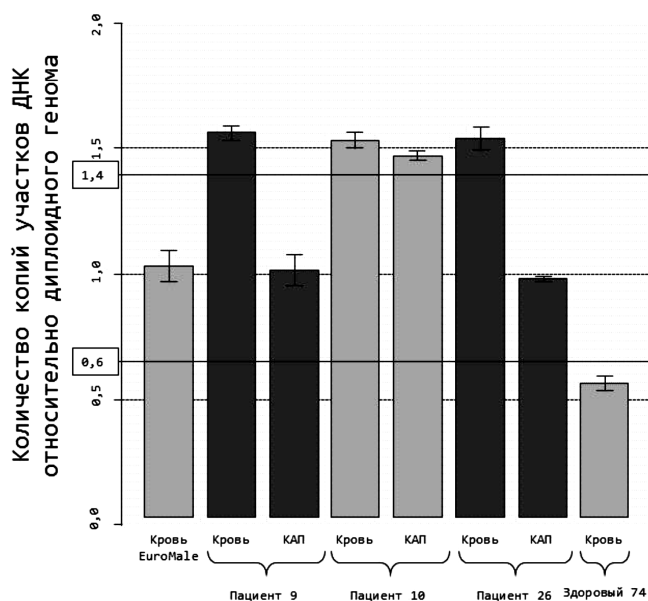
Результаты и обсуждение

Выявлено, что увеличение числа копий участков ДНК в хромосомном регионе 10q24.31 (*ERLIN1*) встречалось в трех случаях (3%), вместе с тем, данная амплификация выявлялась у одного больного и в образцах ДНК атеросклеротически пораженных коронарных артерий, тогда как у двух других нет (рисунок). Интересно, что в контрольной группе в одном случае (1%) установлено уменьшение числа копий в анализируемом хромосомном регионе.

Продукт гена *ERLIN1* является холестерол-связывающим белком, который принимает непосредственное участие в регуляции *SREBP* [8] и входит в качестве ком-

понента липидных рафтов эндоплазматического ретикулума (ЭР) [6]. Белок *ERLIN1* взаимодействует с *ERLIN2* и формирует функциональный комплекс. Как известно, существует корреляция между «дозой» гена и уровнем его экспрессии. Исследование рака молочной железы выявило увеличение числа копий и гиперэкспрессию гена *ERLIN2* в опухолевой ткани [9]. Увеличение экспрессии гена *ERLIN2* приводит к активации ключевого регулятора липогенеза — *SREBP1* и продукции липидных капель в цитоплазме опухолевых клеток молочной железы. Таким образом, функциональную значимость и механизм изменчивости числа копий участков ДНК в хромосомном регионе 10q24.31 (*ERLIN1*) у больных с ИБС необходимо исследовать более детально. Не исключено, что избыток дозы гена *ERLIN1* приводит к увеличению его экспрессии и повышению риска развития сердечно-сосудистой патологии.

Другая интересная находка настоящего исследования заключалась в том, что уровень детекции амплификации в хромосомном регионе 10q24.31 (*ERLIN1*) различался для парных образцов тканей (лейкоциты и артерии). Возможно, что в лейкоцитах у больных ИБС произошло увеличение числа копий анализируемых участков ДНК в результате постзиготических событий. Соматический мозаицизм может иметь как физиологический, так и патологический характер. Как правило, полиморфизм CNV генов иммуноглобулина и рецепторов Т-клеток является физиологическим соматическим мозаицизмом [10]. Однако возникновение в соматических клетках CNV, затрагивающих другие гены, может вносить вклад в риск формирования многофакторных заболеваний [11].



Вариации числа копий участков ДНК в хромосомном регионе 10q24.31 (*ERLIN1*). КАП — коронарные артерии с атеросклеротическими бляшками. Кровь Euro Male — ДНК мужчины европейского происхождения.

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Исследование было проведено при поддержке гранта Российского научного фонда №14-15-00305.

Список литературы

1. Bjorkegren JLM, Kovacic JC, Dudley JT, Schadt EE. Genome-Wide Significant Loci: How Important Are They? *J Am Coll Cardiol.* 2015. 65:830-845.
2. Redon R, Ishikawa S, Fitch KR et al.: Global variation in copy number in the human genome. *Nature.* 2006. 444:444-54.
3. Perry GH, Ben-Dor A, Tsalenko A et al. The Fine-Scale and Complex Architecture of Human Copy-Number Variation. *Am J Hum Genet.* 2008. 82:685-695.
4. Song Z-K, Wu H-D, Cao H-Y, Qin L: The Association between the LPA Gene Polymorphism and Coronary Artery Disease in Chinese Han Population. *Biomed Res Int.* 2014. 2014:370670.
5. Слепцов АА, Назаренко МС, Лебедев ИН, et al. Соматическая вариабельность генома в тканях сосудистой стенки и лейкоцитах периферической крови при атеросклерозе. *Генетика.* 2014. 50:986-995.
6. Browman DT, Resek ME, Zajchowski LD, Robbins SM. Erlin-1 and erlin-2 are novel members of the prohibitin family of proteins that define lipid-raft-like domains of the ER. *J Cell Sci.* 2006. 119(Pt 15):3149-3160.
7. Pfaffl MW. Quantification strategies in real-time PCR. *A-Z Quant PCR.* 2004 (March):87-112.
8. Huber MD, Vesely PW, Datta K, Gerace L. Erlins restrict SREBP activation in the ER and regulate cellular cholesterol homeostasis. *J Cell Biol.* 2013. 203:427-436.
9. Wang L, Wang J. MicroRNA-mediated breast cancer metastasis: from primary site to distant organs. *Oncogene.* 2012. 31:2499-2511.
10. Sebat J. Major changes in our DNA lead to major changes in our thinking. *Nat Genet.* 2007. 39(7 Suppl):S3-5.
11. Santarius T, Shipley J, Brewer D et al. A census of amplified and overexpressed human cancer genes. *Nat Rev Cancer.* 2010. 10:59-64.