

Е.З. Голухова¹, А.З. Жолбаева¹, М.Г. Аракелян^{1*}, Н.И. Булаева¹, М.М. Минашкин²¹ Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии имени А.Н. Бакулева, Москва, Российская Федерация² ООО «Диаэм», Москва, Российская Федерация

Генетические аспекты развития идиопатической фибрилляции предсердий у больных без структурных сердечных аномалий

Обоснование. Фибрилляция предсердий — наиболее часто встречающаяся аритмия. Примерно в 10–20% случаев данное нарушение ритма сердца возникает у больных без сопутствующей кардиальной и экстракардиальной патологии. В этих случаях применяется термин «изолированная» или «идиопатическая фибрилляция предсердий». В значительной части случаев развития идиопатической фибрилляции предсердий предполагается роль генетических факторов. Наибольший интерес для изучения представляют случаи несемейной формы аритмии, обусловленные полиморфизмом генов, ответственных за кардиогенез и регулирующих активность других генов. **Цель исследования** — определение роли ряда однонуклеотидных полиморфизмов в развитии идиопатической фибрилляции предсердий. **Методы.** Обследованы 174 пациента с фибрилляцией предсердий и группа контроля в количестве 124 человек без сердечно-сосудистой патологии. Пациенты были разделены на две подгруппы — с изолированной формой фибрилляции предсердий ($n=94$) и с сопутствующей артериальной гипертензией ($n=80$). Всем пациентам проводился комплекс клинико-инструментальных (электро-, эхокардиография; компьютерная томография легочных вен) и лабораторных (гормоны щитовидной железы; маркеры воспаления, фиброза) исследований, а также выполнено генотипирование по полиморфным однонуклеотидным маркерам генов *SLN* (ген сарколипина), *SCN5A* (ген α -субъединицы потенциалзависимого натриевого канала типа V), *PITX2* (ген парного гомеодомена 2), *PRRX1* (ген парного гомеобокс-белка 1), *ZFH3* (ген цинково-пальцевого гомеобокс-белка), *CAV* (ген кавеолина). **Результаты.** Для маркеров rs12291814 гена *SLN* и rs137854601 гена *SCN5A* не выявлено ни одного носителя минорного аллеля (соответственно С и А), что не противоречит литературным данным. Для полиморфных маркеров rs2200733 гена *PITX2*, rs3903239 гена *PRRX1* и двух полиморфных маркеров rs2106261 и rs7193343 гена *ZFH3* минорный аллель является фактором риска аритмии для обеих подгрупп пациентов. Для полиморфного маркера rs3807989 гена, кодирующего кавеолин *CAV*, выявлено статистически достоверное различие в частоте встречаемости минорного аллеля, при этом данный генотип оказывает протективное действие в отношении развития аритмии ($OR=0,39$). **Заключение.** Полученные результаты показали взаимосвязь между полиморфными маркерами генов *PITX2* (rs2200733; $OR=3,18$ $p<0,0001$), *PRRX1* (rs3903239; $OR=2,96$, $p<0,0001$) и *ZFH3* (rs2106261; $OR=2,02$, $p=0,045$ и rs7193343, $OR=1,64$, $p=0,04$), кодирующих факторы регуляции транскрипции, и развитием фибрилляции предсердий. Однако остаются открытыми вопросы, каким образом эти полиморфные маркеры влияют на функции генов и, соответственно, какой подход при коррекции состояния пациента с фибрилляцией предсердий будет наиболее эффективным.

Ключевые слова: фибрилляция предсердий, полиморфизм; гены *PITX2*, *PRRX1*, *ZFH3*; ген, кодирующий кавеолин *CAV*.

(Для цитирования: Голухова Е.З., Жолбаева А.З., Аракелян М.Г., Булаева Н.И., Минашкин М.М. Генетические аспекты развития идиопатической фибрилляции предсердий у больных без структурных сердечных аномалий. Вестник РАМН. 2019;74(4):245–252. doi: 10.15690/vramn1120)

Обоснование

Заболевания сердечно-сосудистой системы (ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертензия, врожденные и приобретенные пороки сердца), а также такие состояния, как сахарный диабет, патология щитовидной железы, хронические обструктивные заболевания легких, способствуют возникновению фибрилляции предсердий. Однако более чем у 1/3 пациентов (до 45% случаев) [1], страдающих данным видом аритмии, установить причины и условия ее возникновения не представляется возможным. Еще в 1949 г. американским ученым E. Phillips и S. Levin было известно о возможности развития фибрилляции предсердий у людей, не имеющих какой-либо органической патологии со стороны сердечно-сосудистой системы, а в 1953 г. британскими врачами W. Ewans и P. Swann был предложен термин «изолированная фибрилляция предсердий» (Ione auricular fibrillation). В настоящее время данный термин нередко встречается в литературе, хотя возможно использование таких терминов, как «идиопатическая», «функциональная» или «фибрилляция предсердий неясной этиологии».

Как правило, в основе идиопатической фибрилляции предсердий лежит генетическая предрасположенность [2]. Фибрилляцию предсердий вследствие генетических причин можно подразделить на семейную (менделевскую) и несемейную формы. Картина изменений генома, наблюдаемая при семейной форме фибрилляции предсердий, очень гетерогенна: на данный момент выделяют 17 вариантов этой аритмии в зависимости от локализации мутаций, сцепленных с патологией. Для большинства типов семейной фибрилляции предсердий характерны мутации в генах, кодирующих ионные каналы сердца (калиевые и натриевые). Данная форма фибрилляции предсердий встречается относительно редко и может быть отнесена к моногенным заболеваниям.

Большой интерес с точки зрения диагностики, лечения и прогноза представляют случаи идиопатической фибрилляции предсердий, не относящиеся к семейной форме и возникшие вследствие точечных полиморфизмов в генах, продукты которых не связаны напрямую с сокращениями предсердий. Большинство этих полиморфизмов выявлено при полногеномном поиске ассоциаций (GWAS) [3–5]. Функционально гены, полиморфизмы

в которых являются факторами риска для несемейной идиопатической фибрилляции предсердий, можно подразделить на несколько групп:

- 1-я группа — некоторые гены ионных каналов, например *SCN5A* и *HCN4*;
- 2-я группа — гены, ответственные за кардиогенез и участвующие в регуляции активности других генов. Это, в первую очередь, гены факторов транскрипции *PITX2*, *TBX5*, *ZFHX3*, *PRRX1*, *NKX2.5*, *NKX2.6* и гены GATA-связывающих белков. Сюда же можно (хотя и достаточно условно) отнести ген *CAVI*, кодирующий белок caveolin-1, одна из функций которого заключается в регуляции активности потенциалзависимого калиевого канала H2;
- 3-я группа — гены-регуляторы артериального давления. Наибольший интерес представляет *AGXT2*, регулирующий обмен метиларгининов и участвующий в контроле артериального давления. В эту же группу входят гены *ACE* и *GNB3*, но данные о связи полиморфизмов в этих генах с фибрилляцией предсердий противоречивы [6–8];
- 4-я группа — гены-регуляторы метаболизма кальция. Это ген *PDE4D* (ген субъединицы D фосфодиэстеразы 4). Белок, кодируемый этим геном, кодирует цАМФ-фосфодиэстеразу, фосфорилирующую в том числе ген риадинового рецептора (кальцийвысвобождающего канала) *RYR2* и ген сарколипина (ингибитора Са-зависимой АТФ-азы саркоплазматического ретикулама) *SLN* [9].

Цель исследования — определить связь идиопатической фибрилляции предсердий с набором однонуклеотидных полиморфизмов, ассоциированных с несемей-

ной формой этой аритмии. Список полиморфизмов приведен в табл. 1.

Методы

Дизайн исследования

В данное обсервационное одноцентровое исследование последовательно, согласно критериям включения и исключения, были включены пациенты с инструментально подтвержденным диагнозом фибрилляции предсердий. Исследуемая выборка сравнивалась с группой контроля с целью оценки влияния ряда генных полиморфизмов на риск возникновения идиопатической фибрилляции предсердий в российской популяции.

Критерии соответствия

Критериями включения в исследование были наличие различных форм фибрилляции предсердий (ФП) — пароксизмальной, персистирующей или постоянной; возраст пациентов от 20 до 65 лет.

Критерии исключения: наличие ишемической болезни сердца, врожденные и приобретенные пороки сердца, экстракардиальная патология в стадии декомпенсации, беременность.

Условия проведения и продолжительность исследования

В исследование были включены пациенты с различными формами фибрилляции предсердий, находящиеся на стационарном лечении в отделении неинвазивной аритмологии и хирургического лечения комбинирован-

E.Z. Golukhova¹, A.Z. Zholbaeva¹, M.G. Arakelyan^{1*}, N.I. Bulaeva¹, M.M. Minashkin²

¹ Bakoulev Center for Cardiovascular Surgery RAMS, Moscow, Russian Federation

² Diaem Ltd, Moscow, Russian Federation

Genetic Aspects of Lone Atrial Fibrillation in Patients Without Structural Heart Disease

Background: Atrial fibrillation (AF) is the most common cardiac arrhythmia. Among patients with AF the subgroup possessing AF without traditional risk factors is differentiated. Such patients are commonly referred as having “lone AF” and comprise 10–20% of all cases. A number of studies have demonstrated that the background of AF, and in particular lone AF, have a substantial genetic component. **Aims:** To evaluate the influence of gene polymorphism to the development of atrial fibrillation in patients without concomitant valvular pathology and coronary artery disease. **Materials and methods:** The study included 174 patients with atrial fibrillation and 124 controls without any cardiovascular pathology. All patients were divided into two subgroups: with “lone AF” (n=94) and with concomitant arterial hypertension (n=80). All patients underwent a complex of clinical, instrumental (ECG, echocardiography, computed tomography of the pulmonary veins) and laboratory tests (thyroid hormones, inflammatory markers, fibrosis), as well as genetic analysis (determination of single nucleotide polymorphisms described as AF risk factors in genes *AGXT2*, *PDE4D*, *SLN*, *SCN5A*, *PITX2*, *PRRX1*, *ZFHX3*, *TBX5*, *CAVI* u *HCN4*). **Results:** For the rare polymorphisms rs12291814 (*SLN*) and rs137854601 (*SCN5A*) wasn't found anyone carrier of the minor allele (C and A, respectively). In the both patient subgroups the minor allele T of rs2200733 in *PITX2* (OR=3.18, p<0.0001), minor allele G of rs3903239 in *PRRX1*, and minor alleles A of 2 polymorphisms rs2106261 and rs7193343 in *ZFHX3* gene were revealed as risk factor of AF (OR=2.96, p<0.0001, OR=2.02, p=0.0045, OR=1.64, p=0.04, respectively). We also revealed significant difference between AF and control groups for rs3807989 in *CAVI*: homozygotic state of minor allele A has a protective effect on the development of arrhythmias (OR=0.39). **Conclusions:** We revealed the association between the polymorphisms in genes regulating transcription and the development of atrial fibrillation. These polymorphisms have already described but their frequencies have never investigated in Russian population. But the polymorphisms influence to gene functions stays unclear, although attempts to investigate relationship between genotype and gene expression have been made. When the relationship will be discovered it can help us to modify our approach in treatment to patients with atrial fibrillation.

Keywords: atrial fibrillation, polymorphisms, genes *PITX2*, *PRRX1*, *ZFHX3*, gene caveolin *CAVI*.

(**For citation:** Golukhova EZ, Zholbaeva AZ, Arakelyan MG, Bulaeva NI, Minashkin MM. Genetic aspects of lone atrial fibrillation in patients without structural heart disease. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2019;74(4):245–252. doi: 10.15690/vramn1120)

Таблица 1. Исследуемые полиморфизмы, связанные с риском идиопатической фибрилляции предсердий

Ген	Функция продукта гена	Полиморфизм	Тип нуклеотидной замены*	Локализация полиморфизма в гене
<i>AGXT2</i>	Контроль артериального давления	rs37369	G/A	Белок-кодирующая область (Val140Ile)
<i>AGXT2</i>	Контроль артериального давления	rs16899974	G/T	Белок-кодирующая область (Val498Leu)
<i>PDE4D</i>	Регуляция метаболизма Ca ²⁺	rs12188950	G/A	Интрон
<i>PDE4D</i>	Регуляция метаболизма Ca ²⁺	rs152312	G/A	~4 тыс. п.н. от 5'-концевой области гена <i>PDE4D</i>
<i>SLN</i>	Регуляция метаболизма Ca ²⁺	rs12291814	G/C	3'-нетранслируемая область
<i>SLN</i>	Регуляция метаболизма Ca ²⁺	rs583362	C/G	5'-нетранслируемая область
<i>SCN5A</i>	Na ⁺ -канал	rs1805124	A/G	Белок-кодирующая область (His558Arg)
<i>SCN5A</i>	Na ⁺ -канал	rs137854601	G/A	Белок-кодирующая область (Glu1783Lys)
<i>HCN4</i>	K ⁺ -канал	rs7164883	A/G	Интрон
<i>CAVI</i>	Межклеточное взаимодействие	rs3807989	G/A	Интрон
<i>PITX2</i>	Фактор транскрипции	rs2200733	C/T	Межгенная область (~147 тыс. п.н. от 5'-конца гена <i>PITX2</i>)
<i>PITX2</i>	Фактор транскрипции	rs10033464	G/T	Межгенная область (~157 тыс. п.н. от 5'-конца гена <i>PITX2</i>)
<i>PRRX1</i>	Фактор транскрипции	rs3903239	T/C	Межгенная область (~66 тыс. п.н. от 5'-конца гена <i>PRRX1</i>)
<i>TBX5</i>	Фактор транскрипции	rs3825214	A/G	Интрон
<i>ZFH3</i>	Фактор транскрипции	rs2106261	G/A	Интрон
<i>ZFH3</i>	Фактор транскрипции	rs6499600	G/A	Интрон
<i>ZFH3</i>	Фактор транскрипции	rs7193343	G/A	Интрон

Примечание. * — основной аллель/минорный аллель.

ной патологии (ОНА и ХЛКП) ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева» МЗ РФ в период с 2015 по 2018 г.

Описание медицинского вмешательства

У всех пациентов были отобраны пробы периферической крови в объеме 2 мл для выделения геномной ДНК из лейкоцитов.

Исходы исследования

Определение генотипа однонуклеотидных маркеров в генах *AGXT2*, *PDE4D*, *SLN*, *HCN4*, *CAVI*, *PITX2*, *PRRX1*, *TBX5* и *ZFH3* у пациентов с идиопатической фибрилляцией предсердий и в группе контроля.

Методы регистрации исходов

Выделение ДНК из биологического материала

ДНК выделяли из 100–200 мкл цельной крови с калиевой солью этилендиаминтетрауксусной кислоты (К2-ЭДТА). Выделение производилось с помощью набора DiaGene для выделения ДНК из цельной крови (Диаэм, Россия) и с помощью набора Genomic DNA Purification Kit (Thermo Fisher Scientific, Литва). Выделенную ДНК анализировали на спектрофотометре NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, США) с целью определения концентрации и чистоты вещества. Во всех образцах ДНК соотношение A_{260}/A_{280} составляло не менее 1,8, а соотношение A_{260}/A_{230} — не менее 2. Полученные образцы содержали не менее 0,5 мкг ДНК в концентрации не менее 10 нг/мкл.

Генотипирование

Генотипирование проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с флуоресцентными гидрализующимися зондами. Для постановки ПЦР использовали готовые реакционные смеси iQ Supermix (Bio-Rad, США)

и UDG-HS-qPCR (Диаэм, Россия). В реакцию брали 5 нг геномной ДНК. Условия ПЦР — согласно рекомендации производителя наборов для генотипирования (исходная денатурация 3 мин при +95°C, затем 45 циклов двухстадийной амплификации с денатурацией в течение 15 сек при +95°C и отжигом/элонгацией в течение 1 мин при +60°C). Амплификация, постаплификационный анализ флуоресценции и определение генотипа проводились на амплификаторах CFX96 (Bio-Rad, США) и LightCycler96 (Roche, Швейцария) с помощью ПО Bio-Rad CFX Manager 3.1 и LightCycler96 SW 1.1 соответственно.

Анализ в подгруппах

Разделение пациентов на подгруппы проводилось в зависимости от наличия сопутствующей артериальной гипертензии. Первую группу пациентов составили больные с изолированной формой фибрилляции предсердий, вторую — пациенты с сопутствующей артериальной гипертензией. Группа пациентов с фибрилляцией предсердий в ходе исследования была разделена на подгруппы с сопутствующей артериальной гипертензией и без таковой.

Этическая экспертиза

Протокол № 62 заседания Этического комитета Научного центра сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева РАМН от 5 марта 2014.

Статистический анализ

Размер выборки предварительно не рассчитывался. Предварительная оценка частоты аллелей и генотипов для всех полиморфизмов проводилась с помощью Microsoft Office Excel 2010. Для расчета статистической значимости различий в частоте встречаемости использовали точный двусторонний критерий Фишера и критерий Хи-квадрат. Расчеты производили как для частоты минорного аллеля,

так и для частоты генотипов — гетерозигот и гомозигот по минорному аллелю (AA и Aa+aa, AA+Aa и aa). Далее для групп, где были выявлены значимые различия, рассчитывали отношения шансов (odds ratio, OR) и 95% доверительный интервал (confidence interval, CI). Расчеты проводились в высокоуровневой технической среде MATLAB 2010b с помощью программы SNPStats (www.snptest.net). Для полиморфизмов, которые показали статистически значимое различие по частоте аллелей и генотипов между пациентами и контрольной группой, был произведен расчет соответствия полученной частоты генотипов по уравнению Харди–Вайнберга (табл. 2).

Результаты

Участники исследования

В исследование было включено 174 пациента с фибрилляцией предсердий (98 мужчин и 76 женщин), подтвержденной данными электрокардиографии и/или холтеровского мониторирования (табл. 3). В контрольную группу вошли 124 человека без сердечно-сосудистой патологии. Средний возраст пациентов составил 55 лет. В соответствии с протоколом исследования все пациенты подписали информированное согласие на участие в нем.

У 90 (52%) пациентов была диагностирована пароксизмальная, у 84 (48%) — персистирующая форма фибрилляции предсердий. Пациенты были разделены на две подгруппы: первую составили больные с изолированной формой фибрилляции предсердий (n=94), вторую — пациенты с сопутствующей артериальной гипертензией (n=80).

Основные результаты исследования

Полученная частота встречаемости аллелей и генотипов по анализируемым полиморфным маркерам приведена в табл. 4. Для полиморфизмов rs12291814 (SLN) и rs137854601 (SCN5A) не выявлено ни одного носителя минорного аллеля (соответственно С и А) ни в группе пациентов, ни в контрольной группе. В принципе это

Таблица 2. Относительный риск минорных аллелей полиморфизмов, показавших статистическую значимость

ФП/АГ + ИФП и контрольная группа					
Ген	Полиморфизм	Генотип	OR	95% CI	p
PITX2	rs2200733	CT+TT	3,18	1,94–5,22	<0,0001
PRRX1	rs3903239	CT+CC	2,96	1,77–4,96	<0,0001
ZFH3	rs2106261	GA+AA	2,02	1,23–3,3	0,005
ZFH3	rs7193343	GA+AA	1,64	1,02–2,65	0,04
CAVI	rs3807989	AA	0,48	0,25–0,93	0,03
ИФП и контрольная группа					
Ген	Полиморфизм	Генотип	OR	95% CI	p
PITX2	rs2200733	CT+TT	3,90	2,21–6,90	<0,0001
PRRX1	rs3903239	CT+CC	3,38	1,79–6,38	0,0001
ZFH3	rs2106261	GA+AA	2,24	1,27–3,93	0,005
ZFH3	rs7193343	GA+AA	1,86	1,07–3,23	0,027
CAVI	rs3807989	AA	0,39	0,17–0,91	0,022

Примечание. ФП — фибрилляция предсердий, АГ — артериальная гипертензия, ИФП — идиопатическая фибрилляция предсердий.

Таблица 3. Клинико-инструментальная характеристика пациентов

Параметры	Среднее значение, n (%)
Возраст, лет	55±11,8
Пол, мужчины	98 (56)
Курение	36 (21)
Сахарный диабет	15 (9)
Индекс массы тела, кг/м ²	28,4±4,3
Ишемический инсульт или ТИА в анамнезе	8 (5)
Форма фибрилляции предсердий:	
• пароксизмальная	90 (52)
• персистирующая	84 (48)
Длительность фибрилляции предсердий, лет	5,9±4,9
Данные эхокардиографии:	
• размер левого предсердия, см	4,2±0,62
• индексированный размер левого предсердия, см/м ²	2,1±0,35
КДО левого желудочка, мл	118±30,3
индексированный КДО левого желудочка, мл/м ²	61±12,3
Фракция выброса левого желудочка, %	65±9,6
Эффект спонтанного контрастирования в полости левого предсердия	13 (7)
Данные компьютерной томографии легочных вен:	
• объем левого предсердия, мл	107±43,7

Примечание. ТИА — транзиторная ишемическая атака, КДО — конечно-диастолический объем.

не противоречит приводимым в базе «1000 геномов» (1000 Genomes) данным о том, что частота минорных аллелей этих полиморфизмов в европейской популяции крайне низка — менее 0,1% (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ss.cgi?ss=ss1342864590; https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?do_not_redirect&rs=rs137854601).

Для четырех из остальных маркеров выявлено статистически значимое различие по частоте встречаемости минорного аллеля между группами пациентов и контрольной группой (p<0,005). Все эти полиморфизмы локализованы в генах факторов регуляции транскрипции. Для полиморфных маркеров rs2200733 гена PITX2, rs3903239 гена PRRX1 и двух маркеров гена ZFH3 — rs2106261 и rs7193343 — минорный аллель является фактором риска аритмии как в группе пациентов с изолированной ФП, так и в объединенной группе пациентов с изолированной ФП и ФП на фоне артериальной гипертензии.

Для полиморфного маркера rs3807989 гена CAVI также выявлено статистически достоверное различие в частоте встречаемости гомозиготы по минорному аллелю, но при этом значение OR риска аритмии >1 говорит в пользу того, что данный генотип является не фактором риска ФП, а оказывает протективное воздействие в отношении риска аритмии.

Для маркера rs2200733 гена PITX2 (аллель риска Т), rs3903239 гена PRRX1 (аллель риска С) и двух маркеров гена ZFH3 — rs2106261 и rs7193343 (для обоих — аллель риска А) выявлены статистически значимые различия выборки пациентов и группы контроля по частоте встречаемости аллельных вариантов. При этом статистически значимое значение OR>1 имеет место как при анализе общей группы пациентов (изолированная фибрилляция предсердий + фибрилляция предсердий с сопутству-

Таблица 4. Частота минорных аллелей анализируемых полиморфных маркеров (жирным шрифтом выделены полиморфизмы, для которых статистически достоверно отличается частота встречаемости у пациентов и контрольной группы)

Ген	Однонуклеотидный полиморфизм	Тип замены* (основной/минорный аллель)	Частота минорного аллеля		
			ФП/АГ + ИФП** (n=174)	ИФП*** (n=94)	К**** (n=124)
<i>AGXT2</i>	rs37369	G/A	0,115	0,116	0,125
	rs16899974	G/T	0,225	0,243	0,219
<i>PDE4D</i>	rs12188950	G/A	0,187	0,169	0,188
	rs152312	G/A	0,11	0,111	0,08
	rs12291814	G/C	0,000	0,000	0,000
	rs583362	C/G	0,595	0,526	0,456
	rs1805124	A/G	0,213	0,229	0,252
	rs137854601	G/A	0,000	0,0000	0,0000
	rs7164883	A/G	0,253	0,2615	0,2304
	rs3807989	G/A	0,367	0,324	0,432
	rs2200733	C/T	0,341	0,363	0,149
	rs10033464	G/T	0,123	0,122	0,116
	rs3903239	T/C	0,535	0,547	0,355
	rs3825214	A/G	0,192	0,203	0,247
	rs2106261	G/A	0,257	0,274	0,145
	rs6499600	G/A	0,385	0,426	0,379
	rs7193343	G/A	0,260	0,274	0,186

Примечание. * — генотип приведен в соответствии с кодирующей цепью гена; основной аллель/минорный; ** — объединенная группа пациентов с идиопатической фибрилляцией и с фибрилляцией с сопутствующей артериальной гипертензией; *** — пациенты только с фибрилляцией предсердий без сопутствующей гипертензии; **** — контрольная группа. *n* — число человек в группе.

ющей артериальной гипертензией), так и при анализе группы пациентов с изолированной фибрилляцией предсердий. Для исследуемых полиморфизмов этих генов OR в группе пациентов с изолированной фибрилляцией предсердий выше, чем показатель в общей группе пациентов.

Также для полиморфного маркера rs3807989 гена кавеолина *CAVI* выявлено статистически значимое различие в частоте встречаемости гомозиготы по минорному аллелю AA между пациентами и контрольной группой. Однако полученные величины OR для общей группы пациентов, а также для группы пациентов с идиопатической фибрилляцией предсердий в данном случае свидетельствуют о возможном протективном характере этого генотипа. Аналогичная картина наблюдалась для гомозиготы по минорному аллелю CC маркера rs583362 гена сарколипина *SLN*, но различия оказались статистически недостоверными (данные не приведены). Различия групп с изолированной фибрилляцией предсердий и фибрилляцией предсердий с сопутствующей артериальной гипертензией по частоте встречаемости аллелей и генотипов для всех остальных полиморфизмов оказались статистически незначимы.

Из табл. 4 видно, что для полиморфных маркеров rs2200733, rs3903239, rs2106261 и rs7193343 (т.е. связанных с повышенным риском ФП) увеличивается разница в частоте гетерозигот и гомозигот по минорному аллелю между пациентами и контрольной группой, если скорректировать группу пациентов, исключив из нее лиц с сопутствующей артериальной гипертензией: для rs2200733 разница составила 2,29 и 2,43 раза, для rs3903239 — 1,51 и 1,54, для rs2106261 — 1,77 и 1,89, для rs7193343 — 1,4 и 1,47. Из табл. 2 также следует, что OR риска аритмии для носителей минорных аллелей rs2200733, rs3903239,

rs2106261 и rs7193343 в группе с изолированной фибрилляцией предсердий по сравнению с группой с фибрилляцией предсердий и сопутствующей артериальной гипертензией возрастает. Для генотипа AA в области полиморфного маркера rs3807989 наблюдается аналогичная ситуация: отношение шансов в группе с изолированной фибрилляцией предсердий снижается относительно общей группы пациентов.

Но незначительность этих изменений (увеличение частоты составило от 2,2 до 6,6%) не позволяет предположить, что артериальная гипертензия является фактором, влияющим на генетическую предрасположенность к фибрилляции предсердий.

Нежелательные явления

Нежелательные явления отсутствовали.

Обсуждение

Ген *PITX2* кодирует один из транскрипционных факторов, регулирующих активность генов семейства *PLOD* (лизил-гидроксилаз проколлагена), а также играющих важную роль в развитии органов грудной полости, в частности левого предсердия и легочных вен [8]. Этот фактор также считается ключевым в асимметричном морфогенезе сердца [10]. Известно 6 транскрипционных вариантов РНК *PITX2*, кодирующих 3 изоформы *Pitx2* — *a*, *b* и *c*. Все 3 изоформы экспрессируются в сердце. Известно, что экспрессионный профиль правого и левого предсердия различен, в том числе это касается и *PITX2*. С-изоформа мРНК *Pitx2* экспрессируется преимущественно в левом предсердии, считается наиболее существенной в кардиогенезе и влияет на активность генов, кодирующих

ионные каналы сердца [11]. М. Pérez-Hernández и соавт. приводят данные о том, что у пациентов с хронической фибрилляцией предсердий наблюдается повышенная экспрессия С-изоформы, что, предположительно, влияет на экспрессию генов *KCNQ1* и *KCNE1* (возможно, опосредованно — через активность гена *NPPA*, кодирующего натрийуретический пептид) [12]. Вообще ген *PITX2* является звеном в регуляции активности целой цепочки генов, экспрессируемых в синоатриальном узле и взаимно влияющих на активность друг друга, — *SHOX2*, *TBX3*, *HSCN4* и *PITX2* [13].

Полиморфизмы в белок-кодирующей области гена *PITX2* приводят к серьезным системным нарушениям, таким как синдром Аксенфельда–Ригера [14, 15]. С точки зрения патогенеза идиопатической фибрилляции предсердий интерес представляют однонуклеотидные маркеры в некодирующей области этого гена, локализованные в 4q25, находящиеся на расстоянии от 20 до 200 тыс. пар нуклеотидов от 5'-конца гена *PITX2* [16], в частности rs2200733 или rs10033464, локализованные примерно в 150–160 тыс. пар нуклеотидов от 5'-конца гена *PITX2*. Из этих полиморфизмов наиболее существенным фактором риска фибрилляции предсердий считается rs2200733. В литературе приводятся данные о степени риска, связанной с носительством минорного аллеля Т для ряда европейских (OR=1,6–2,17) [3, 17, 18], китайской (OR=1,81) [19, 20] и индийской (OR=2,8) [21] популяций. На основании полученных нами результатов можно сделать вывод о том, что аллельный вариант Т полиморфного маркера rs2200733 является фактором риска идиопатической ФП (не связанной с гипертонией) и для российской популяции.

Генотип пациентов с фибрилляцией предсердий в области полиморфизма rs2200733 может служить прогностическим критерием эффективности терапии антиаритмическими препаратами. В последнее время этот полиморфизм рассматривается в связи с эффективностью радиочастотной абляции при аритмии. У носителей аллеля Т увеличен риск рецидива предсердной тахикардии/фибрилляции после радиочастотной абляции [22, 23]. Этот аллельный вариант также связан с увеличенным диаметром правого предсердия, при этом полиморфизмы rs2106261 и rs7193343 в гене *ZFHX3*, также являющиеся факторами риска идиопатической ФП и анализируемые в нашей работе, не связаны с риском рецидива аритмии. В любом случае все эти полиморфизмы можно рассматривать и как критерий при выборе тактики лечения фибрилляции предсердий, и как прогностический фактор результата лечения [24], но при этом анализировать полиморфизмы в генах транскрипционных факторов следует независимо друг от друга, поскольку их взаимное влияние не подтверждается [25].

Остается открытым вопрос, каким образом rs2200733 отражает изменение функционирования гена *PITX2*, и, соответственно, каким должен быть подход к лечению пациента-носителя аллеля Т с фибрилляцией предсердий. Основная гипотеза влияния генотипа маркера rs2200733 на риск аритмии заключается в предположении, что уровень экспрессии гена *PITX2* связан с генотипом в области полиморфного маркера rs2200733. Предполагается, что межгенный участок, в котором локализована область полиморфизма, является цис-регуляторным элементом, влияющим на активность промотора изоформы *Pitx2c* [26]. Как уже упоминалось выше, ген *PITX2* влияет на активность генов *KCNQ1* и *KCNE1*. Экспериментально установлено, что терапевтический эффект блокаторов

Na-каналов зависит от уровня экспрессии С-изоформы *Pitx* [4, 27].

Тем не менее приводимые в литературе данные о том, влияет ли полиморфизм rs2200733 на экспрессию *PITX2*, и на какую именно изоформу, противоречивы. Согласно R. Martin и соавт. [4], общая экспрессия *Pitx2a* в ушках предсердий повышается в 2 раза в случае аллеля Т в области полиморфизма rs2200733. С другой стороны, S. Gore-Panter и соавт. приводят данные о том, что уровень экспрессии изоформы С, являющейся специфической для сердца, меняется у пациентов с ФП в анамнезе и в момент взятия биопсии (относительно пациентов с ФП в анамнезе, но с синусовым ритмом во время операции), однако корреляция между уровнем экспрессии и наличием полиморфизма не обнаружена [28]. Область гена, в которой находится полиморфизм rs2200733, в последние годы идентифицируется как последовательность, кодирующая регуляторную РНК PANCER, относящуюся к длинным некодирующим РНК [29]. Эта РНК регулирует процесс дифференцировки кардиомиоцитов, но уровень ее экспрессии также не зависит от полиморфизмов данной области 4q25.

Не исключено, что экспрессия гена *PITX2* при фибрилляции предсердий находится в зависимости от других генетических факторов. Например, J. Ye с соавт. приводят данные о том, что снижение уровня экспрессии *Pitx2c* в случае минорного аллеля rs2595104 является следствием нарушения взаимодействия энхансерной области гена *PITX2* и регуляторного белка TFAP2a [30]. Целесообразным кажется поиск факторов регуляции — кандидатов на взаимодействие с локусом, в котором расположен rs2200733. Также возможно, что противоречивые данные о влиянии rs2200733 на экспрессию *PITX2* связаны с ограниченным числом анализируемых образцов.

Перспективным представляется анализ активности комплекса генов, специфически экспрессируемых в левом предсердии пациентов с фибрилляцией, особенно с учетом быстрого накопления информации благодаря активно проводимым исследованиям в этом направлении [11, 31].

Ген *ZFHX3* также кодирует фактор транскрипции, регулирующий мио- и нейрогенез. Y. Huang и соавт. предложили модель молекулярного механизма с участием этого гена и его продукта, а также с участием других факторов регуляции транскрипции [32]. Согласно этой модели, гены *ZFHX3* и *PITX2* позитивно регулируют экспрессию друг друга по принципу обратной связи и в то же время совместно участвуют в регуляции экспрессии генов других транскрипционных факторов — *NPPA*, *TBX5* и *NKX2.5*. Согласно данным Y. Huang и соавт. [32], минорные аллели rs2106261 и rs2200733 обладают кумулятивным эффектом в отношении риска фибрилляции предсердий.

Распределение полиморфных маркеров в гене *ZFHX3*, ассоциированных с фибрилляцией предсердий, варьирует в зависимости от исследуемой популяции. Полученные нами результаты говорят о том, что частота встречаемости у контрольной группы минорных аллелей rs2106261 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/submissions/1356832575>, 3025162) и rs7193343 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/submissions/1356831870>, 90439261) в российской популяции сходны с таковыми для европейской популяции (данные 1000 Genomes и HarMap).

Ген *PRRX1* кодирует фактор регуляции транскрипции, влияющий на активность множества факторов роста и дифференцировки. Полиморфный маркер rs3903239 впервые подробно был проанализирован в связи с арит-

мией [33] и рассматривался как фактор риска идиопатической фибрилляции предсердий. В отличие от *PITX2* и *ZFH3*, механизм влияния этого гена на развитие ФП практически не исследован; известно, что он участвует в развитии крупных кровеносных сосудов, являясь фактором регуляции пролиферации гладкомышечных клеток [34, 35]. Имеющаяся на данный момент информация о влиянии полиморфизмов гена *PRRX1* на возникновение ФП касается только наличия самого факта связи полиморфизмов этого гена и риска ФП [36, 37]. Поскольку анализируемый полиморфизм находится на расстоянии 66 тыс. пар нуклеотидов от 5'-конца гена *PRRX1*, было бы логичным предположить, что данная область каким-то образом ответственна за регуляцию активности этого гена. Стоит отметить, что аллель С маркера rs3903239 является доминирующим у жителей Юго-Восточной Азии (данные 1000 Genomes и HapMap; https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/submissions_1293377402_20506462); более того, в китайской популяции фактором риска, хотя и незначительным (OR=1,14), считается аллель Т(А) в области rs3903239 [38]. В последнее время появилась новая информация о влиянии точечных полиморфизмов в регуляторных областях гена *PRRX1* на активность этого гена и риск возникновения аритмии. N. Tucker и соавт. приводят данные о том, что минорный аллель С полиморфного маркера rs577676, локализованного в энхансерной области гена *PRRX1*, снижает экспрессию этого гена [39]. С помощью моделей с нокаутированным геном *PRRX1* показано, что такое снижение приводит к возникновению электрофизиологического фенотипа, связанного с риском фибрилляции. В дальнейшем по аналогии с *PITX2* [30] необходимо выявить влияющие на транскрипцию гена *PRRX1* факторы, активность которых модулируется полиморфизмами в регуляторных областях [39].

Ограничения исследования

Ограничением для данного исследования, как и в случае аналогичных исследований, является недостаточно репрезентативная выборка вследствие популяционной специфичности ассоциаций, исследуемых в данной работе. Хотя после математической обработки данных было выявлено статистически достоверное различие между частотой встречаемости аллельных вариантов ряда полиморфизмов у пациентов и контрольной группы, у распре-

деления аллелей имело место отклонение от соотношения Харди–Вайнберга. В случае пациентов это отклонение может быть связано с критерием отбора в группу (наличие заболевания).

Заключение

Полученные результаты показали, что полиморфные маркеры генов *PITX2*, *PRRX1* и *ZFH3*, кодирующих факторы регуляции транскрипции, ассоциированы с риском развития фибрилляции предсердий. Однако остается открытым вопрос, каким образом эти полиморфные маркеры влияют на функции генов и, соответственно, какой должен быть подход при коррекции состояния пациента с фибрилляцией предсердий. В связи с этим целесообразно выяснить влияние аллельных вариантов исследованных маркеров на активность гена, в котором они расположены, а в перспективе — рассмотреть возможность коррекции измененной активности гена.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Исследование выполнено в рамках комплексной темы ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева» МЗ РФ «Механизмы развития, электрофизиологические и нейрогуморальные предикторы злокачественных аритмий (ФП, ЖТ) и жизнеугрожающих состояний» № 115021210156.

Конфликт интересов. Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Участие авторов: Голухова Е.З. — разработка концепции и дизайна исследования, анализ полученных данных, редактирование текста; Минашкин М.М. — разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, статистическая обработка данных; Булаева Н.И. — разработка концепции и дизайна исследования, анализ полученных данных; Жолбаева А.З. — сбор материала, подготовка текста; Аракелян М.Г. — сбор материала, редактирование текста. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

ЛИТЕРАТУРА

- Weijs B, Pisters R, Nieuwlaar R, et al. Idiopathic atrial fibrillation revisited in a large longitudinal clinical cohort. *Europace*. 2012;14(2):184–190. doi: 10.1093/europace/eur379.
- Lubitz SA, Yin X, Fontes JD, et al. Association between familial atrial fibrillation and risk of new-onset atrial fibrillation. *JAMA*. 2010;304(20):2263–2269. doi: 10.1001/jama.2010.1690.
- Gudbjartsson DF, Arnar DO, Helgadóttir A, et al. Variants conferring risk of atrial fibrillation on chromosome 4q25. *Nature*. 2007;448(7151):353–357. doi: 10.1038/nature06007.
- Martin RI, Babaei MS, Choy MK, et al. Genetic variants associated with risk of atrial fibrillation regulate expression of *PITX2*, *CAV1*, *MYOZ1*, *C9orf3* and *FANCC*. *J Mol Cell Cardiol*. 2015;85:207–214. doi: 10.1016/j.yjmcc.2015.06.005.
- Benjamin EJ, Rice KM, Arking DE, et al. Variants in *ZFH3* are associated with atrial fibrillation in individuals of European ancestry. *Nat Genet*. 2009;41(8):879–881. doi: 10.1038/ng.416.
- Schreieck J, Dostal S, von Beckerath N, C825T polymorphism of the G-protein beta3 subunit gene and atrial fibrillation: association of the TT genotype with a reduced risk for atrial fibrillation. *Am Heart J*. 2004;148(3):545–550. doi: 10.1016/j.ahj.2004.03.024.
- Zhao LQ, Wen ZJ, Wei Y, et al. Polymorphisms of renin-angiotensin-aldosterone system gene in chinese han patients with nonfamilial atrial fibrillation. *PLoS One*. 2015;10(2):e0117489. doi: 10.1371/journal.pone.0117489.
- Mommersteeg MT, Brown NA, Prall OW, et al. Pitx2c and Nkx2-5 are required for the formation and identity of the pulmonary myocardium. *Circ Res*. 2007;101(9):902–909. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.107.161182.
- Lehnart SE, Wehrens XH, Reiken S, et al. Phosphodiesterase 4D deficiency in the ryanodine-receptor complex promotes heart failure and arrhythmias. *Cell*. 2005;123(1):25–35. doi: 10.1016/j.cell.2005.07.030.
- Galli D, Domínguez JN, Zaffran S, et al. Atrial myocardium derives from the posterior region of the second heart field, which acquires left-right identity as Pitx2c is expressed. *Development*. 2008;135(6):1157–1167. doi: 10.1242/dev.014563.
- Hsu J, Hanna P, van Wagoner DR, et al. Whole genome expression differences in human left and right atria ascertained by RNA sequencing. *Circ Cardiovasc Genet*. 2012;5(3):327–335. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.111.961631.

12. Pérez-Hernández M, Matamoros M, Barana A, et al. Pitx2c increases in atrial myocytes from chronic atrial fibrillation patients enhancing IKs and decreasing ICa,L. *Cardiovasc Res.* 2016;109(3):431–441. doi: 10.1093/cvr/cvv280.
13. Van Weerd JH, Christoffels VM. The formation and function of the cardiac conduction system. *Development.* 2016;143(2):197–210. doi: 10.1242/dev.124883.
14. Franco D, Christoffels VM, Campione M. Homeobox transcription factor Pitx2: The rise of an asymmetry gene in cardiogenesis and arrhythmogenesis. *Trends Cardiovasc Med.* 2014;24(1):23–31. doi: 10.1016/j.tcm.2013.06.001.
15. Yang HJ, Lee YK, Joo CK, et al. A Family with axenfeld-rieger syndrome: report of the clinical and genetic findings. *Korean J Ophthalmol.* 2015;29(4):249–255. doi: 10.3341/kjo.2015.29.4.249.
16. Lubitz SA, Lunetta KL, Lin H, et al. Novel genetic markers associate with atrial fibrillation risk in Europeans and Japanese. *J Am Coll Cardiol.* 2014;63(12):1200–1210. doi: 10.1016/j.jacc.2013.12.015.
17. Viviani Anselmi C, Novelli V, Roncarati R, et al. Association of rs2200733 at 4q25 with atrial flutter/fibrillation diseases in an Italian population. *Heart.* 2008;94(11):1394–1396. doi: 10.1136/hrt.2008.148544.
18. Henningsen KM, Olesen MS, Haunsoe S, Svendsen JH. Association of rs2200733 at 4q25 with early onset of lone atrial fibrillation in young patients. *Scand Cardiovasc J.* 2011;45(6):324–326. doi: 10.3109/14017431.2011.594081.
19. Shi L, Li C, Wang C, et al. Assessment of association of rs2200733 on chromosome 4q25 with atrial fibrillation and ischemic stroke in a Chinese Han population. *Hum Genet.* 2009;126(6):843–849. doi: 10.1007/s00439-009-0737-3.
20. Lee KT, Yeh HY, Tung CP, et al. Association of RS2200733 but not RS10033464 on 4q25 with atrial fibrillation based on the recessive model in a Taiwanese population. *Cardiology.* 2010;116(3):151–156. doi: 10.1159/000318172.
21. Bhanushali A, Nair A, Jagdale G, et al. Association of genetic variants at the 4q25 locus with atrial fibrillation in indian population. *J Clin Lab Anal.* 2017;31(1). doi: 10.1002/jcla.22017.
22. Chen F, Yang Y, Zhang R, et al. Polymorphism rs2200733 at chromosome 4q25 is associated with atrial fibrillation recurrence after radiofrequency catheter ablation in the Chinese Han population. *Am J Transl Res.* 2016;8(2):688–697.
23. Shoemaker MB, Bollmann A, Lubitz SA, et al. Common genetic variants and response to atrial fibrillation ablation. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2015;8(2):296–302. doi: 10.1161/CIRCEP.114.001909.
24. Huang H, Darbar D. Gene-guided therapy for catheter-ablation of atrial fibrillation: are we there yet? *J Interv Card Electrophysiol.* 2016;45(1):3–5. doi: 10.1007/s10840-015-0086-1.
25. Lin H, Mueller-Nurasyid M, Smith AV, et al. Gene-gene interaction analyses for atrial fibrillation. *Sci Rep.* 2016;6:35371. doi: 10.1038/srep35371.
26. Aguirre LA, Alonso ME, Badía-Careaga C, et al. Long-range regulatory interactions at the 4q25 atrial fibrillation risk locus involve PITX2c and ENPEP. *BMC Biol.* 2015;13:26. doi: 10.1186/s12915-015-0138-0.
27. Syeda F, Holmes AP, Yu TY, et al. PITX2 modulates atrial membrane potential and the antiarrhythmic effects of sodium-channel blockers. *J Am Coll Cardiol.* 2016;68(17):1881–1894. doi: 10.1016/j.jacc.2016.07.766.
28. Gore-Panter SR, Hsu J, Hanna P, et al. Atrial Fibrillation associated chromosome 4q25 variants are not associated with PITX2c expression in human adult left atrial appendages. *PLoS One.* 2014;9(1):e86245. doi: 10.1371/journal.pone.0086245.
29. Gore-Panter SR, Hsu J, Barnard J, et al. PANCER, the PITX2 adjacent noncoding RNA, is expressed in human left atria and regulates PITX2c expression. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2016;9(1):e003197. doi: 10.1161/CIRCEP.115.003197.
30. Ye J, Tucker NR, Weng LC, et al. A functional variant associated with atrial fibrillation regulates PITX2c expression through TFAP2a. *Am J Hum Genet.* 2016;99(6):1281–1291. doi: 10.1016/j.ajhg.2016.10.001.
31. Lin H, Dolmatova EV, Morley MP, et al. Gene expression and genetic variation in human atria. *Heart Rhythm.* 2014;11(2):266–271. doi: 10.1016/j.hrthm.2013.10.051.
32. Huang Y, Wang C, Yao Y, et al. Molecular basis of gene-gene interaction: cyclic cross-regulation of gene expression and post-GWAS gene-gene interaction involved in atrial fibrillation. *PLoS Genet.* 2015;11(8):e1005393. doi: 10.1371/journal.pgen.1005393.
33. Ellinor PT, Lunetta KL, Albert CM, et al. Meta-analysis identifies six new susceptibility loci for atrial fibrillation. *Nat Genet.* 2012;44(6):670–675. doi: 10.1038/ng.2261.
34. Ihida-Stansbury K, McKean DM, Gebb SA, et al. Paired-related homeobox gene Prx1 is required for pulmonary vascular development. *Circ Res.* 2004;94(11):1507–1514. doi: 10.1161/01.RES.0000130656.72424.20.
35. Jones FS, Meech R, Edelman DB, et al. Prx1 controls vascular smooth muscle cell proliferation and tenascin-C expression and is upregulated with Prx2 in pulmonary vascular disease. *Circ Res.* 2001;89(2):131–138. doi: 10.1161/hh1401.093582.
36. Lin H, Sinner MF, Brody JA, et al. Targeted sequencing in candidate genes for atrial fibrillation: the cohorts for heart and aging research in genomic epidemiology (CHARGE) targeted sequencing study. *Heart Rhythm.* 2014;11(3):452–457. doi: 10.1016/j.hrthm.2013.11.012.
37. Tsai CT, Hsieh CS, Chang SN, et al. Next-generation sequencing of nine atrial fibrillation candidate genes identified novel de novo mutations in patients with extreme trait of atrial fibrillation. *J Med Genet.* 2015;52(1):28–36. doi: 10.1136/jmedgenet-2014-102618.
38. Liu Y, Ni B, Lin Y, et al. The rs3807989 G/A polymorphism in CAV1 is associated with the risk of atrial fibrillation in Chinese Han populations. *Pacing Clin Electrophysiol.* 2015;38(2):164–170. doi: 10.1111/pace.12494.
39. Tucker NR, Dolmatova EV, Lin H, et al. Diminished PRRX1 expression is associated with increased risk of atrial fibrillation and shortening of the cardiac action potential. *Circ Cardiovasc Genet.* 2017;10(5). pii: e001902. doi: 10.1161/CIRCGENET-ICS.117.001902.

252

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

***Аракелян Мари Генриковна [Mari G. Arakelyan]**; адрес: 121552, Москва, Рублевское шоссе, д. 135
[address: 135, Rublevskoye shosse, 121552 Moscow, Russia]; e-mail: mariarakelyan@gmail.com, SPIN-код: 9161-9888,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5089-0169>

Жолбаева Айгерим Замирбековна [Aygerim Z. Zholbaeva]; e-mail: zamirbekkyzy@list.ru, SPIN-код: 3348-5569,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6918-7016>

Булаева Наида Ибадуллаевна, д.м.н. [Naiga I. Bulaeva, MD, PhD]; e-mail: naida_bulaeva@yahoo.com,
SPIN-код: 8979-7098, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5091-0518>

Голухова Елена Зеликовна, д.м.н., профессор, академик РАН [Elena Z. Golukhova, MD, PhD, Professor];
e-mail: egolukhova@yahoo.com, SPIN-код: 9334-5672, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6252-0322>

Минашкин Михаил Михайлович [Michail M. Minashkin]; e-mail: mminashkin@gmail.com, SPIN-код: 5693-0057,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0726-7563>