



Колоцей Л.В. ✉, Горчакова О.В., Снежицкий В.А.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Значение полиморфизма G84A гена нейрональной синтазы оксида азота в развитии лекарственно-индуцированного синдрома удлиненного интервала QT

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования, сбор материала, статистическая обработка, подготовка текста рукописи – Колоцей Л.В.; выполнение молекулярно-генетических методов исследования, редактирование текста – Горчакова О.В.; концепция и дизайн исследования, редактирование текста – Снежицкий В.А.

Подана: 18.05.2022

Принята: 11.10.2022

Контакты: lkolotsey@mail.ru

Резюме

Цель. Оценить взаимосвязь полиморфизма G84A гена нейрональной NO-синтазы (NOS1) с уровнем нейрональной NO-синтазы плазмы крови и электрокардиографическими показателями реполяризации желудочков, а также риском развития лекарственно-индуцированного синдрома удлиненного интервала QT (СУИ QT) на фоне приема антиаритмических препаратов III класса.

Материалы и методы. В исследование включено 100 пациентов: из них 75 человек (основная группа) – с ишемической болезнью сердца (ИБС) и/или артериальной гипертензией (АГ) и нарушениями ритма сердца, принимавших антиаритмические препараты III класса (амиодарон либо соталол), и 25 (контрольная группа) – с хроническими формами ИБС и/или АГ без анамнеза нарушений ритма сердца. В зависимости от наличия или отсутствия лекарственно-индуцированного СУИ QT пациенты, принимавшие антиаритмические препараты, были разделены на 2 группы – «СУИ QT» (n=45) и «Без СУИ QT» (n=30). Всем пациентам проводились инструментальные, лабораторные и молекулярно-генетические исследования, в том числе определение полиморфизма G84A гена NOS1 с помощью методики полимеразной цепной реакции. Распределение аллелей и генотипов в исследуемых группах пациентов соответствовало равновесию Харди – Вайнберга ($p > 0,05$).

Результаты. У пациентов с лекарственно-индуцированным СУИ QT достоверно чаще встречалась рецессивная аллель А полиморфизма G84A гена NOS1 (42,39%) по сравнению с пациентами без СУИ QT (21,67%, $p = 0,013$), а также участниками контрольной группы (22%, $p = 0,015$). Пациенты с генотипом AA характеризовались достоверно более низким уровнем нейрональной NO-синтазы плазмы крови ($p = 0,045$), а также увеличением продолжительности скорректированных интервалов QT, JT и их дисперсии ($p < 0,05$) по сравнению с пациентами с генотипом GG. Риск развития лекарственно-индуцированного СУИ QT на фоне приема антиаритмических препаратов III класса ассоциирован с наличием генотипа AA (OR=1,74, 95% ДИ 1,13–2,71) и аллели А (OR=1,66, 95% ДИ 1,24–2,22) полиморфизма G84A гена NOS1.



Выводы. Установлено статистически значимое преобладание рецессивной аллели А полиморфного варианта G84A гена NOS1 у пациентов с СУИ QT по сравнению с пациентами без СУИ QT и контрольной группой ($p < 0,05$). Пациенты с наличием рецессивной аллели А и гомозиготного генотипа AA полиморфизма G84A гена NOS1 имеют повышенный риск развития лекарственно-индуцированного СУИ QT, вызываемого приемом антиаритмических препаратов III класса, что может учитываться при дифференцированной терапии пациентов с нарушениями ритма сердца.

Ключевые слова: лекарственно-индуцированный синдром удлиненного интервала QT, нейрональная NO-синтаза, генетический полиморфизм G84A, антиаритмические препараты III класса

Liudmila V. Kalatsei ✉, Olga V. Gorchakova, Victor A. Snezhitskiy
Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

Significance of G84A Polymorphism of Neuronal Nitric Oxide Synthase Gene in the Development of Drug-Induced Long QT Syndrome

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: study concept and design, material collection and statistical analysis, text writing – Liudmila V. Kalatsei; molecular genetic research methods, text editing – Olga V. Gorchakova; study concept and design, text editing – Victor A. Snezhitskiy.

Submitted: 18.05.2022

Accepted: 11.10.2022

Contacts: lkolotsey@mail.ru

Abstract

Purpose. To evaluate the relationship of neuronal NO synthase (NOS1) gene G84A polymorphism with plasma neuronal NO synthase levels and electrocardiographic parameters of ventricular repolarization as well as with the risk of drug-induced prolonged QT syndrome (LQTS) against the background of class III antiarrhythmic drugs.

Materials and methods. A total of 100 patients were included in the study: 75 of them (the main group) had coronary artery disease (CAD) and/or arterial hypertension (AH) and heart rhythm disturbances and were administered class III antiarrhythmic drugs (amiodarone or sotalol), and 25 (the control group) had chronic forms of CAD and/or hypertension without history of cardiac arrhythmias. Depending on presence or absence of drug-induced LQTS, patients taking antiarrhythmic drugs were divided into 2 groups: LQTS group ($n=45$) and Non-LQTS group ($n=30$). All patients underwent instrumental, laboratory and molecular genetic testing, including NOS1 gene G84A polymorphism using the polymerase chain reaction technique. The distribution of alleles and genotypes in the studied groups corresponded to the Hardy – Weinberg equilibrium ($p > 0.05$).

Results. Recessive A allele of NOS1 gene G84A polymorphism was significantly more common in patients with drug-induced LQTS (42.39%) if compared with patients without drug-induced LQTS (21.67%, $p=0.013$), as well as with control group patients (22%, $p=0.015$). Patients with AA genotype were characterized by a significantly lower

level of neuronal plasma NO synthase ($p=0.045$), as well as by an increase in duration of corrected QT and JT intervals and their dispersion ($p<0.05$) if compared with patients with GG genotype. The risk of drug-induced LQTS while taking class III antiarrhythmic drugs is associated with the presence of AA genotype ($RR=1.74$, 95% CI 1.13–2.71) and A allele ($RR=1.66$, 95% CI 1.24–2.22) of the G84A polymorphism of the NOS1 gene.

Conclusions. A statistically significant predominance of the recessive allele A of the G84A polymorphic variant of the NOS1 gene was found in patients with LQTS compared with patients without LQTS and patients of control group ($p<0.05$). Patients with recessive A allele and homozygous genotype AA of NOS1 gene G84A polymorphism have an increased risk of developing drug-induced LQTS caused by class III antiarrhythmic drugs, which can be taken into account in differentiated therapy of patients with cardiac arrhythmias.

Keywords: drug-induced long QT syndrome, neuronal NO synthase, genetic polymorphism G84A, class III antiarrhythmic drugs

■ ВВЕДЕНИЕ

Синдром удлиненного интервала QT (СУИ QT) – это потенциально жизнеугрожающая каналопатия, сопровождающаяся удлинением интервала QT на 12-канальной ЭКГ, синкопальными состояниями и высоким риском внезапной сердечной смерти вследствие развития полиморфных желудочковых нарушений ритма, в том числе желудочковой тахикардии (ЖТ) типа «пируэт» [1, 2]. По своей этиологии СУИ QT может быть как врожденным, так и приобретенным, причем последний наиболее часто обусловлен воздействием лекарственных препаратов [3]. В условиях кардиологического стационара самыми распространенными препаратами, способными вызывать удлинение интервала QT, являются антиаритмические препараты III класса по классификации M. Vaughan Williams (амиодарон и соталол) [3, 4].

Многочисленные клинические наблюдения показывают, что прием одних и тех же доз одинаковых антиаритмических препаратов по-разному отражается на продолжительности интервала QT и риске возникновения желудочковых нарушений ритма у разных пациентов. Так, по данным различных исследований, в европейских странах и Индии при назначении антиаритмических препаратов III класса удлинение интервала QT развивается в 1–5% случаев [3, 5, 6]. Согласно результатам А. Исмагилова и соавт., распространенность лекарственно-индуцированного удлинения интервала QT в Российской Федерации составляет 7,5% среди стационарных пациентов и 9,2% среди амбулаторных пациентов [7]. В Республике Беларусь подобные статистические данные отсутствуют.

На сегодняшний день роль молекулярно-генетического компонента в патогенезе лекарственно-индуцированного СУИ QT не подлежит сомнению. Согласно концепции, разработанной D. Roden и соавт., у пациентов с лекарственно-индуцированным СУИ QT существует генетически запрограммированный низкий «резерв реполяризации», т. е. набор генетических мутаций, который не проявляется клинически до контакта с триггерным лекарственным препаратом [8, 9]. Пациенты с исходно низким «резервом реполяризации» сильнее подвержены риску удлинения интервала QT и развития полиморфной ЖТ при воздействии любых причинных факторов, в том числе лекарственных препаратов и электролитных нарушений [9].



Список возможных генов-кандидатов развития лекарственно-индуцированного СУИ QT достаточно обширен и включает не только довольно хорошо изученные гены, кодирующие белки, входящие в состав ионных каналов (KCNQ1, KCNH2, SCN5A и др.), но и гены многих метаболических и физиологических систем, в том числе и системы синтеза оксида азота (NO) [2, 4, 10].

NO – это уникальная молекула, участвующая в широком спектре биологических функций, обеспечивающая нормальное функционирование сердечно-сосудистой системы в физиологических условиях и ее адаптацию в условиях патологии [10–12]. Образование молекулы NO осуществляется из аминокислоты L-аргинина с образованием L-цитруллина при участии ферментов NO-синтаз [11]. К настоящему времени описано три таких фермента: нейрональная NO-синтаза (NOS1), индуцибельная (макрофагальная) NO-синтаза (NOS2) и эндотелиальная NO-синтаза (NOS3) [10].

В 1999 г. Ху и соавт. обнаружили, что NOS1 экспрессируется не только в головном мозге, но и в миокарде и регулирует обратный захват ионов кальция саркоплазматической Ca^{2+} -АТФазой [13]. Известно, что нарушения внутриклеточного гомеостаза кальция играют важную роль в развитии желудочковых нарушений ритма. Основным каналом высвобождения ионов кальция из саркоплазматического ретикулума в кардиомиоцитах является рианодиновый рецептор-2 (RyR2) [14]. Нейрональная NO-синтаза отвечает за S-нитрозилирование кальциевого канала RyR2 [11, 14], а ее дефицит приводит к повышению уровня кальция и возникновению диастолических кальциевых волн. В свою очередь, кальциевые волны ассоциированы с возникновением ранних и отсроченных постдеполяризаций, которые на ЭКГ проявляются в виде удлинения интервала QT и создают потенциальный субстрат для развития полиморфной ЖТ [1, 4, 6].

Ген NOS1 расположен на длинном плече 12-й хромосомы (12q24.22) и включает в себя 33 экзона [15]. К настоящему времени известно более 100 полиморфизмов гена NOS1 [15]. Наиболее полно исследован полиморфизм в экзоне 1с промотора данного гена, проявляющийся заменой гуанина (G) на аденин (A) в 84-м положении нуклеотидной последовательности (rs41279104). По всей вероятности, эта замена вносит свой вклад в уменьшение экспрессии гена NOS1: генотип –84AA и аллель –84A связаны со сниженной на 30% *in vitro* и на 50% *in vivo* экспрессией нейрональной NO-синтазы, что может снижать эффективность реализации ее физиологических эффектов в миокарде [16].

В клинических исследованиях, посвященных изучению данного полиморфизма, наличие рецессивной аллели A было значимо ассоциировано с развитием ишемического инсульта [17], сахарного диабета 1-го типа [19], посттравматического гонартроза [20] и снижением вазодилатации при инфаркте миокарда [24]. Клинических исследований, посвященных взаимосвязи между лекарственно-индуцированным СУИ QT, желудочковыми нарушениями ритма и полиморфизмом G84A гена NOS1, к настоящему времени не проводилось, чем и обусловлена актуальность настоящего исследования.

Нами было высказано предположение о том, что нарушение образования и функций нейрональной NO-синтазы в результате появления функционального полиморфизма G84A в гене NOS1 может быть связано с патогенетическими механизмами развития лекарственно-индуцированного СУИ QT и ассоциировано с развитием желудочковых нарушений ритма у данной категории пациентов.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить взаимосвязь полиморфизма G84A гена NOS1 с уровнем нейрональной NO-синтазы плазмы крови и электрокардиографическими показателями реполяризации желудочков, а также риском развития лекарственно-индуцированного СУИ QT на фоне приема антиаритмических препаратов III класса.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 100 пациентов: из них 75 человек (основная группа) – с ишемической болезнью сердца (ИБС) и/или артериальной гипертензией (АГ) и нарушениями ритма сердца, которые принимали антиаритмические препараты III класса (амиодарон либо соталол), и 25 (контрольная группа) – с хроническими формами ИБС и/или АГ без анамнеза нарушений ритма сердца.

Все пациенты, принимавшие антиаритмические препараты III класса, были разделены на две группы в зависимости от наличия или отсутствия удлинения интервала QT в ответ на прием антиаритмических препаратов. Первую группу («СУИ QT») составили 45 пациентов, из них 27 (60%) женщин и 18 (40%) мужчин, средний возраст – $54,5 \pm 6,6$ года, у которых отмечалось лекарственно-индуцированное удлинение скорректированного интервала QT (Bazett) (свыше 450 мс у мужчин и свыше 470 мс у женщин) на фоне приема антиаритмических препаратов III класса. Во вторую группу («Без СУИ QT») вошли 30 пациентов, из них 14 (46,6%) женщин и 16 (53,4%) мужчин, средний возраст – $55,3 \pm 7,1$ года, без наличия лекарственно-индуцированного СУИ QT. В качестве группы контроля обследованы 25 пациентов с хроническими формами ИБС и/или АГ, из них 11 (44%) женщин и 14 (56%) мужчин, средний возраст – $57,6 \pm 9,2$ года, без анамнеза нарушений ритма сердца и опыта приема антиаритмических препаратов.

В зависимости от наличия либо отсутствия неустойчивой полиморфной ЖТ по данным 24-часового холтеровского мониторирования ЭКГ (ХМ-ЭКГ) на фоне антиаритмической терапии пациенты с лекарственно-индуцированным СУИ QT были дополнительно разделены на 2 подгруппы – «СУИ QT с полиморфной ЖТ» (12 человек) и «СУИ QT без полиморфной ЖТ» (33 человека).

Критериями исключения из исследования были: удлинение интервала QT свыше 450 мс у мужчин и свыше 470 мс у женщин до начала приема антиаритмических препаратов III класса; прием любых ЛС, кроме антиаритмических препаратов III класса (амиодарон или соталол), с подтвержденным либо вероятным риском ЖТ типа «пируэт», внесенных в базу «CredibleMeds»; прием антиаритмических препаратов III класса на амбулаторном этапе (менее 1 месяца до госпитализации в стационар); недавний острый инфаркт миокарда, аортокоронарное шунтирование или коронарная ангиопластика (менее чем за 3 месяца до включения в исследование); гемодинамически значимое поражение коронарных артерий без эффективной реваскуляризации; гипертрофия левого желудочка (индекс Соколова – Лайона > 35 мм); увеличение продолжительности комплекса QRS ≥ 100 мс; постоянная и длительно персистирующая форма фибрилляции предсердий (ФП); 24 часа после восстановления синусового ритма у пациентов с пароксизмальной и персистирующей формой ФП; нарушения атриовентрикулярного проведения (АВ-блокада второй и третьей степени); декомпенсированная патология эндокринной системы; активный воспалительный процесс любой локализации инфекционной, аутоиммунной или другой этиологии,



а также тяжелая соматическая патология с прогнозируемой продолжительностью жизни менее 1 года.

Всем пациентам проводились клинико-лабораторные и инструментальные исследования, включавшие в себя сбор анамнеза, физикальные обследования, запись ЭКГ в 12 отведениях, 24-часовое ХМ-ЭКГ, а также определение концентрации NOS1 в плазме крови методом иммуноферментного анализа.

Молекулярно-генетические методы исследования включали в себя определение полиморфизма G84A гена NOS1 с помощью методики полимеразной цепной реакции. В качестве исследуемого материала для изучения полиморфизма использовали цельную венозную кровь. Выделение геномной ДНК человека проводилось набором реагентов «ДНК-Экстран-1» («Синтол», РФ). Выявление каждого полиморфного варианта G84A гена NOS1 проводили с помощью соответствующего набора реактивов производства «Литех» (РФ). Амплификация ДНК проводилась на амплификаторе Rotor Gene-Q («Qiagen», Германия).

Статистический анализ выполнялся с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 10.0. Количественные данные, распределение которых являлось нормальным (гипотеза о нормальности распределения проверялась при помощи критериев Лиллиефорса и Шапиро – Уилка), приводились в виде $M \pm SD$, где M – среднее значение, SD – стандартное отклонение. Если показатель был распределен по закону, отличному от нормального, то его описательные статистики были представлены как $Me (Q1; Q3)$, где Me – медиана, $Q1$, $Q3$ – 1-й и 3-й квартили соответственно. Сравнение численных показателей между двумя независимыми группами проводилось с использованием непараметрического U-критерия Манна – Уитни. Статистическую значимость различий между качественными характеристиками оценивали при помощи точного критерия Фишера и критерия χ^2 Пирсона. Пороговое значение уровня статистической значимости было принято равным 0,05.

Распределение аллелей и генотипов в исследуемых группах пациентов проверяли на соответствие равновесию Харди – Вайнберга и оценивали с помощью критерия χ^2 . Для оценки ассоциации аллелей и генотипов с риском развития лекарственно-индуцированного СУИ QT рассчитывали относительный риск (ОР) с 95%-ным доверительным интервалом (95% ДИ).

Исследование было выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской декларации. До включения в исследование у всех участников было получено письменное информированное согласие.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

Пациенты исследуемых групп на момент включения в исследование были сопоставимы по полу, возрасту и клинико-нозологической характеристике (наличию и степени АГ, форме ИБС, наличию в анамнезе инфаркта миокарда, функциональному классу ХСН по классификации NYHA) (табл. 1).

Статистически значимые различия в частоте встречаемости нарушений сердечного ритма между первыми двумя группами пациентов и контрольной группой обусловлены критериями включения пациентов в данные группы.

Из антиаритмической терапии пациенты исследуемых групп получали амиодарон либо соталол. В группе «СУИ QT» амиодарон был назначен 29 (64,4%), а соталол –

Таблица 1
Клинико-anamnestическая характеристика пациентов
Table 1
Clinical and anamnesic characteristics of patients

Показатели	Критерии	Группа «СУИ QT» (n=45)	Группа «Без СУИ QT» (n=30)	Контрольная группа (n=25)
Мужчины, n (%)		18 (40%)	16 (53,4%)	14 (56%)
Возраст, лет (M±SD)		54,5±6,6	55,3±7,1	57,6±9,2
ИМТ, кг/м ² (M±SD)		29,3±4,9	29,9±3,9	29,5±4,2
Курение, n (%)		10 (22,2%)	7 (23,3%)	7 (28%)
АГ, n (%)	Нет АГ, n (%)	5 (11,1%)	2 (6,7%)	1 (4%)
	1-я ст., n (%)	8 (17,8%)	8 (26,7%)	6 (24%)
	2-я ст., n (%)	31 (68,9%)	18 (60%)	26 (68%)
	3-я ст., n (%)	1 (2,2%)	2 (4,3%)	1 (4%)
ИБС, n (%)	Нет ИБС, n (%)	5 (11,1%)	5 (16,7%)	2 (8%)
	ИБС: атеросклеротический кардиосклероз, n (%)	6 (13,3%)	3 (10%)	2 (8%)
	Вазоспастическая стенокардия	4 (8,8%)	4 (12,5%)	3 (12%)
	ССН	ФК I, n (%)	9 (20%)	7 (23,3%)
		ФК II, n (%)	19 (42,2%)	10 (33,3%)
		ФК III, n (%)	2 (4,4%)	1 (3,3%)
	ИМ в анамнезе, n (%)	7 (15,6%)	5 (16,7%)	5 (20%)
ФК ХСН, n (%)	ФК 0, n (%)	2 (4,4%)	3 (10%)	1 (4%)
	ФК I, n (%)	25 (55,6%)	14 (46,7%)	13 (52%)
	ФК II, n (%)	15 (33,3%)	11 (36,7%)	10 (40%)
	ФК III, n (%)	3 (6,7%)	2 (6,7%)	1 (4%)
Нарушения ритма, n (%)	Пароксизмальная форма ФП, n (%)	12 (26,7%)*	7 (23,3%)*	–
	Персистирующая форма ФП, n (%)	14 (31,1%)*	12 (40%)*	–
	Частая ЖЭС, n (%)	16 (35,6%)*	12 (40%)*	–
	Эпизоды неустойчивой моно-морфной ЖТ, n (%)	14 (31,1%)*	8 (26,7%)*	–
	Частая наджелудочковая экстрасистолия, n (%)	3 (6,7%)*	3 (10%)*	–

Примечания: * значение $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой; СУИ QT – синдром удлиненного интервала QT; ИМТ – индекс массы тела; АГ – артериальная гипертензия; ИБС – ишемическая болезнь сердца; ССН – стабильная стенокардия напряжения; ФК – функциональный класс; ИМ – инфаркт миокарда; ХСН – хроническая сердечная недостаточность; ФП – фибрилляция предсердий; ЖТ – желудочковая тахикардия; ЖЭС – желудочковая экстрасистолия.

16 (35,6%) пациентам, что значимо не отличалось от показателей группы «Без СУИ QT», 20 пациентов (66,7%) из которой получали амиодарон, а 10 (33,3%) – соталол ($p=0,865$).

Среднесуточные дозировки амиодарона в группе «СУИ QT» составили 339,1 (200; 462) мг, что не носило значимых различий с группой «Без СУИ QT» (315,1 (200; 416) мг, $p=0,761$). Аналогичные особенности были выявлены и для соталола: 150,0 (150; 160) мг в группе «СУИ QT» против 144,8 (120; 160) мг в группе «Без СУИ QT», $p=0,726$.

Процентное соотношение доли препаратов, оказывающих влияние на продолжительность интервала QT, и общего количества применяемых ЛС составило 20,9 (14,3; 25) % в группе «СУИ QT» и 19,3 (14,3; 24,3) % в группе «Без СУИ QT» ($p=0,711$).

Таблица 2

Распределение частот генотипов и аллелей полиморфизма G84A гена NOS1 (абс./%)

Table 2

Distribution of genotypes and alleles frequencies of NOS1 gene G84A polymorphism (abs./%)

Показатель	Частота (абс./%)	
	абс.	%
Генотип (n=100)		
GG	50	50
GA	39	39
AA	11	11
Аллель (n=200)		
G	139	69,5
A	61	30,5

Распределение частот генотипов и аллелей по полиморфизму G84A гена NOS1 представлено в табл. 2. Так, установлено, что в исследуемой выборке доминантная аллель G встречалась в 69,5% случаев, а рецессивная аллель А – в 30,5% случаев. Распределение соответствовало равновесию Харди – Вайнберга ($\chi^2=0,64$, $p=0,73$).

При изучении частоты распределения генотипов и аллелей полиморфизма G84A среди пациентов исследуемых групп (табл. 3) нами было установлено, что в группе пациентов с лекарственно-индуцированным СУИ QT достоверно чаще встречалась рецессивная аллель А (42,39%) по сравнению с пациентами группы «Без СУИ QT» (21,67%, $p=0,013$), а также контрольной группы (22%, $p=0,015$). В группе пациентов с лекарственно-индуцированным СУИ QT достоверно реже по сравнению с другими группами пациентов встречался генотип GG ($p<0,05$), а также наблюдалась тенденция к более высокой встречаемости генотипов AA и GA, однако она не достигла критериев статистической значимости. Следует отметить, что у пациентов без наличия удлинения интервала QT и пациентов контрольной группы распределение частот

Таблица 3

Распределение частот генотипов и аллелей полиморфизма G84A гена NOS1 по группам пациентов (абс./%)

Table 3

Distribution of genotypes and alleles frequencies of NOS1 gene G84A polymorphism by groups of patients (abs./%)

Показатель	Частота (абс. и %)						p 1/2	p 1/3	p 2/3
	«СУИ QT» (n=45)		«Без СУИ QT» (n=30)		«Без ААТ» (n=25)				
	абс.	%	абс.	%	абс.	%			
Генотип									
GG	16	33,33	19	63,33	15	60	0,017	0,022	0,960
GA	21	48,89	9	30	9	36	0,151	0,212	0,898
AA	8	17,78	2	6,67	1	4	0,298	0,143	0,949
Аллель									
G	51	57,61	47	78,33	39	78	0,013	0,015	0,811
A	39	42,39	13	21,67	11	22			
Соответствие равновесию Хар- ди – Вайнберга	χ²=0,19, p=0,91		χ²=0,41, p=0,82		χ²=0,06, p=0,97		–	–	–

Таблица 4

Распределение частот генотипов и аллелей полиморфизма G84A гена NOS1 среди пациентов группы «СУИ QT» с наличием и без наличия полиморфной ЖТ (абс./%)

Table 4

Distribution of genotypes and alleles frequencies of NOS1 gene G84A polymorphism among the patients of LQTS group with and without polymorphic VT (abs./%)

Показатель	Частота (абс./%)				p
	Подгруппа «СУИ QT с полиморф-ной ЖТ» (n=12)		Подгруппа «СУИ QT без поли-морфной ЖТ» (n=33)		
	абс.	%	абс.	%	
Генотип					
GG	3	25	13	39,39	0,213
GA	7	58,33	14	42,43	0,157
AA	2	16,67	6	18,18	0,491
Аллель					
G	13	54,17	40	60,61	0,428
A	11	45,83	26	39,39	
Соответствие равно-весию Харди – Вайн-берга	χ²=0,37, p=0,83		χ²=0,40, p=0,81		–

генотипов и аллелей не имело статистически значимых различий (p>0,05) и носило сходный характер.

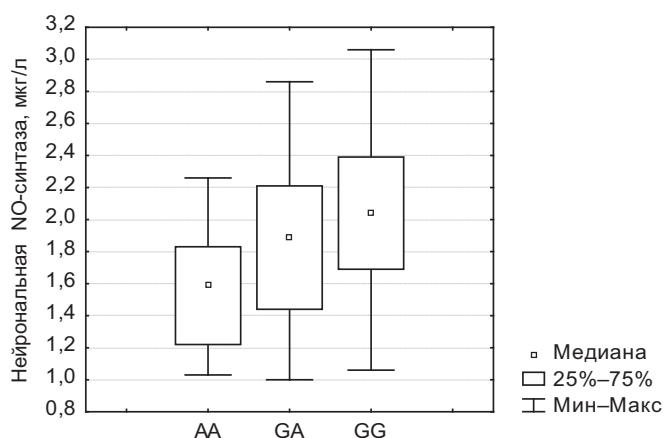
Затем мы провели анализ распределения частот генотипов и аллелей полимор-физма G84A гена NOS1 среди пациентов группы «СУИ QT» с наличием и без наличия полиморфной ЖТ по данным ХМ-ЭКГ (табл. 4). Достоверных межгрупповых различий по распределению генотипов и аллелей в данных подгруппах получено не было.

На следующем этапе исследования все пациенты, принимавшие антиаритмиче-ские препараты III класса (группы «СУИ QT» и «Без СУИ QT»), в зависимости от геноти-па были разделены на три подгруппы: с генотипом GG (n=35), с генотипом GA (n=30), а также с генотипом AA (n=10).

При оценке уровней нейрональной NO-синтазы плазмы крови в полученных подгруппах нами было установлено, что пациенты с генотипом AA характеризуются достоверно более низкими уровнями NOS1 (1,59 (1,29; 1,82) мкг/л) по сравнению с пациентами с генотипом GG (2,01 (1,59; 2,37) мкг/л), p=0,045. Сходная тенденция на-блюдалась и у пациентов с генотипом AA по сравнению с пациентами с генотипом GA (1,91 (1,43; 2,23) мкг/л), однако она не достигала статистически значимых значений (p=0,164) (см. рисунок).

Сравнительная характеристика электрокардиографических показателей пациен-тов на фоне антиаритмической терапии в зависимости от их генотипа приведена в табл. 5.

Как следует из табл. 5, между пациентами с генотипами AA и GG выявлены зна-чимые различия (p<0,05) в большинстве показателей, характеризующих продол-жительность реполяризации миокарда (корригированные интервалы QT и JT), ее гетерогенность (дисперсия интервалов QT и JT), а также баланс реполяризации и деполяризации миокарда (индекс КЭБ и корригированный индекс КЭБ). Статистиче-ски значимые различия между пациентами с генотипами AA и GA были отмечены в



Уровни нейрональной NO-синтазы плазмы крови в зависимости от генотипа пациентов
Neuronal NO synthase plasma levels depending on patient genotype

продолжительности скорректированного интервала JT ($p=0,036$), индексе КЭБ ($p=0,036$) и процентной доле патологической альтернации зубца Т ($p=0,031$). Между пациентами с генотипами GG и GA не было выявлено достоверных различий ни в одном из исследуемых электрокардиографических показателей.

При оценке относительного риска развития у пациентов лекарственно-индуцированного СУИ QT на фоне приема антиаритмических препаратов III класса в зависимости от полиморфного варианта гена NOS1 были получены следующие результаты.

Таблица 5
Сравнительная характеристика электрокардиографических показателей пациентов на фоне антиаритмической терапии в зависимости от генотипа (Me (25%; 75%))

Table 5
Comparative characteristics of electrocardiographic parameters of patients induced by antiarrhythmic therapy depending on genotypes (Me (25%; 75%))

Показатель	Генотип GG (n=35)	Генотип GA (n=30)	Генотип AA (n=10)	p 1–2	p 1–3	p 2–3
Продолжительность интервала QTc (Bazett), мс	437 (399; 462)	454 (422; 482)	503 (470; 537)	0,169	0,022	0,124
Дисперсия интервала QT, мс	63 (53; 75)	68 (52; 76)	85 (63; 89)	0,201	0,052	0,274
Продолжительность интервала JTc (Bazett), мс	355 (310; 380)	365 (337; 392)	403 (380; 457)	0,241	0,005	0,036
Дисперсия интервала JT, мс	57 (49; 69)	64 (50; 73)	78 (59; 84)	0,072	0,036	0,310
Пространственный угол QRS-T, град.	83 (47; 111)	93 (64; 111)	113 (101; 152)	0,350	0,204	0,373
Патологическая альтернация зубца Т, %	30 (25; 37)	22 (12; 37)	36 (25; 50)	0,175	0,286	0,031
Индекс КЭБ (QT/QRS)	5,18 (4,54; 5,67)	5,25 (4,88; 5,52)	6,02 (5,57; 6,67)	0,879	0,005	0,036
Корректированный индекс КЭБ (QTc/QRS)	5,12 (4,49; 5,69)	5,14 (4,65; 5,68)	5,71 (5,17; 6,31)	0,989	0,039	0,086

Примечания: QTc – скорректированный интервал QT; JTc – скорректированный интервал JT; КЭБ – кардиоэлектрофизиологический баланс.

Присутствие рецессивной аллели А в генотипе было связано с увеличением риска развития лекарственно-индуцированного СУИ QT ($OR=1,66$, 95% ДИ 1,24–2,22). Аналогичная зависимость была продемонстрирована и для генотипа АА ($OR=1,74$, 95% ДИ 1,13–2,71).

В то же время присутствие в генотипе аллели G снижало риск развития лекарственно-индуцированного СУИ QT ($OR=0,60$, 95% ДИ 0,45–0,81), как и наличие генотипа GG ($OR=0,55$, 95% ДИ 0,37–0,88). Уровень значимости данных взаимосвязей соответствовал $p<0,05$.

■ ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно литературным данным, частота встречаемости доминантной аллели G полиморфизма G84A гена NOS1 в общемировой популяции составляет около 88%, в то время как частота рецессивной аллели А – 12% [15]. Однако в европейской популяции это соотношение составляет 80% к 20%, в то время как в африканской и латиноамериканской – 93% к 7% [15]. У пациентов без нарушений ритма сердца, составивших контрольную группу в нашем исследовании, распределение частот аллелей соответствовало литературным данным (78% – аллель G, 22% – аллель А), как и у пациентов группы «Без СУИ QT» (78,33% – аллель G и 21,67% – аллель А). В то время как у пациентов с лекарственно-индуцированным СУИ QT частота встречаемости аллели А была достоверно выше (42,39%, $p<0,05$), чем в общей популяции.

Клиническое значение полиморфизма G84A гена NOS1 довольно широко освещено как в российских, так и в зарубежных научных исследованиях, касающихся различных отраслей медицины, что демонстрирует важнейшую роль системы синтеза оксида азота в функционировании всех органов и систем организма.

Так, в работе Е.И. Кондратьевой и соавт. присутствие в генотипе пациентов рецессивной аллели А полиморфизма G84A гена NOS1 повышало риск развития сахарного диабета 1-го типа в 1,49 раза ($p=0,016$) [19]. В исследовании В.В. Внукова и соавт. аллель А вышеуказанного полиморфизма была связана с развитием посттравматического остеоартрита коленного сустава ($OR=2,02$, 95% ДИ 1,80–3,76) [20]. Н.Н. Страмбовская и соавт. обнаружили, что двухлокусная комбинация аллели А полиморфизма G84A гена NOS1 и аллели G полиморфизма 3238C/G гена ApoC3 ассоциирована с риском развития ишемического инсульта ($OR=4,34$, 95% ДИ 2,71–6,95) [17]. В то же время А.В. Шаханов и соавт. не обнаружили статистически значимых различий в распределении генотипов и аллелей полиморфизма G84A у пациентов с АГ и бронхиальной астмой, а также не выявили связи между генотипами пациентов и степенью тяжести изучаемых заболеваний [18].

В зарубежной литературе изучена преимущественно роль полиморфизма G84A гена NOS1 в развитии неврологической патологии, но существенных результатов получено не было. Так, D. Galimberti и соавт. не выявили различий в распределении аллелей и генотипов полиморфизма G84A у пациентов с болезнью Альцгеймера и у здоровых лиц [21]. Т. Okumura и соавт. не обнаружили взаимосвязи между наличием рецессивной аллели А и развитием шизофрении в японской популяции [22], что впоследствии было подтверждено в метаанализе, проведенном S. Ahmed и соавт. [23].

Большой интерес представляет исследование О. Nobrega и соавт., в котором изучалась связь распределения аллелей и генотипов полиморфизма G84A гена NOS1 с концентрацией NO в плазме крови у пациентов с инфарктом миокарда [24].



Так, согласно полученным данным, у пациентов с генотипом AA отмечалась самая низкая концентрация NO на пятые сутки после инфаркта по сравнению с другими генотипами ($p < 0,05$), а также самый незначительный процент поток-опосредованной дилатации коронарных артерий ($p = 0,009$), что свидетельствует о недостаточной степени выработки NO эндотелием [24].

Мы не обнаружили в научной литературе исследований, посвященных роли полиморфизма G84A гена NOS1 у пациентов с нарушениями ритма и проводимости, в связи с чем проведенное нами исследование имеет особую актуальность. Нами впервые было установлено распределение генотипов и аллелей полиморфизма G84A гена NOS1 у пациентов Гродненского региона с лекарственно-индуцированным СУИ QT, а также наличие взаимосвязи между выявленными генотипами, содержанием нейрональной NO-синтазы в плазме крови и электрокардиографическими показателями.

Полученные нами данные подтверждаются фундаментальными исследованиями A. Tieu и соавт. и C. Ronchi и соавт. [14, 25]. Так, в ходе изучения генетически модифицированных кардиомиоцитов морских свинок было обнаружено, что ингибирование функции NOS1 приводило к заметному удлинению потенциала действия, а также увеличению плотности кальциевых каналов L-типа и повышенной предрасположенности к возникновению постдеполяризаций, вызванных нестабильностью функционирования саркоплазматического ретикулума [25].

Кроме того, в кардиомиоцитах, смоделированных из стволовых клеток пациентов с СУИ QT, была снижена экспрессия нейрональной NO-синтазы, а также нарушено взаимодействие между NOS1 и ее адаптерным белком, что приводило к формированию субстрата, необходимого для возникновения полиморфной ЖТ [14].

Наше исследование имело некоторые ограничения. Во-первых, в исследование были включены только пациенты, получавшие антиаритмические препараты III класса (амиодарон и соталол). Во-вторых, размер выборки был ограничен, что могло способствовать переоценке или недооценке величины обнаруженных ассоциаций, а также повлиять на отсутствие статистической значимости полученных межгрупповых различий. В связи с этим полученные результаты требуют уточнения и проверки на более многочисленной и разнородной группе пациентов.

■ ВЫВОДЫ

1. У пациентов с лекарственно-индуцированным СУИ QT достоверно чаще встречалась рецессивная аллель А полиморфизма G84A гена NOS1 (42,39%) по сравнению с пациентами без лекарственно-индуцированного СУИ QT (21,67%, $p = 0,013$), а также участниками контрольной группы (22%, $p = 0,015$). В группе пациентов с СУИ QT достоверно реже по сравнению с другими группами пациентов встречался гомозиготный генотип GG ($p < 0,05$).
2. Пациенты с генотипом AA характеризуются достоверно более низким уровнем нейрональной NO-синтазы плазмы крови ($p = 0,045$), а также увеличением продолжительности скорректированных интервалов QT, JT и их дисперсии ($p < 0,05$) по сравнению с пациентами с генотипом GG.
3. Достоверных межгрупповых различий по распределению генотипов и аллелей в подгруппах пациентов с наличием и без наличия полиморфной ЖТ выявлено не было ($p > 0,05$).

4. Риск развития лекарственно-индуцированного СУИ QT на фоне приема антиаритмических препаратов III класса ассоциирован с наличием генотипа AA (OR=1,74, 95% ДИ 1,13–2,71) и аллели A (OR=1,66, 95% ДИ 1,24–2,22) полиморфизма G84A гена NOS1, что может учитываться при дифференцированной терапии пациентов с нарушениями ритма сердца.
-

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Isbister G.K. (2015) Risk assessment of drug-induced QT prolongation. *Australian prescriber*, vol. 38, no 1, pp. 20–24. Available at: <https://doi.org/10.18773/austprescr.2015.003>
2. Tester D.J., Ackerman M.J. (2014) Genetics of long QT syndrome. *Methodist DeBakey Cardiovascular Journal*, vol. 10, no 1, pp. 29–33. Available at: <https://doi.org/10.14797/mdcj-10-1-29>
3. Golovina A.A., Zafiraki V.K., Kosmacheva E.D. (2020) Drug-induced long QT syndrome. *Journal of Arrhythmology*, vol. 27, no 3, pp. 42–52. Available at: <https://doi.org/10.35336/VA-2020-3-42-52>. (in Russian)
4. Koval'chuk L.S. (2016) Long QT syndrome and its role in the occurrence of complex cardiac arrhythmias and sudden death. *Problems of health and ecology*, vol. 49, no 3, pp. 13–17. (in Russian)
5. Shenthar J., Rachaiah J.M., Pillai V. (2017) Incidence of drug-induced torsades de pointes with intravenous amiodarone. *Indian Heart J*, vol. 69, no 6, pp. 707–713. doi: 10.1016/j.ihj.2017.05.024
6. Arunachalam K., Lakshmanan S., Maan A. (2018) Impact of Drug Induced Long QT Syndrome: A Systematic Review. *J Clin Med Res*, vol. 10, no 5, pp. 384–390. doi: 10.14740/jocmr3338w
7. Ismagilov A.D., Shih E.V., Sizova Zh.M. (2016) Clinical and pharmacological aspects of the use of drugs that affect the QT interval in the elderly. *Clinical gerontology*, vol. 3, no 4, pp. 37–45. (in Russian)
8. Roden D.M. (1998) Taking the "idio" out of "Idiosyncratic": predicting torsades de pointes. *Pacing Clin Electrophysiol: PACE*, vol. 21, no 5, pp. 1029–1034. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1540-8159.1998.tb00148.x>
9. Kalatsei L.V., Snezhitskiy V.A. (2021) Molecular genetic aspects of drug-induced long QT syndrome. *Cardiology in Belarus*, vol. 13, no 4, pp. 616–625. doi: 10.34883/Pl.2021.13.4.010. (in Russian)
10. Haselden W.D., Kedarasetti R.T., Drew P.J. (2020) Spatial and temporal patterns of nitric oxide diffusion and degradation drive emergent cerebrovascular dynamics. *PLoS Comput Biol*, vol. 16, no 7, pp. e1008069. doi: 10.1371/journal.pcbi.1008069
11. Förstermann U., Sessa W.C. (2012) Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J*, vol. 33, no 7, pp. 829–37. Available at: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehs304>
12. Kalatsei L.V., Snezhitskiy V.A. (2021) Genetic variability of the nitric oxide synthesis system in the cardiomyocyte is a new predictor of the development of drug-induced long QT syndrome during antiarrhythmic therapy. *Cardiology in Belarus*, vol. 13, no 6, pp. 998–1009. Available at: <https://doi.org/10.34883/Pl.2021.13.6.013>. (in Russian)
13. Xu K.Y., Huso D.L., Dawson T.M. (1999) Nitric oxide synthase in cardiac sarcoplasmic reticulum. *Proc Natl Acad Sci USA*, vol. 96, no 2, pp. 657–62. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.96.2.657>
14. Tieu A., Akar F.G. (2021) 'Social distancing' of the neuronal nitric oxide synthase from its adaptor protein causes arrhythmogenic trigger-substrate interactions in long QT syndrome. *Cardiovasc Res*, vol. 117, no 2, pp. 338–340. Available at: <https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa179>
15. *NCBI Gene Database [Electronic resource]*. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4842> (accessed 10 May 2022).
16. Miao X., Garcia-Barceló M.M., So M.T. (2010) Lack of association between nNOS –84G>A polymorphism and risk of infantile hypertrophic pyloric stenosis in a Chinese population. *J Pediatr Surg*, vol. 45, no 4, pp. 709–713. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2009.07.067
17. Strambovskaya N.N. (2015) Analysis of the complex carriage of genetic polymorphic variants associated with various types of ischemic stroke. *Acta Biomedica Scientifica*, no 5, pp. 94–99. (in Russian)
18. Shahanov A.V., Nikiforov A.A., Uryas'ev O.M. (2017) Polymorphism of nitric oxide synthase genes (NOS1 84G/A and NOS3 786C/T) in patients with bronchial asthma and hypertension. *I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*, vol. 25, no 3, pp. 378–390. doi: 10.23888/PAVLOVJ20173378-390. (in Russian)
19. Kondrat'eva E.I., Puzyrev V.P., Tarasenko N.V. (2007) Genes of nitric oxide synthases (NOS1, NOS3) in the development of predisposition to type 1 diabetes mellitus. *Diabetes*, vol. 10, no 2, pp. 9–13. Available at: <https://doi.org/10.14341/2072-0351-5789>. (in Russian)
20. Vnukov V.V., Krolevets I.V., Panina S.B. (2015) Association of polymorphic markers of no-synthase genes with the development of post-traumatic gonarthrosis in residents of the Rostov region. *Ecological genetics*, vol. 13, no 3, pp. 15–22. (in Russian)
21. Galimberti D., Scarpini E., Venturilli E. (2008) Association of a NOS1 promoter repeat with Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, vol. 29, no 9, pp. 1359–1365. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2007.03.003
22. Okumura T., Okochi T., Kishi T. (2009) No association between polymorphisms of neuronal oxide synthase 1 gene (NOS1) and schizophrenia in a Japanese population. *Neurol Med*, vol. 11, no 2, pp. 123–127. doi: 10.1007/s12017-009-8068-z
23. Ahmed S.S., Husain R.S., Kumar S. (2017) Association between NOS1 gene polymorphisms and schizophrenia in Asian and Caucasian populations: a meta-analysis. *Neurol Med*, vol. 19, no 2–3, pp. 452–461. doi: 10.1007/s12017-017-8460-z
24. Nobrega O.T., Campos-Staffico A.M., Oliveira E.K. (2021) Nitric oxide synthase gene increases insulin resistance during acute phase of myocardial infarction. *Int J Gen Med*, no 14, pp. 3669–3676. doi: 10.2147/IJGM.S313661
25. Ronchi C., Bernardi J., Mura M. (2021) NOS1AP polymorphisms reduce NOS1 activity and interact with prolonged repolarization in arrhythmogenesis. *Cardiovasc Res*, vol. 117, no 2, pp. 472–483. Available at: <https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa036>