

*Статья поступила в редакцию 20.10.2016 г.*

**Хуторная М.В., Понасенко А.В., Кутихин А.Г., Рутковская Н.В.,  
Цепочкина А.В., Кондюкова Н.В., Южалин А.Е., Барбараш Л.С.**

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия,  
Кафедра онкологии, Оксфордский институт радиационной онкологии, Оксфордский университет,  
Оксфорд, Соединенное Королевство Великобритании и Северной Ирландии*

## **СВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ МЕТАБОЛИЗМА ЛИПИДОВ С РИСКОМ ТЯЖЕЛОЙ КАЛЬЦИФИКАЦИИ КСЕНООРТАЛЬНЫХ БИОПРОТЕЗОВ КЛАПАНОВ СЕРДЦА, ИМПЛАНТИРОВАННЫХ В МИТРАЛЬНУЮ ПОЗИЦИЮ**

**Предмет исследования.** Тяжелая кальцификация ксеноортальных биопротезов клапанов сердца, имплантированных в митральную позицию, часто ведет к функциональной недостаточности биопротеза и является важной проблемой в сердечно-сосудистой хирургии. К сожалению, до настоящего времени практически отсутствуют работы, посвященные генетической восприимчивости к тяжелой кальцификации таких биопротезов.

**Цель** – установить связь полиморфизмов генов метаболизма липидов с риском тяжелой кальцификации ксеноортальных биопротезов клапанов сердца, имплантированных в митральную позицию.

**Материалы и методы.** В исследование было включено 124 пациента, подвергшихся операции по замене митрального клапана. Всего было исследовано шесть полиморфизмов в четырех генах: rs1042031 и rs6725189 (ген APOB), rs7412 и rs429358 (ген APOE), rs1800588 (ген LIPC), rs10455872 (ген LPA). Кроме того, с целью повышения статистической надежности результатов при малой выборке было генотипировано шесть полиморфизмов в пяти генах факторов коагуляции и агрегации тромбоцитов, не имеющих значения для кальцификации биопротезов: rs1799963 (ген F2), rs6025 и rs6027 (ген F5), rs6046 (ген F7), rs5985 (ген F13A1) и rs5918 (ген ITGB3). Генотипирование проводилось в 96-луночном формате по технологии TaqMan (аллель-специфичная полимеразная цепная реакция с флуоресцентной детекцией результата в реальном времени).

**Результаты.** Генотип A/A полиморфизма rs10455872 гена LPA был идентифицирован как независимый предиктор тяжелой кальцификации ксеноортовых биопротезов клапанов сердца, имплантированных в митральную позицию, повышая риск данной патологии более чем в пять раз в сравнении с генотипом A/G. Иных статистически значимых связей выявлено не было.

**Область применения.** Кардиохирургия.

**Выводы.** Полиморфизмы генов метаболизма липидов могут обуславливать генетическую восприимчивость к тяжелой кальцификации биопротезов клапанов сердца.

**Ключевые слова:** биопротезы клапанов сердца; кальцификация; метаболизм липидов; липопротеин(a); генетическая восприимчивость.

**Khutornaya M.V., Ponasenko A.V., Kutikhin A.G., Rutkovskaya N.V., Tsepokina A.V., Kondyukova N.V., Yuzhalin A.E., Barbarash L.S.**

*Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia, Department of Oncology, Cancer Research UK and Medical Research Council Oxford Institute for Radiation Oncology, University of Oxford, Oxford, United Kingdom*

### **RS10455872 POLYMORPHISM WITHIN THE LPA GENE IS ASSOCIATED WITH SEVERE BIOPROSTHETIC MITRAL VALVE CALCIFICATION**

**Background.** Bioprosthetic mitral valves frequently undergo severe calcification causing bioprosthetic valve failure, an urgent problem in cardiovascular surgery. However, no research has been performed on genetic susceptibility to severe bioprosthetic mitral valve calcification.

**Aim** – to assess whether inherited variation in genes of lipid metabolism is associated with severe bioprosthetic mitral valve calcification.

**Materials and methods.** We recruited 124 consecutive patients who underwent mitral valve replacement surgery. We assessed six polymorphisms within the four genes: rs1042031 and rs6725189 (APOB gene), rs7412 and rs429358 (APOE gene), rs1800588 (LIPC gene) and rs10455872 (LPA gene). To perform an additional quality control step, we tested six non-relevant polymorphisms within the genes encoding coagulation factors and integrin beta 3, a protein responsible for platelet aggregation: rs1799963 (F2 gene), rs6025 and rs6027 (F5 gene), rs6046 (F7 gene), rs5985 (F13A1 gene) and rs5918 (ITGB3 gene). Genotyping was carried out in 96-well format using the TaqMan SNP genotyping assay.

**Results.** A/A genotype of the rs10455872 polymorphism within the LPA gene was associated with more than 5-fold increased risk of severe bioprosthetic mitral valve calcification compared to the A/G genotype.

**Conclusion.** Polymorphisms within the lipid metabolism genes may be associated with severe bioprosthetic mitral valve calcification.

**Key words:** bioprosthetic heart valves; calcification; lipid metabolism; lipoprotein(a); genetic susceptibility.

Кальцификация митрального клапана, сопровождающаяся воспалением и отложением липидов, ассоциирована с общими факторами сердечно-сосудистого риска и представляет собой состояние, часто предшествующее стенозу или недостаточности митрального клапана [1]. Единственным эффективным способом лечения данных патологий на поздней стадии на данный момент остается операция по замене клапана [1]. Однако ксеноортовые биопротезы клапанов сердца, имплантированные в митральную позицию, тоже часто подвергаются сильной кальцификации, которая приводит к недостаточности протезного клапана и требует повторной операции по замене протеза [1].

Кальцификация митрального клапана часто носит семейный характер [2], однако геномные марке-

ры кальцификации как нативных, так и протезных клапанов сердца до сих пор практически неизвестны [3]. В то же время их выявление может помочь определить механизмы развития этой патологии, что может помочь в лечении пороков митрального клапана.

Широкое распространение технологий генотипирования привело к появлению исследований, оценивающих связь однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) с различными заболеваниями [4]. ОНП имеют различные функциональные последствия в зависимости от их расположения в геноме [5]. К примеру, ОНП в некодирующих участках ДНК могут влиять на инициацию транскрипции или сплайсинг мРНК [5]. Несинонимичные ОНП (т.е. вызывающие замену одной аминокислоты на другую) способны изменять экспрессию, стабильность и фолдинг белка, а также влиять на посттрансляционные модификации [5]. В данной работе мы исследовали, могут ли ОНП в генах метаболизма липидов быть значимыми предикторами тяжелой кальцификации ксеноортовых биопротезов клапанов сердца, имплантированных в митральную позицию.

#### **Корреспонденцию адресовать:**

КУТИХИН Антон Геннадьевич,  
650002, г. Кемерово, ул. Сосновый бульвар, д. 6.  
Тел.: +7-960-907-70-67; факс: +7 (3842) 64-41-56.  
E-mail: antonkutikhin@gmail.com

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Исследуемая популяция

Критериями включения в исследование были: 1) принадлежность к русскому этносу; 2) проживание в Кемеровской области на протяжении как минимум двух поколений; 3) операция по замене митрального клапана вследствие его пороков; 4) подписание информированного согласия на участие в исследовании. Критериями исключения были: 1) принадлежность к коренному населению или иммигрантам; 2) злокачественные опухоли, аутоиммунные или психические заболевания в анамнезе; 3) отказ подписать информированное согласие на участие в исследовании.

В расширенный список на включение в исследование было включено 140 пациентов, поступивших в Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (Кемерово, Россия) и подвергшихся операции по замене митрального клапана вследствие его пороков в 2006-2007 гг. После того, как 16 пациентов были исключены из исследования в соответствии с вышеуказанными критериями, окончательный размер выборки составил 124 человека (табл. 1). У половины из них ( $n = 62$ ) в течение 8 лет после имплантации развилась тяжелая кальцификация биопротеза; оставшиеся пациенты ( $n = 62$ ) рассматривались как контрольная группа (табл. 2). Исследование было одобрено локальным этическим комитетом, все его участники подписали протокол информированного согласия.

Диагноз порока митрального клапана сердца и решение о проведении операции по замене клапана были основаны на соответствующих рекомендациях (American College of Cardiology / American Heart Association Guidelines) [6]. С целью замены митрального клапана использовались ксеноортальные биопротезы КемКор и ПериКор (НеоКор, Россия), обработанные диглицидиловыми эфирами этиленгликоля для увеличения резистентности к окислению и ферментативной деградации [7]. Функциональное состояние биопротезов оценивалось ежегодно посредством эхокардиографического обследования. После экплан-

**Таблица 1**  
Клинико-патологические характеристики пациентов, подвергшихся замене митрального клапана сердца  
**Table 1**  
Clinicopathological features of patients who underwent mitral valve replacement surgery

Характеристика	Число, n (%)
Мужской пол	50 (40,32%)
Возраст $\geq 50$ лет	65 (52,42%)
Митральный стеноз и/или недостаточность III-IV функционального класса	54 (43,55%)
Ишемическая болезнь сердца	14 (11,29%)
Заболевания периферических артерий	6 (4,84%)
Гипертоническая болезнь	38 (30,64%)
Сахарный диабет	8 (6,45%)
Тяжелая кальцификация биопротеза в течение 8 лет после имплантации	62 (50,00%)

**Таблица 2**  
Основные характеристики изученной популяции  
**Table 2**  
Basic characteristics of the study population

Характеристика	Пациенты без кальцификации	Пациенты с кальцификацией	Всего	P
Размер выборки	62 (50,00%)	62 (50,00%)	124 (100,00%)	
Средний возраст	50,60 (48,12-53,08)	47,81 (45,68-49,94)	49,20 (47,57-50,83)	
Стандартное отклонение от среднего возраста	9,76	8,39	9,17	0,09
Мужской пол	19 (30,64%)	31 (50,00%)	50 (40,32%)	
Женский пол	43 (69,36%)	31 (50,00%)	74 (59,68%)	0,03

#### Сведения об авторах:

ХУТОРНАЯ Мария Владимировна, мл. науч. сотрудник, лаборатория геномной медицины отдела экспериментальной и клинической кардиологии, ФГБНУ «НИИ КПССЗ», г. Кемерово, Россия. E-mail: masha\_hut@mail.ru

ПОНАСЕНКО Анастасия Валериевна, канд. мед. наук, зав. лабораторией геномной медицины отдела экспериментальной и клинической кардиологии, ФГБНУ «НИИ КПССЗ», г. Кемерово, Россия. E-mail: avapanass@mail.ru

КУТИХИН Антон Геннадьевич, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория геномной медицины отдела экспериментальной и клинической кардиологии, ФГБНУ «НИИ КПССЗ», г. Кемерово, Россия. E-mail: antonkutikhin@gmail.com

РУТКОВСКАЯ Наталья Витальевна, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория кардиоваскулярного биопротезирования отдела экспериментальной и клинической кардиологии, ФГБНУ «НИИ КПССЗ», г. Кемерово, Россия. E-mail: rutknv@cardio.kem.ru

ЦЕПОКИНА Анна Викторовна, мл. науч. сотрудник, лаборатория геномной медицины отдела экспериментальной и клинической кардиологии, ФГБНУ «НИИ КПССЗ», г. Кемерово, Россия. E-mail: annaserokina@mail.ru

КОНДЮКОВА Наталья Владимировна, мл. науч. сотрудник, лаборатория кардиоваскулярного биопротезирования отдела экспериментальной и клинической кардиологии, ФГБНУ «НИИ КПССЗ», г. Кемерово, Россия. E-mail: kondnv@cardio.kem.ru

ЮЖАЛИН Арсений Евгеньевич, аспирант, кафедра онкологии, Оксфордский институт радиационной онкологии, Оксфордский университет, Оксфорд, Соединенное Королевство Великобритании и Северной Ирландии. E-mail: yuzhalin@gmail.com

БАРБАРАШ Леонид Семенович, доктор мед. наук, профессор, академик РАН, г. Кемерово, Россия. E-mail: barbls@cardio.kem.ru

тации биопротезов в случае их функциональной недостаточности кальцификация подтверждалась окраской по Коссу и сканирующей электронной микроскопией.

### Отбор ОНП и генотипирование

Основными критериями отбора ОНП были (1) локализация в генах метаболизма липидов, (2) высокая распространенность в популяции (распространенность минорного аллеля в русской популяции  $\geq 5\%$  по данным НарМар), (3) предполагаемые или доказанные функциональные последствия на молекулярном уровне и (4) полное или почти полное отсутствие исследований, оценивающих роль того или иного ОНП в кальцификации митрального клапана. Для отбора ОНП использовались базы данных dbSNP, SNPinfo и SNPnexus [8, 9]. Всего было отобрано 6 ОНП в 4 генах (табл. 3).

У всех участников исследования в пробирку с этилендиаминтетрауксусной кислотой забиралось 5 мл периферической венозной крови. Далее 0,5 мл крови немедленно переносилось в свежую пробирку с последующим добавлением 1 мл солевого буфера цитрата натрия (Promega). Далее содержимое пробирки перемешивалось на вортексе и центрифугировалось при 12000 оборотов в минуту в течение 2 минут. Осадок растворялся в буфере, содержащем 10 % додецилсульфат натрия (Sigma) и 100 мкг/мл протеиназы К (Helicon), в течение 3 ч при 50°C. Далее в пробирку добавлялся один объем смеси фенол : хлороформ : изоамиловый спирт (25 : 24 : 1), содержимое пробирки перемешивалось на вортексе в течение 20 секунд и центрифугировалось при 12000 оборотов в минуту в течение 15 минут. Вязкий слой на границе раздела фаз переносился в свежую пробирку с последующим добавлением 70 % этанола для преципитации из раствора геномной ДНК. Раствор центрифугировался при 12000 оборотов в минуту в течение 5 минут. Осадок ДНК инкубировался в течение ночи в деионизированной воде при комнатной температуре и далее хранился при -70°C.

Генотипирование проводилось в 96-луночном формате по технологии TaqMan (аллель-специфичная полимеразная цепная реакция с флуоресцентной детекцией результата в реальном времени) с исполь-

зованием системы для проведения полимеразной цепной реакции ViiA™ 7 Real-Time PCR System (Life Technologies) в соответствии с инструкциями производителя. Итоговый объем реакционной смеси, содержащей 100 нг ДНК, 1,25 мкл каждого праймера, 2,5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 1 мМ дНТФ и 1 ЕД Taq-полимеразы (Life Technologies) составил 10 мкл. Для проведения полимеразной цепной реакции использовались следующие настройки: 50°C в течение 120 секунд и 95°C в течение 10 минут, затем 40 циклов по 95°C в течение 15 секунд и 60°C в течение 1 минуты. В таблице 3 представлены данные по специфичным праймерам для всех ОНП. Лабораторный персонал, осуществлявший генотипирование, не знал, к какой группе принадлежит пациент, и 10 % образцов было генотипировано повторно для контроля качества.

### Статистический анализ

Распределение возраста было принято нормальным в соответствии с критерием д'Агостино-Пирсона. Поэтому для описания возраста использовались среднее, 95% доверительный интервал (ДИ) и стандартное отклонение. Для описания качественных признаков использовались доли (MedCalc, MedCalc Software). Статистический анализ генетических ассоциаций проводился с использованием программы SNP Stats [10]. Для сравнения выявленных и ожидаемых частот генотипов рассчитывалось равновесие Харди-Вайнберга по критерию хи-квадрат с одной степенью свободы. Для оценки риска, связанного с тем или иным аллелем или генотипом, рассчитывалось отношение шансов (ОШ) и 95% ДИ. Расчет ОШ проводился в соответствии с пятью известными моделями наследственности (кодоминантная, доминантная, рецессивная, сверхдоминантная и лог-аддитивная). Выбор наиболее вероятной модели проводился в соответствии с информационным критерием Акаике (AIC); модель с наименьшим значением AIC определялась как наиболее вероятная. Поправка на множественные сравнения проводилась с использованием средней доли ложных отклонений гипотез (FDR). P-значения, или q-значения в случае применения FDR (q-значения — это p-значения, скорректированные с учетом FDR), < 0,05 принимались статистически значимыми.

#### Information about authors:

KHUTORNAYA Maria Vladimirovna, MSc, Researcher, laboratory for genomic medicine, division of experimental and clinical cardiology, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia. E-mail: masha\_hut@mail.ru

PONASENKO Anastasia Valerievna, MD, PhD, head of the laboratory for genomic medicine, division of experimental and clinical cardiology, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia. E-mail: avapanass@mail.ru

KUTIKHIN Anton Gennadievich, MD, researcher, laboratory for genomic medicine, division of experimental and clinical cardiology, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia. E-mail: antonkutikhin@gmail.com

RUTKOVSKAYA Natalia Vitalievna, MD, PhD, senior researcher, laboratory for cardiovascular prosthesis, division of experimental and clinical cardiology, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia. E-mail: rutknv@cardio.kem.ru

TSEPOKINA Anna Viktorovna, MSc, researcher, laboratory for genomic medicine, division of experimental and clinical cardiology, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia. E-mail: annacepokina@mail.ru

KONDYUKOVA Natalia Vladimirovna, MD, researcher, laboratory for cardiovascular prosthesis, division of experimental and clinical cardiology, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia. E-mail: kondnv@cardio.kem.ru

YUZHALIN Arseniy Evgenievich, MSc (Res), PhD student, department of oncology, Cancer Research UK and Medical Research Council Oxford Institute for Radiation Oncology, University of Oxford, Oxford, United Kingdom. E-mail: yuzhalin@gmail.com

BARBARASH Leonid Semenovich, MD, PhD, professor, RAS academician, Kemerovo, Russia. E-mail: barbls@cardio.kem.ru

**Таблица 3**  
**Характеристики изученных генных полиморфизмов**  
**Table 3**  
**Features of the gene polymorphisms used in the study**

ОНП	Нуклеотидная замена	Хромосомная позиция	Аминокислотная замена	5'-3' и 3'-5' праймеры для полимеразной цепной реакции
<b>Ген APOB</b>				
rs1042031	C>T	21225753	Glu4181Lys	F: caatcagatgcttgactttcatatggaatt R: ttgagtaactcgtaccagccatcaaacac
rs6725189	G>T	21219001	неизвестно	F: ttcccagcctcagctcaacagagctatggg R: cagcagctggccctctctattgttcttcc
<b>Ген APOE</b>				
rs7412	C>T	45412079	Arg176Cys	F: ctctcccgatgccgatgacctgcagaag R: gcctggcagtggtaccaggccgggcccgcg
rs429358	T>C	45411941	Cys130Arg	F: gcccggctggcgcgacatggaggacgtg R: gcggcccctggtgagctaccgcgcgagg
<b>Ген LIPC</b>				
rs1800588	C>T	58723675	5'-upstream	F: tcttcttctctcgtcagctctttgaca R: gggggtgaaggggtttctgcaccacacttt
<b>Ген LPA</b>				
rs10455872	A>G	161010118	интронный	F: tcagacacctgttctcagaaccca R: tgtgtttatacaggttagaggagaa
<b>Ген F2</b>				
rs1799963	G>A	46761055	3'-UTR	F: gttccaataaaagtgactctcagc R: agcctcaatgctcccagtgctattc
<b>Ген F5</b>				
rs6025	T>C	169519049	Gln534Arg	F: ttactcaaggacaaaactgtattct R: gcctgtccagggatctgctcttacagatta
rs6027	T>C	169483561	Asp222Gly	F: ggggttttgaatgttcaatctagtaaata R: cacagccaagagttccaggcgaagtgcaa
<b>Ген F7</b>				
rs6046	G>A	113773159	Arg412Gln/Pro/Leu	F: acagtgaggcccacatgccaccactacc R: gggcagctggtacctgacgggcatcgtcag
<b>Ген F13A1</b>				
rs5985	C>A	6318795	Val35Leu	F: taccttgagggtgacgccccgggaccca R: gccctgaagctcactgtggcaggctatc
<b>Ген ITGB3</b>				
rs5918	T>C	45360730	Leu59Pro	F: ttgggctcctgacttacaggccctgctc R: gggctcacctcgctgacctgaaggagaa

Примечание: ОНП - однонуклеотидный полиморфизм, APO - аполипопротеин, LIPC - печеночная липаза, LPA - липопротеин (a), ITGB - интегрин-бета.

Note: SNP - single nucleotide polymorphism, APO - apolipoprotein, LIPC - hepatic lipase, LPA - lipoprotein (a), ITGB - integrin beta.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Генотип А/А полиморфизма rs10455872 гена LPA был ассоциирован со статистически значимо повышенным более чем в пять раз риском тяжелой кальцификации ксеноаортальных биопротезов клапанов сердца, имплантированных в митральную позицию (табл. 4). Иных статистически значимых различий обнаружено не было. Для дополнительного контроля качества были протестированы шесть ОНП в генах факторов коагуляции и интегрин-бета 3, который отвечает за агрегацию тромбоцитов. Как и ожидалось, никаких статистически значимых связей данных шес-

ти ОНП с риском тяжелой кальцификации ксеноаортальных биопротезов клапанов сердца, имплантированных в митральную позицию, выявлено не было.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Предыдущие исследования предоставили лишь незначительную информацию о генетической восприимчивости к кальцификации митрального клапана. Novaro с соавт. [11] и Tangri с соавт. [12] не выявили статистически значимых связей между полиморфизмами генов apoE (кодирует аполипопротеин E), Klot-

**Таблица 4**  
**Связь однонуклеотидных полиморфизмов генов метаболизма липидов с тяжелой кальцификацией**  
**ксеноаортальных биопротезов клапанов сердца, имплантированных в митральную позицию**

**Table 4**  
**Association of the polymorphisms within lipid metabolism genes with severe bioprosthetic mitral valve calcification**

Модель	Генотип	Пациенты без кальцификации	Пациенты с кальцификацией	ОШ (95% ДИ)	P	AIC	HWE
<b>APOB rs1042031</b>							
Кодоминантная	C/C	43 (71,7%)	42 (70%)	1	0,84	168,2	0,99
	C/T	16 (26,7%)	16 (26,7%)	1,14 (0,48-2,67)			
	T/T	1 (1,7%)	2 (3,3%)	1,94 (0,15-24,67)			
Доминантная	C/C	43 (71,7%)	42 (70%)	1	0,68	166,3	
	C/T-T/T	17 (28,3%)	18 (30%)	1,19 (0,52-2,72)			
Рецессивная	C/C-C/T	59 (98,3%)	58 (96,7%)	1	0,62	166,3	
	T/T	1 (1,7%)	2 (3,3%)	1,89 (0,15-23,70)			
Сверхдоминантная	C/C-T/T	44 (73,3%)	44 (73,3%)	1	0,8	166,4	
	C/T	16 (26,7%)	16 (26,7%)	1,12 (0,48-2,62)			
Лог-аддитивная	-	-	-	1,21 (0,58-2,51)	0,61	166,2	
<b>APOB rs6725189</b>							
Кодоминантная	G/G	41 (68,3%)	39 (65%)	1	0,81	168,1	
	G/T	17 (28,3%)	18 (30%)	1,25 (0,55-2,88)			
	T/T	2 (3,3%)	3 (5%)	1,53 (0,23-10,15)			
Доминантная	G/G	41 (68,3%)	39 (65%)	1	0,53	166,1	
	G/T-T/T	19 (31,7%)	21 (35%)	1,29 (0,58-2,84)			
Рецессивная	G/G-G/T	58 (96,7%)	57 (95%)	1	0,71	166,4	
	T/T	2 (3,3%)	3 (5%)	1,43 (0,22-9,29)			
Сверхдоминантная	G/G-T/T	43 (71,7%)	42 (70%)	1	0,63	166,3	
	G/T	17 (28,3%)	18 (30%)	1,22 (0,54-2,78)			
Лог-аддитивная	-	-	-	1,25 (0,64-2,42)	0,51	166,1	
<b>APOE rs7412</b>							
-	C/C	50 (80,7%)	54 (87,1%)	1	0,54	171,2	0,99
	C/T	12 (19,4%)	8 (12,9%)	0,73 (0,27-2,00)			
<b>APOE rs429358</b>							
-	T/T	51 (82,3%)	46 (74,2%)	1	0,42	170,9	0,36
	C/T	11 (17,7%)	16 (25,8%)	1,45 (0,59-3,57)			
<b>LIPC rs1800588</b>							
Кодоминантная	C/C	38 (61,3%)	37 (60,7%)	1	0,27	169,6	
	C/T	22 (35,5%)	18 (29,5%)	0,86 (0,39-1,92)			
	T/T	2 (3,2%)	6 (9,8%)	3,43 (0,62-19,08)			
Доминантная	C/C	38 (61,3%)	37 (60,7%)	1	0,87	170,2	
	C/T-T/T	24 (38,7%)	24 (39,3%)	1,07 (0,50-2,26)			
Рецессивная	C/C-C/T	60 (96,8%)	55 (90,2%)	1	0,11	167,7	
	T/T	2 (3,2%)	6 (9,8%)	3,61 (0,66-19,64)			
Сверхдоминантная	C/C-T/T	40 (64,5%)	43 (70,5%)	1	0,52	169,8	
	C/T	22 (35,5%)	18 (29,5%)	0,77 (0,35-1,69)			
Лог-аддитивная	-	-	-	1,26 (0,69-2,30)	0,45	169,6	
<b>LPA rs10455872</b>							
-	A/G	10 (16,1%)	2 (3,3%)	1	5,67 (1,19-27,09)		
	A/A	52 (83,9%)	59 (96,7%)				
<b>F2 rs1799963</b>							
-	G/G	59 (98,3%)	58 (98,3%)	1	0,77	164,3	0,99
	A/G	1 (1,7%)	1 (1,7%)	0,64 (0,04-11,58)			
<b>F5 rs6025</b>							
-	C/C	55 (91,7%)	57 (96,6%)	1	0,18	162,5	0,99
	C/T	5 (8,3%)	2 (3,4%)	0,31 (0,05-1,84)			

Таблица 4 (продолжение)  
Table 4 (continuation)

Модель	Генотип	Пациенты без кальцификации	Пациенты с кальцификацией	ОШ (95% ДИ)	P	AIC	HWE
<b>F5 rs6027</b>							
Кодоминантная	T/T	47 (78,3%)	46 (78%)	1	0,92	166,2	0,09
	C/T	11 (18,3%)	11 (18,6%)	0,86 (0,33-2,29)			
	C/C	2 (3,3%)	2 (3,4%)	1,33 (0,17-10,31)			
Доминантная	T/T	47 (78,3%)	46 (78%)	1	0,87	164,3	
	C/T-C/C	13 (21,7%)	13 (22%)	0,92 (0,37-2,29)			
Рецессивная	T/T-C/T	58 (96,7%)	57 (96,6%)	1	0,77	164,3	
	C/C	2 (3,3%)	2 (3,4%)	1,36 (0,18-10,49)			
Сверхдоминантная	T/T-C/C	49 (81,7%)	48 (81,4%)	1	0,75	164,3	
	C/T	11 (18,3%)	11 (18,6%)	0,85 (0,32-2,25)			
Лог-аддитивная	-	-	-	0,99 (0,47-2,07)	0,97	164,4	
<b>F7 rs6046</b>							
Кодоминантная	G/G	52 (86,7%)	42 (71,2%)	1	0,15	162,5	0,2
	A/G	7 (11,7%)	15 (25,4%)	2,55 (0,91-7,16)			
	A/A	1 (1,7%)	2 (3,4%)	2,94 (0,25-35,06)			
Доминантная	G/G	52 (86,7%)	42 (71,2%)	1	0,052	160,5	
	A/G-A/A	8 (13,3%)	17 (28,8%)	2,59 (0,98-6,90)			
Рецессивная	G/G-A/G	59 (98,3%)	57 (96,6%)	1	0,46	163,8	
	A/A	1 (1,7%)	2 (3,4%)	2,48 (0,21-29,33)			
Сверхдоминантная	G/G-A/A	53 (88,3%)	44 (74,6%)	1	0,08	161,3	
	A/G	7 (11,7%)	15 (25,4%)	2,45 (0,88-6,87)			
Лог-аддитивная	-	-	-	2,19 (0,94-5,11)	0,058	160,8	
<b>F13A1 rs5985</b>							
Кодоминантная	C/C	39 (65%)	37 (62,7%)	1	0,33	164,1	0,1
	A/C	15 (25%)	19 (32,2%)	1,74 (0,72-4,21)			
	A/A	6 (10%)	3 (5,1%)	0,66 (0,15-2,91)			
Доминантная	C/C	39 (65%)	37 (62,7%)	1	0,4	163,7	
	A/C-A/A	21 (35%)	22 (37,3%)	1,41 (0,63-3,14)			
Рецессивная	C/C-A/C	54 (90%)	56 (94,9%)	1	0,41	163,7	
	A/A	6 (10%)	3 (5,1%)	0,55 (0,13-2,37)			
Сверхдоминантная	C/C-A/A	45 (75%)	40 (67,8%)	1	0,17	162,5	
	A/C	15 (25%)	19 (32,2%)	1,83 (0,77-4,36)			
Лог-аддитивная	-	-	-	1,09 (0,60-1,98)	0,78	164,3	
<b>ITGB3 rs5918</b>							
Кодоминантная	T/T	45 (75%)	42 (71,2%)	1	0,95	166,3	0,08
	C/T	12 (20%)	14 (23,7%)	1,11 (0,45-2,77)			
	C/C	3 (5%)	3 (5,1%)	0,83 (0,15-4,65)			
Доминантная	T/T	45 (75%)	42 (71,2%)	1	0,9	164,4	
	C/T-C/C	15 (25%)	17 (28,8%)	1,05 (0,45-2,46)			
Рецессивная	T/T-C/T	57 (95%)	56 (94,9%)	1	0,81	164,3	
	C/C	3 (5%)	3 (5,1%)	0,81 (0,15-4,46)			
Сверхдоминантная	T/T-C/C	48 (80%)	45 (76,3%)	1	0,8	164,3	
	C/T	12 (20%)	14 (23,7%)	1,13 (0,46-2,79)			
Лог-аддитивная	-	-	-	1,00 (0,51-1,95)	1	164,4	

Примечание: APO - аполипопротеин, LIPC - печеночная липаза, LPA - липопротеин (а), ITGB - интегрин-бета, ОШ - отношение шансов, ДИ - доверительный интервал, AIC - информационный критерий Акаике, HWE - равновесие Харди-Вайнберга.

Note: APO - apolipoprotein, LIPC - hepatic lipase, LPA - lipoprotein (a), ITGB - integrin beta, OR - odds ratio, CI - confidence interval, AIC - Akaike information criterion, HWE - Hardy-Weinberg equilibrium.

#### Дополнительная информация

Авторы ответственно заявляют об отсутствии конфликта интересов. Финансирование данной работы осуществлялось за счет Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний».

но,  $\beta$ -Klotho и FGF-23 (кодируют белки Klotho,  $\beta$ -Klotho и FGF-23, составляющие один из основных путей фосфорнокальциевого гомеостаза) и данной патологией. Davutoglu и Nacak [13] показали, что генотип I/I и аллель I полиморфизма rs4340 гена ACE (кодирует ангиотензинпревращающий фермент) ассоциированы с повышенным риском кальцификации митрального клапана. Полногеномное исследование Thanassoulis с соавт. [14] выявило два полиморфизма гена PLI1F9 (кодирует интерлейкин-36 $\gamma$ /1F9), rs17659543 и rs13415097 в качестве маркеров высокого риска кальцификации митрального клапана. Стоит отметить, что данных о генетической восприимчивости к кальцификации биопротезов клапанов сердца опубликовано не было. В нашем исследовании генотип A/A полиморфизма rs10455872 гена LPA был идентифицирован как независимый маркер тяжелой кальцификации ксеноортальных биопротезов клапанов сердца, имплантированных в митральную позицию. Ранее было показано, что данный генотип ассоции-

рован со сниженным уровнем липопротеина(a) [15]. Известно, что ген LPA кодирует аполипопротеин(a), входящий в состав частиц липопротеина(a), и что уровень липопротеина(a) в плазме крови существенно зависит от структуры данного гена [15]. Хотя частицы липопротеина(a) и относятся к подобным липопротеинам низкой плотности, которые традиционно увеличивают сердечно-сосудистый риск [14, 15], можно предположить, что в данной популяции имеет место обратный эффект.

Данное исследование имеет существенный недостаток: малый размер выборки вследствие ограниченного количества проводимых операций по замене митрального клапана. Однако для минимизации возможных ложноположительных результатов с ожидаемо отрицательным результатом были протестированы шесть ОНП в генах, не имеющих никакой патогенетической связи с кальцификацией. В то же время, для подтверждения наших результатов необходимы исследования на больших выборках.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

1. Nishimura RA, Otto CM, Bonow RO et al. 2014 AHA/ACC guideline for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology /American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol*. 2014; 63(22): e57-185.
2. Bella JN, Tang W, Kraja A et al. Genome-wide linkage mapping for valve calcification susceptibility loci in hypertensive sibships: the Hypertension Genetic Epidemiology Network Study. *Hypertension*. 2007; 49(3): 453-460.
3. Kutikhin AG, Yuzhalin AE, Brusina EB et al. Genetic predisposition to calcific aortic stenosis and mitral annular calcification. *Mol Biol Rep*. 2014; 41(9): 5645-5663.
4. Yuzhalin AE, Kutikhin AG. Integrative systems of genomic risk markers for cancer and other diseases: future of predictive medicine. *Cancer Manag Res*. 2012; 4: 131-135.
5. Bakhtiar SM, Ali A, Baig SM et al. Identifying human disease genes: advances in molecular genetics and computational approaches. *Genet Mol Res*. 2014; 13(3): 5073-5087.
6. American College of Cardiology; American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to revise the 1998 guidelines for the management of patients with valvular heart disease); Society of Cardiovascular Anesthesiologists et al. ACC/AHA 2006 guidelines for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (writing Committee to Revise the 1998 guidelines for the management of patients with valvular heart disease) developed in collaboration with the Society of Cardiovascular Anesthesiologists endorsed by the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions and the Society of Thoracic Surgeons. *J Am Coll Cardiol*. 2006; 48(3): e1-148.
7. Astapov DA, Karas'kov AM, Semenova EI, Demidov DP. The mitral valve replacement with biological prostheses: early and long-term results. *Khirurgiia (Mosk)*. 2013; 9: 18-23.
8. Xu Z, Taylor JA. SNP info: integrating GWAS and candidate gene information into functional SNP selection for genetic association studies. *Nucleic Acids Res*. 2009; 37(Web Server issue): W600-605.
9. Dayem Ullah AZ, Lemoine NR, Chelala C. SNPnexus: a web server for functional annotation of novel and publicly known genetic variants (2012 update). *Nucleic Acids Res*. 2012; 40(Web Server issue): W65-70.
10. Sole X, Guino E, Valls J et al. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics*. 2006; 22(15):1928-1929.
11. Novaro GM, Sachar R, Pearce GL et al. Association between apolipoprotein E alleles and calcific valvular heart disease. *Circulation*. 2003; 108(15): 1804-1808.
12. Tangri N, Alam A, Wooten EC, Huggins GS. Lack of association of Klotho gene variants with valvular and vascular calcification in Caucasians: a candidate gene study of the Framingham Offspring Cohort. *Nephrol Dial Transplant*. 2011; 26(12): 3998-4002.
13. Davutoglu V, Nacak M. Influence of angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism on rheumatic valve involvement, valve severity and subsequent valve calcification. *J Heart Valve Dis*. 2005; 14(3): 277-281.
14. Thanassoulis G, Campbell CY, Owens DS et al. Genetic associations with valvular calcification and aortic stenosis. *N Engl J Med*. 2013; 368(6): 503-512.
15. Clarke R, Peden JF, Hopewell JC et al. Genetic variants associated with Lp(a) lipoprotein level and coronary disease. *N Engl J Med*. 2009; 361(26): 2518-2528.

