

Сочетания вариантов митохондриальной ДНК как фактор риска развития нарушений сердечного ритма

Голубенко М.^{1*}, Корепанов В.², Бабушкина Н.¹, Васильева О.¹, Валиахметов Н.¹,
Зарубин А.¹, Атабеков Т.², Витт К.², Афанасьев С.², Назаренко М.¹

¹ НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, Томск, Россия

² НИИ кардиологии Томского НИМЦ, Томск, Россия

* maria.golubenko@medgenetics.ru

Ключевые слова: митохондриальная ДНК; генетический полиморфизм; внезапная сердечная смерть; аритмии

Мотивация и цель: Одним из опасных осложнений ишемической болезни сердца (ИБС) являются нарушения ритма сердца, которые могут стать причиной внезапной сердечной смерти. Выявление факторов риска развития этих нарушений, в том числе генетических, является актуальной задачей. Вероятным звеном физиологических нарушений, развивающихся с возрастом и ведущих к повышению риска аритмии, являются митохондрии. Митохондриальная дисфункция может быть инициировать нарушения ритма сердца как напрямую, поскольку митохондрии производят необходимый для работы сердца АТФ, так и опосредованно, через повышение концентрации активных форм кислорода, повреждающих клеточные структуры, нарушение ионного баланса, реполяризацию мембран и апоптоз [1]. Митохондрии имеют собственный геном – митохондриальную ДНК (мтДНК), которая кодирует несколько субъединиц комплексов дыхательной цепи. Принимая во внимание, что мтДНК отличается высоким уровнем мутаций и, следовательно, популяционного полиморфизма, а также наследуется без рекомбинации, следует ожидать, что отдельные «нормальные» варианты мтДНК или их сочетания могут быть ассоциированы с изменением функциональных параметров митохондрий. Так как речь идет о популяционном полиморфизме, то величина этих эффектов мала, и они могут проявиться только в позднем возрасте, по мере развития ассоциированных с возрастом заболеваний.

Значимость вариаций мтДНК для фенотипа показана в ряде исследований, проведенных на гибридных линиях клеток, в которых отдельные генотипы мтДНК (гаплогруппы) различались по параметрам клеточного дыхания [2-5]. Кроме того, выявлены ассоциации полиморфизма мтДНК с различными многофакторными заболеваниями и их осложнениями, в том числе с внезапной смертью [6-10]. Цель исследования – поиск вариантов мтДНК и/или их сочетаний, влияющих на риск развития жизнеугрожающих аритмий на фоне ИБС.

Методы и алгоритмы: Исследована полная последовательность мтДНК в выборке пациентов с нарушениями ритма сердца (НРС), которым была проведена по показаниям имплантация кардиовертера-дефибриллятора (N=81, средний возраст 64 года) и в контрольной группе индивидов без признаков сердечно-сосудистых заболеваний (N=59, средний возраст 65 лет). Секвенирование мтДНК проводили с помощью метода NGS на приборе MiSeq (Illumina, США), процесс подготовки образцов и обработки данных NGS для мтДНК описан ранее [7]. Для каждого

образца замены аминокислот в митохондриальных генах белков были сгруппированы по комплексам дыхательной цепи митохондрий (I, III, IV, V), а нуклеотидные замены в генах рРНК рассматривали отдельно для 12S рРНК, 16S рРНК и транспортных рРНК. Замены в «корне» основных гаплогрупп не учитывали (например, не была включена в анализ замена A12308G в гене тРНК лейцина, определяющая гаплогруппу U, замена аминокислоты Y304H в гене ND1 (T4216C, гаплогруппы T и J) и др.). Сравнение частот отдельных вариантов, гаплогрупп, сочетаний полиморфизмов проводили с помощью критерия Хи-квадрат или точного критерия Фишера.

Результаты: Сравнение частот основных гаплогрупп мтДНК в исследуемых выборках не выявило статистически значимых различий. Также не было выявлено различий по частоте отдельных замен, встречающихся в разных гаплогруппах, например, A10398G (T114A ND3), G3010A (16S rRNA). В то же время сравнение числа замен, зарегистрированных в разных группах генов в одном гаплотипе, показало преобладание таких «множественных» замен у пациентов с нарушениями ритма сердца, по сравнению с контрольной группой (Рисунок 1). Статистически значимые различия были получены при сравнении доли пациентов в выборке, имеющих замены аминокислот (для субъединиц, кодируемых мтДНК) в двух или трех комплексах дыхательной цепи ($p=0,003$; $X^2=10,37$), а также при сравнении доли пациентов, имеющих нуклеотидные замены одновременно в 12S рРНК и 16S рРНК ($p=0,03$; $X^2=4,7$).

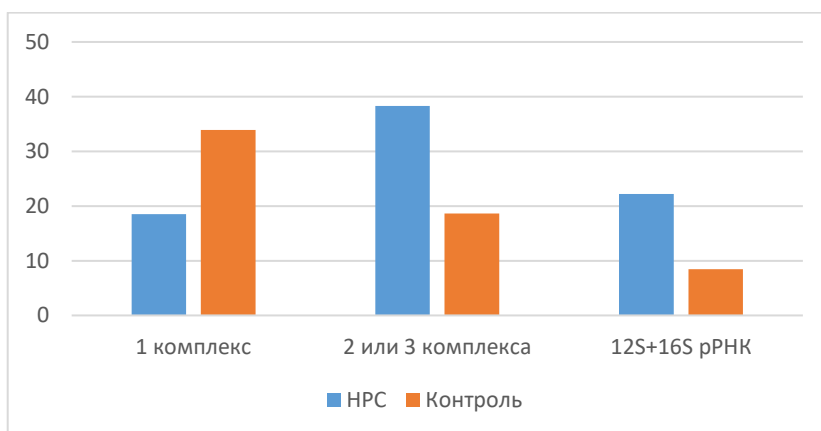


Рис. 1. Частота регистрации миссенс-замен одновременно в двух и более комплексах дыхательной цепи, а также одновременно в двух генах рРНК, кодируемых мтДНК, у пациентов с нарушениями ритма сердца и в контрольной выборке. Частоты указаны в процентах

Выводы: Таким образом, «нагруженность» митохондриального генома заменами в генах различных комплексов дыхательной цепи, а также одновременно в обоих генах рибосомных РНК, может иметь значение как фактор риска развития жизнеугрожающих аритмий у пациентов с ишемической болезнью сердца. Полученные результаты показывают, что присутствие в митохондриальном гаплотипе индивида множественных вариантов в различных генах, по-видимому, вносит вклад в усиление дисфункции митохондрий при возраст-ассоциированных заболеваниях и/или при старении.

Mitochondrial DNA variants combinations as a risk factor for developing of arrhythmia

Golubenko M.^{1*}, Korepanov V.², Babushkina N.¹, Vasilyeva O.¹, Valiakhmetov N.¹, Zarubin A.¹, Atabekov T.², Vitt K.², Afanasiev S.², Nazarenko M.¹

¹ Research Institute of Medical Genetics, Tomsk NRMC, Tomsk, Russia

² Cardiology Research Institute, Tomsk NRMC, Tomsk, Russia

* maria.golubenko@medgenetics.ru

Key words: mitochondrial DNA; genetic polymorphism; sudden cardiac death; arrhythmias

Motivation and Aim: One of the dangerous complications of coronary heart disease (CHD) is heart rhythm disturbances, which can cause sudden cardiac death. Identification of risk factors for the development of these conditions, including genetic ones, is an actual task. Mitochondria are a likely link in physiological dysregulation that develop with age and lead to an increased risk of arrhythmia. Mitochondrial dysfunction can be associated with cardiac arrhythmias either directly, as mitochondria produce the ATP for heart functioning, or indirectly, through an increase in the concentration of reactive oxygen species that damage cellular structures, disruption of the ion balance, membrane repolarization and apoptosis [1]. Mitochondria contain their own genome, mitochondrial DNA (mtDNA), which encodes several subunits of the respiratory chain complexes. Taking into account that human mtDNA is characterized by a high mutation rate and, therefore, extensive population polymorphism, and is inherited without recombination, it should be expected that “normal” mtDNA variants or their combinations may be associated with changes in the functional parameters of mitochondria. It should be noted that since we are talking about population polymorphism, the effect sizes for these variants is small, and they can only appear at a later age, as age-associated diseases develop.

The significance of mtDNA variations for phenotype is shown in a number of studies conducted on cybrid cell lines, in which individual mtDNA genotypes (haplogroups) differed in parameters of mitochondrial respiration [2-5]. In addition, associations of mtDNA polymorphism with various multifactorial diseases and their complications, including sudden death, have been identified [6-10]. The purpose of the study is to search for mtDNA variants and/or their combinations that affect the risk of developing life-threatening arrhythmias as a complication of coronary artery disease.

Methods and Algorithms: The complete sequence of mtDNA was studied in a sample of patients with cardiac arrhythmias, who underwent implantation of a cardioverter-defibrillator (N=81, average age 64 years) and in a control group of individuals without signs of cardiovascular diseases (N=59, average age 65 years). MtDNA sequencing was carried out using the NGS method on a MiSeq instrument (Illumina, USA), the process of sample preparation and processing of NGS data for mtDNA is described in [7]. For each sample, amino acid substitutions were registered in the mitochondrial genes of the subunits of the mitochondrial respiratory chain complexes, depending on the complex (I, III, IV, V), as well as nucleotide substitutions in the ribosomal (12S and 16S) and

transport RNA genes encoded by the mitochondrial genome. Substitutions in the “root” of the main haplogroups were not taken into account (for example, the A12308G substitution in the leucine tRNA gene, which determines haplogroup U, the Y304H amino acid substitution in the ND1 gene (T4216C), etc., were not included in the analysis). Comparison of the frequencies of individual variants, haplogroups, and combinations of polymorphisms was carried out using the Chi-square test or Fisher's exact test.

Results: Comparison of the main mtDNA haplogroups frequencies in the studied samples did not reveal statistically significant differences. There were also no differences in the frequency of individual substitutions repeatedly found in different haplogroups, for example, A10398G (T114A in ND3), G3010A (16S rRNA). At the same time, a comparison of the number of substitutions registered in different “classes” of genes in one haplotype showed the predominance of such “multiple” substitutions in patients with cardiac arrhythmias compared to the control group (Figure 1). Statistically significant differences were obtained when comparing the proportion of patients with amino acid substitutions in two or three complexes of the respiratory chain ($p=0.003$; $X^2=10.37$), as well as when comparing the proportion of patients with nucleotide substitutions simultaneously in 12S rRNA and 16S rRNA ($p=0.03$; $X^2=4.7$).

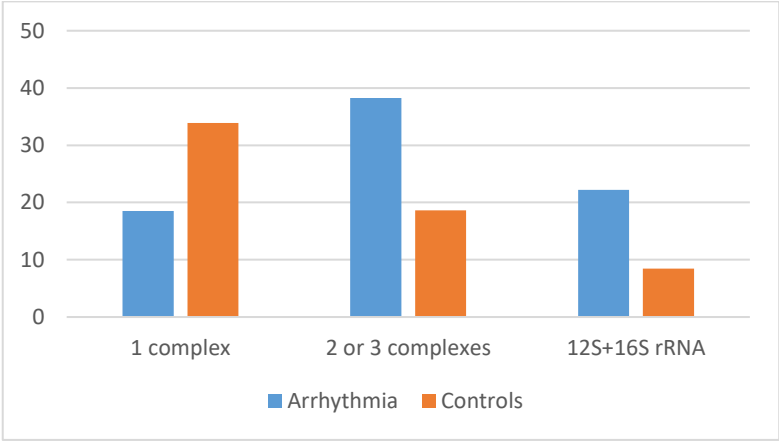


Fig. 1. Frequency of missense substitutions in two or more complexes of the respiratory chain simultaneously, as well as in both rRNA genes encoded by mtDNA, in patients with cardiac arrhythmias and in the control sample. Frequencies are given as percentages

Conclusion: Thus, the “variation load” of the mitochondrial genome with substitutions in the genes of different respiratory chain complexes, as well as simultaneously in both ribosomal RNA genes, may have impact as a risk factor for the development of life-threatening arrhythmias in patients with coronary heart disease. The results indicate that the presence of multiple variants in different genes within an individual's mitochondrial haplotype appears to contribute to increased mitochondrial dysfunction in age-associated diseases and/or aging.

Funding: The study is supported by Russian Science Foundation (No. 24-24-00527).

Список литературы/References

1. Yang K.C., Bonini M.G., Dudley S.C. Jr. Mitochondria and arrhythmias. *Free Radic Biol Med.* 2014;71:351-361
2. Lin T.K. et al. The creation of cybrids harboring mitochondrial haplogroups in the Taiwanese population of ethnic Chinese background: an extensive in vitro tool for the study of mitochondrial genomic variations. *Oxid Med Cell Longev.* 2012;2012:824275
3. Kenney M.C. et al. Molecular and bioenergetic differences between cells with African versus European inherited mitochondrial DNA haplogroups: implications for population susceptibility to diseases. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1842(2):208-219
4. Zhou H. et al. Generation and Bioenergetic Profiles of Cybrids with East Asian mtDNA Haplogroups. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:1062314
5. Panvini A.R. et al. Differential mitochondrial and cellular responses between H vs. J mtDNA haplogroup-containing human RPE transmitochondrial cybrid cells. *Exp Eye Res.* 2022;219:109013
6. Голубенко М.В. и др. Ассоциации полиморфизма митохондриальной ДНК с инфарктом миокарда и прогностически значимыми признаками атеросклероза. *Молекулярная биология.* 2015;49(6):968-976
[Golubenko M.V. et al. Association of mitochondrial DNA polymorphism with myocardial infarction and prognostic signs for atherosclerosis. *Mol Biol.* 2015;49(6):968-976 (in Russian)]
7. Голубенко М.В. и др. Ассоциация вариантов гаплогруппы H1 митохондриальной ДНК с риском сердечно-сосудистых катастроф. *Научные результаты биомедицинских исследований.* 2019;5(4):19-31
[Golubenko M.V. et al. Association of the mitochondrial DNA haplogroup H1 variants with the risk of acute cardiovascular events. *Res Results Biomed.* 2019;5(4):19-31 (in Russian)]
8. Голубенко М.В. и др. Полиморфизм митохондриальной ДНК и ишемия миокарда: ассоциация гаплогруппы H. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины.* 2021;36(4):70-77
[Golubenko M.V. et al. Mitochondrial DNA polymorphism and myocardial ischemia: Association of haplogroup H with heart failure. *Sib J Clin Exp Med.* 2021;36(4):70-77 (in Russian)]
9. Kytövuori L. et al. Mitochondrial DNA variation in sudden cardiac death: a population-based study. *Int J Legal Med.* 2020;134(1):39-44
10. Roselló-Díez E. et al. Mitochondrial genetic effect on atrial fibrillation: A case-control study. *Mitochondrion.* 2021;56:15-24