

**Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«РОССИЙСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ХИРУРГИИ ИМЕНИ  
АКАДЕМИКА Б.В. ПЕТРОВСКОГО»**

*На правах рукописи*

**ПОЛЯК  
Маргарита Евгеньевна**

**КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ СИНДРОМА  
НЕКОМПАКТНОГО МИОКАРДА ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА У  
РОССИЙСКИХ БОЛЬНЫХ**

*03.02.07 – Генетика*

**Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук**

**Научный руководитель:  
доктор медицинских наук  
Заклязьминская Е.В.**

**Москва – 2018**

## Содержание

<b>Введение .....</b>	<b>6</b>
<b>Глава 1. Обзор литературы .....</b>	<b>12</b>
1.1. История изучения феномена некомпактного миокарда .....	12
1.2. Эпидемиология синдрома некомпактного миокарда левого желудочка ....	14
1.3. Этиология некомпактного миокарда левого желудочка .....	14
1.4. Инструментальные методы диагностики и диагностические критерии некомпактного миокарда левого желудочка .....	18
1.5. Генетические основы некомпактного миокарда левого желудочка .....	24
<i>1.5.1. Разнообразие генетических причин некомпактного миокарда левого желудочка .....</i>	<i>24</i>
<i>1.5.2. Спектр мутаций в генах, ассоциированных с изолированной кардиальной формой некомпактного миокарда левого желудочка .....</i>	<i>29</i>
<i>1.5.3. Медико-генетическое консультирование при некомпактном миокарде левого желудочка.....</i>	<i>33</i>
1.6. Различные подходы к терапии при синдроме некомпактного миокарда левого желудочка .....	36
<i>1.6.1. Вопросы антикоагулянтной терапии.....</i>	<i>37</i>
<i>1.6.2. Терапия сердечной недостаточности при синдроме некомпактного миокарда левого желудочка.....</i>	<i>37</i>
<i>1.6.3. Антиаритмическая терапия.....</i>	<i>38</i>
<i>1.6.4. Хирургическое лечение синдрома некомпактного миокарда левого желудочка .....</i>	<i>40</i>
1.7. Заключение.....	41
<b>Глава 2. Материалы и методы.....</b>	<b>43</b>

2.1. Общая характеристика обследованной группы пациентов .....	43
2.2. Клиническое и инструментальное обследование .....	43
2.2.1. <i>Диагностика некомпактного миокарда левого желудочка.....</i>	<i>43</i>
2.2.2. <i>Диагностика гипертрофии миокарда.....</i>	<i>45</i>
2.2.3. <i>Диагностика дилатации камер сердца.....</i>	<i>46</i>
2.3. Генеалогический анализ .....	47
2.4. Схема обследования пациентов с некомпактным миокардом левого желудочка.....	47
2.5. Молекулярно-генетическое исследование .....	48
2.5.1. <i>Выделение ДНК из крови.....</i>	<i>48</i>
2.5.2. <i>Формирование диагностической панели генов при некомпактном миокарде левого желудочка и других типах кардиомиопатий и секвенирование на платформе Ion Torrent.....</i>	<i>49</i>
2.5.3. <i>ПЦР - амплификация исследуемых фрагментов ДНК.....</i>	<i>54</i>
2.5.4. <i>Прямое двунаправленное секвенирование по Сенгеру.....</i>	<i>55</i>
2.5.5. <i>ПЦР-ПДРФ анализ.....</i>	<i>56</i>
2.5.6. <i>Дополнительное секвенирование с учетом клинической картины.....</i>	<i>57</i>
2.6. Секвенирование экзона .....	57
2.7. Биоинформатические методы .....	58
2.8. Оценка потенциального функционального значения генетического варианта.....	59
2.9. Статистический анализ полученных данных .....	60
<b>Глава 3. Результаты и обсуждение .....</b>	<b>61</b>
3.1. Клинико-генеалогическая характеристика сформированной группы пациентов .....	61

3.2. Анатомические варианты ремоделирования миокарда у пациентов с некомпактным миокардом левого желудочка .....	64
3.3. Результаты молекулярно-генетического анализа генов, входящих в панель «Синдром некомпактного миокарда левого желудочка».....	69
3.3.1. Общие результаты молекулярно-генетического анализа у пациентов с синдромом некомпактного миокарда левого желудочка .....	69
3.3.2. Результаты молекулярно-генетического анализа гена MYH7 у пациентов с синдромом некомпактного миокарда левого желудочка .....	76
3.3.3. Результаты молекулярно-генетического анализа гена MYBPC3 у пациентов с синдромом некомпактного миокарда левого желудочка .....	86
3.3.4. Результаты молекулярно-генетического анализа гена ACTC1 у пациентов с синдромом некомпактного миокарда левого желудочка .....	90
3.3.5. Результаты молекулярно-генетического анализа гена DTNA у пациентов с синдромом некомпактного миокарда левого желудочка .....	92
3.3.6. Молекулярно-генетический анализ гена LDB3 у пациентов с синдромом некомпактного миокарда левого желудочка .....	93
3.3.7. Молекулярно-генетический анализ гена LMNA у пациентов с синдромом некомпактного миокарда левого желудочка .....	95
3.3.8. Результаты молекулярно-генетического анализа гена DES у пациентов с синдромом некомпактного миокарда левого желудочка .....	97
3.3.9. Результаты молекулярно-генетического анализа генов TNNT2, TPM1, TAZ, MYL3, MYL2, у пациентов с синдромом некомпактного миокарда левого желудочка.....	101
3.3.10. Результаты молекулярно-генетического анализа генов, не вошедших в основную исследовательскую панель.....	101

3.3.11. Сочетания генетических вариантов в одном или нескольких генах у пациентов с некомпактным миокардом левого желудочка в нашей группе пациентов.....	103
3.3.12. Вопросы интерпретации генетических вариантов у пациентов с некомпактным миокардом левого желудочка в нашей группе пациентов.	105
3.3.13. Эффективность ДНК-диагностики некомпактного миокарда левого желудочка в нашей группе пациентов .....	106
3.4. Клинико-генеалогический анализ синдрома некомпактного миокарда левого желудочка .....	108
3.5. Анализ корреляций «генотип-фенотип» в группе пациентов с синдромом некомпактного миокарда левого желудочка .....	116
3.5.1. Анализ эффективности ДНК-диагностики в группах пациентов с различными вариантами ремоделирования миокарда .....	117
3.5.2. Анализ корреляций «фенотип-генотип» для различных групп пациентов.....	120
<b>Заключение.....</b>	<b>126</b>
<b>Глава 4. Выводы.....</b>	<b>128</b>
<b>Практические рекомендации.....</b>	<b>130</b>
<b>Перспективы дальнейшей разработки темы .....</b>	<b>131</b>
<b>Список сокращений.....</b>	<b>132</b>
<b>Список литературы.....</b>	<b>134</b>

## Введение

### Актуальность темы исследования

Синдром некомпактного миокарда левого желудочка (СНМЛЖ) – новое понятие в кардиологии, за последние несколько лет прошедшее путь от редких феноменологических описаний до выделения в отдельный тип кардиомиопатий. По данным отдельных эхокардиографических исследований, частота СНМЛЖ среди взрослых пациентов, направленных на эхокардиографическое обследование, колеблется в пределах 0,014-1,3%. Выявляемость СНМЛЖ у детей с кардиомиопатиями выше и составляет около 9%; природа сравнительно высокой частоты некомпактности миокарда у детей в настоящее время окончательно не установлена.

Существуют две гипотезы о природе некомпактного миокарда. Согласно «эмбриональной» гипотезе, НМЛЖ – это следствие нарушения компактизации миокарда в период эмбрионального развития. В этом случае степень распространенности НМЛЖ определяется этапом эмбрионального развития, на котором произошло нарушение компактизации. Согласно «неэмбриональной» гипотезе, НМЛЖ является возможной стадией прогрессии других кардиомиопатий, вариантом дезадаптации. Остаётся неясным, является ли феномен некомпактности миокарда изолированным признаком и как часто он сопровождается другими вариантами ремоделирования миокарда.

Противоречия в понимании природы НМЛЖ наглядно иллюстрируются различными подходами к классификации НМЛЖ как кардиомиопатии. Согласно классификации Американской Ассоциации Сердца (АНА, 2006), синдром некомпактного миокарда левого желудочка является самостоятельной формой генетически детерминированных кардиомиопатий. Однако классификация Европейского кардиологического общества (ЕКС, 2008) относит СНМЛЖ к

«неклассифицированным» кардиомиопатиям с последующим делением на «семейную» и «несемейную» формы.

Несмотря на то, что этиология и патогенез НМЛЖ изучены недостаточно, доля наследственных форм указывается стабильно высокой в разных исследованиях. Аутосомно-доминантный тип наследования описан как наиболее частый при СНМЛЖ.

К настоящему времени известны не менее 20 генов, в которых были выявлены мутации у больных с СНМЛЖ. Частота и спектр патогенных генетических вариантов в этих генах требуют детального изучения. Наиболее часто обнаруживаются мутации в генах, ответственных за развитие различных типов кардиомиопатий – генах *MYH7*, *MYBPC3*, *ACTC1*, *LMNA*, *TPM1* и др., что свидетельствует в пользу этиологической общности кардиомиопатий и некомпактности миокарда. Тем не менее, стратегия ДНК-диагностики и ее необходимый объем в настоящее время не определены. В 2018 году были опубликованы рекомендации Американского общества Сердечной Недостаточности, в которых, с одной стороны, оговариваются возможности ДНК-диагностики, с другой – подчеркивается, что эффективность ДНК-диагностики при НМЛЖ не определена.

Таким образом, актуальными целями остается изучение спектра генетических вариантов при НМЛЖ и оценка эффективности различных схем ДНК-диагностики.

### **Цель исследования**

Целью настоящей работы явилось изучение спектра генетических вариантов в генах, кодирующих основные саркомерные и структурные белки миокарда, и клинического полиморфизма НМЛЖ в группе российских пациентов.

### **Задачи исследования**

В соответствии с поставленной целью нами были сформулированы следующие задачи:

1. Провести клинико-генеалогический анализ феномена некомпактности миокарда левого желудочка, определить доли спорадических и семейных случаев, а также типы наследования семейных форм.
2. Изучить варианты структурного ремоделирования сердца, ассоциированные с синдромом некомпактного миокарда левого желудочка.
3. Проанализировать спектр генетических вариантов в таргетной панели из 13 генов, ассоциированных с синдромом НМЛЖ.
4. Оценить диагностическую эффективность сформированной панели генов в разных группах пациентов и предложить дифференциальный алгоритм ДНК-диагностики для пациентов с СНМЛЖ.
5. Изучить корреляцию «генотип-фенотип» в группах пациентов с НМЛЖ и оценить прогностическое значение генетических вариантов различных классов патогенности.

### **Научная новизна**

Диагноз НМЛЖ вошел в клиническую практику относительно недавно. Генетический полиморфизм НМЛЖ изучен недостаточно, а вопросы необходимости и объема ДНК-диагностики в настоящее время дискуссионны. Данная тема исследования является новой и актуальной, а методы исследования соответствуют современным требованиям.

В рамках настоящей работы были получены следующие результаты:

1. Изучены различные варианты ремоделирования миокарда в группе пациентов с НМЛЖ.



2. Изучены типы наследования НМЛЖ как изолированного признака и спектр генетических вариантов в 13 генах у пациентов с НМЛЖ.
3. Обнаружены новые генетические варианты в хорошо изученных генах саркомерных и структурных белков.
4. Показано, что возраст манифестации заболевания у носителей патогенных/вероятно патогенных вариантов достоверно ниже, чем у пациентов-носителей.
5. Показано, что соотношение некомпактного и компактного слоев не может являться предиктором обнаружения патогенного/вероятно патогенного генетического варианта.

### **Практическая значимость**

Создан регистр пациентов с СНМЛЖ, который включает в себя клинические данные, данные семейного анамнеза и биологический материал; создан биобанк образцов, содержащий образцы биологического материала (венозной крови) и ДНК пациентов с НМЛЖ.

Оценена целесообразность включения в протокол ДНК-диагностики 13 генов, наиболее часто ассоциированных с НМЛЖ, предложен алгоритм ДНК-диагностики, в которой учитываются различные варианты ремоделирования миокарда у пациента.

Полученные результаты и алгоритмы могут быть использованы при медико-генетическом консультировании, при выборе тактики динамического наблюдения, а также в лекционном и практическом образовательном процессе.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Анатомический феномен НМЛЖ может встречаться как в изолированной форме, так и сопровождаться различными вариантами ремоделирования

миокарда. При наследовании НМЛЖ как независимого признака преобладает аутосомно-доминантное наследование.

**2.** Эффективность предложенной схемы ДНК-диагностики, включающей в себя секвенирование панели из 13 генов, различна для пациентов с разными вариантами ремоделирования. Предложенная схема наиболее эффективна для пациентов с сочетанием НМЛЖ и гипертрофии миокарда.

**3.** Предложен дифференциальный алгоритм ДНК-диагностики для пациентов с НМЛЖ, учитывающий вариант ремоделирования миокарда и наличие/отсутствие симптомов заболевания у пациентов.

**4.** Пациенты с СНМЛЖ и выявленными генетическими вариантами IV-V классов патогенности имели достоверно более ранний возраст манифестации заболевания и наибольшую частоту ВСС в семье, но не соотношение толщины некомпактного и компактного (NC/C) слоев миокарда.

### **Соответствие диссертации паспорту специальности**

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 03.02.07 – «генетика».

### **Личный вклад автора**

Автору принадлежит ведущая роль в выборе направления исследования. Автор участвовал во всех этапах проведения исследования – его проведении, статистической обработке, анализе и обобщении полученных результатов.

### **Апробация работы**

Апробация работы проведена 13 декабря 2018 года на заседании Ученого совета ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского». Материалы диссертации доложены на Российских национальных конгрессах кардиологов (Екатеринбург, 2016 г.; Москва, 2018 г.), конференции Европейского общества генетики человека (European Society of Human Genetis

Conference, Копенгаген, 2017 г.), конгрессах Европейского кардиологического общества (European Society of Cardiology Congress, Рим, 2016 г.; European Society of Cardiology Congress, Барселона, 2017 г.).

### **Внедрение результатов работы**

По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, включая 5 статей – в изданиях, рекомендованных ВАК РФ для публикации материалов диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук.

Результаты исследования внедрены в практику медико-генетического консультирования, диагностический и лечебный процесс лаборатории медицинской генетики и отделения хирургического лечения дисфункций миокарда и сердечной недостаточности ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского», а также в лекционный курс для студентов и аспирантов ФГБНУ «Медико-генетический научный центр».

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 148 страницах машинописного текста и состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и библиографического списка (106 источника литературы: 5 отечественных и 101 иностранных). Диссертация иллюстрирована 28 таблицами и 25 рисунками.

## Глава 1. Обзор литературы

### 1.1. История изучения феномена некомпактного миокарда

Впервые феномен некомпактного миокарда был описан в 1969 году Feldt et al. [1] у трехмесячной девочки. В описанном клиническом случае отмечалось сочетание «губчатого» миокарда обоих желудочков и межжелудочковой перегородки с декстракардией, множественными аномалиями эмбриогенеза сердца, полной атриовентрикулярной блокадой и с полной транспозицией внутренних органов. В литературе встречались и более ранние описания клинических случаев повышенной трабекулярности, но они, по мнению Finsterer et al. [2], не являются случаями некомпактного миокарда. Так, в описанных Grant et al. (1926 г.) и Bellet et al. (1932 г.) случаях повышенная трабекулярность миокарда не соответствует современным диагностическим критериям НМЛЖ. Однако однозначно оценить соответствие этих описаний современным критериям сложно, поскольку эхокардиография не была доступна раньше 60-х годов XX века, а первые диагностические критерии НМЛЖ были предложены только в 1990-х годах [3].

Несколько работ, основанных на результатах патоморфологического исследования и/или вентрикулографии, подтвердили существование феномена «губчатого» миокарда [2]. Целенаправленное изучение некомпактного миокарда стало возможным после внедрения эхокардиографии в клиническую практику, и изолированный некомпактный миокард ЛЖ был описан в 1984 г [2].

Сейчас феномен «некомпактности» миокарда хорошо описан морфологически. Миокард вовлеченного в патологический процесс левого желудочка состоит из двух слоев - из тонкого компактизированного эпикардального слоя и утолщенного эндокардального слоя с выраженными трабекулами и полостями, не связанными с коронарным кровотоком. Некомпактный миокард обнаруживается в основном в верхушке левого

желудочка, латеральной стенке и, реже, в межжелудочковой перегородке, описаны и бивентрикулярные формы [4], [5]. По некоторым данным, некомпактный слой миокарда кровоснабжается хуже, чем компактный [2]. Схема компактного и некомпактного слоев показана на рисунке 1.

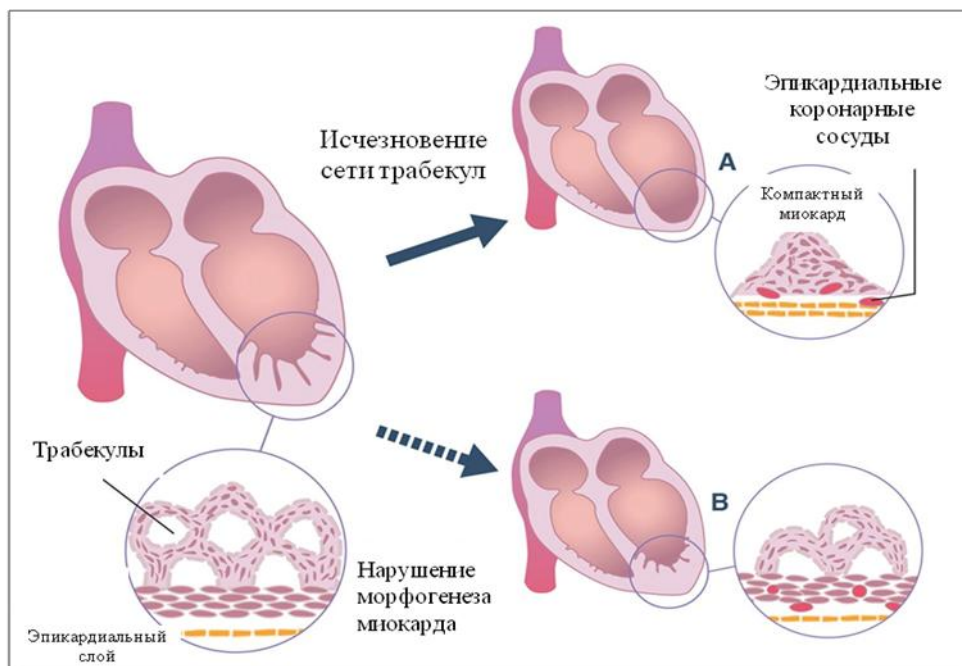


Рисунок 1. Схема соотношения компактного и некомпактного слоев в норме (А) и в патологии (В)[6], ред.

Клинически синдром некомпактного миокарда левого желудочка проявляется триадой симптомов: сердечной недостаточностью, наличием желудочковых аритмий и системной тромбоэмболии. Однако понятие «синдром» означает устойчивое сочетание симптомов с едиными этиологией и патогенезом. На сегодняшний день нет единого мнения об этиологии и патогенезе как самого синдрома некомпактности, так и его клинических проявлений. Учитывая эту неопределенность, многие авторы ставят вопрос о правомерности термина «синдром» применительно к некомпактному миокарду левого желудочка. Кроме того, описаны пациенты с некомпактным миокардом ЛЖ и отсутствием клинических проявлений [5]. Однако сроки динамического наблюдения за такими пациентами ограничены, и нет данных, как долго они остаются бессимптомными

после постановки диагноза, и есть ли изменения в качестве и продолжительности жизни.

## **1.2. Эпидемиология синдрома некомпактного миокарда левого желудочка**

Несмотря на прогресс, достигнутый в визуализации и диагностике синдрома СНМЛЖ, его распространённость в популяции точно не определена. По данным нескольких эхокардиографических исследований, частота СНМЛЖ среди взрослых пациентов, направленных на эхокардиографическое обследование, колеблется в пределах 0,014-1,3% [4]. Среди пациентов с сердечной недостаточностью частота СНМЛЖ выше и составляет около 3% [6]. Такие разные оценки частоты СНМЛЖ связаны, скорее всего, с различными подходами к диагностике и разными методами визуализации. Самая высокая частота СНМЛЖ была обнаружена среди пациентов детского возраста – 9% от всех случаев кардиомиопатии у детей [7]. Таким образом, по данным нескольких ретроспективных эхокардиографических исследований, СНМЛЖ является третьей по частоте кардиомиопатией детского возраста после ДКМП (58,6%) и ГКМП (25,5%). Природа высокой частоты СНМЛЖ у детей неясна.

Возраст постановки диагноза варьирует в очень широких пределах, от младенчества до старости. По данным нескольких исследований, средний возраст на момент диагностики для взрослых пациентов составляет 40-50 лет, для детей – около 5-7 лет [2]. Было также показано, что НМЛЖ чаще встречается у мужчин – по разным оценкам, в 56-82% случаев [2]. Также, по некоторым данным, НМЛЖ более распространен среди представителей негроидной расы, чем среди европеоидов [2].

## **1.3. Этиология некомпактного миокарда левого желудочка**

Существует две гипотезы возникновения феномена некомпактного миокарда левого желудочка – «эмбриональная» и «неэмбриональная» (или гипотеза стадии кардиомиопатий).

Согласно эмбриональной гипотезе, НМЛЖ – это следствие нарушения компактизации миокарда в период эмбрионального развития.

В эмбриогенезе камеры обоих желудочков сердца развиваются в результате выпячивания наружной кривизны миокарда бульбовентрикулярной складки [8]. Этот процесс происходит параллельно с формированием трабекул, ориентированных снаружи от компактного эндокардиального слоя кнутри, в направлении внеклеточного матрикса (кардиального геля) и первичной полости желудочков [8]. Рост миокарда тесно коррелирует с увеличением трабекулярности и формированием «губчатого» миокарда. К концу первого триместра внутриутробного развития в эмбриональном сердце наблюдаются желудочковые трабекулы в виде эндокардиальных выступов. Функциональное значение трабекулярности в эмбриональном сердце изучено недостаточно. Возможно, за счет трабекул обеспечивается возможность наращивания массы миокарда, увеличивается соотношение «поверхность-объем» и осуществляется внутрисердечный кровоток до развития коронарных артерий ([9], [2]).

Начиная с 8 недели внутриутробного развития, трабекулярный слой компактизируется, и к 4 месяцу (по некоторым данным – к 18-ой неделе [9]) гестации компактизированный миокард уже составляет большую часть сердца эмбриона. Компактизация трабекулярного слоя происходит по направлению от основания сердца к верхушке и снаружи вовнутрь – от эпикарда к эндокарду. Процесс завершается формированием спиральной структуры волокон миокарда, ответственной за «скручивание» миокарда во время сокращения [2]. Некоторые данные свидетельствуют о том, что процесс компактизации запускается сосудистым эндотелиальным фактором роста А, или ангиопоэтином [2]. Нарушение процесса компактизации приводит к возникновению глубоких межтрабекулярных пространств, которые, предположительно, сообщаются с полостью левого желудочка при изолированном НМЛЖ или с коронарными артериями в случае неизолированного НМЛЖ [2].

В пользу гипотезы нарушения эмбрионального развития говорят несколько фактов. Во-первых, верхушка сердца всегда вовлечена в патологический процесс при СНМЛЖ, а именно на верхушке заканчивается процесс компактизации (феномен «запаздывания»). Во-вторых, слой некомпактного миокарда располагается всегда эндокардиально, что соответствует направлению компактизации «снаружи вовнутрь». В-третьих, многочисленные описания диагностики СНМЛЖ внутриутробно и у новорожденных не позволяют считать развитие НМЛЖ исключительно последствием длительно текущей кардиомиопатии [10],[8],[11],[12].

Известно большое число генов, контролирующих эмбриогенез сердца, однако их точная роль в процессах компактизации миокарда в эмбриональном периоде изучена недостаточно. Также обсуждается роль генов, кодирующих саркомерные белки миокарда, в нормальном эмбриогенезе сердца [9]. Однако эти гипотезы нуждаются в экспериментальном и клиническом подтверждении.

«Неэмбриональная» гипотеза рассматривает некомпактный миокард как проявление функциональной дезадаптации, возможный этап в развитии кардиомиопатии. Эта гипотеза подкрепляется фактами обнаружения НМЛЖ у взрослых пациентов, у которых в ходе предыдущих эхокардиографических исследований структурных аномалий миокарда выявлено не было. Также, по данным E. Arbustini et al. [13], транзиторная повышенная трабекулярность миокарда обнаруживается более чем у 25% беременных женщин, что позволяет рассматривать ее как вариант физиологической адаптации к увеличенной нагрузке на левый желудочек. Авторы приводят свидетельства наличия некомпактного миокарда у молодых спортсменов и у пациентов с серповидно-клеточной анемией. В целом, авторы гипотез о вторичном характере НМЛЖ связывают его возникновение с адаптацией миокарда ЛЖ к систолической дисфункции или к перегрузке объемом.



Описаны случаи «регресса» эхокардиографических признаков НМЛЖ после успешной ресинхронизирующей терапии [14], что также более вероятно в случае вторичного характера процесса. Впрочем, некоторые авторы отмечают, что к «исчезновению» некомпактного слоя может приводить утолщение компактного и «поглощение» им некомпактного слоя или растяжение и «расплющивание» некомпактного слоя вследствие дилатации ЛЖ [2].

НМЛЖ часто обнаруживается при врождённых заболеваниях различной генетической природы: митохондриальных болезнях, моногенной синдромальной патологии (синдромы Альпорта, Нунан), хромосомных нарушениях (синдром делеции 1p36 и др.), при врождённых пороках сердца [15]. Представляется маловероятным, чтобы у заболеваний с такой различной генетической природой и различными молекулярными механизмами реализации была единая дискретная причина нарушения развития миокарда. Скорее можно предположить, что феномен некомпактности миокарда является вариантом универсального ответа на рассогласование молекулярных сигналов в эмбриогенезе, расстройства метаболизма, функциональную перегрузку или несостоятельность саркомерных или структурных белков миокарда.

Сосуществование различных типов кардиомиопатий (НМЛЖ + гипертрофия миокарда, НМЛЖ + дилатация камер сердца и т.д.) и случаи наличия нескольких вариантов ремоделирования у носителей одного и того же генетического дефекта в одной семье также свидетельствует в пользу «неэмбриональной» гипотезы, однако ставит вопрос, почему этот вариант дезадаптации развивается только у части пациентов.

Представляется вероятным предположение, что НМЛЖ – не самостоятельная кардиомиопатия, а некий общий фенотип, характерный для различного генетического контекста. Детальное изучение генетических каскадов, контролирующих эмбриогенез сердца, а также развитие разных вариантов

кардиомиопатий могло бы прояснить патогенез НМЛЖ, его клиническое значение и оптимизировать подходы к лечению и динамическому наблюдению.

#### **1.4. Инструментальные методы диагностики и диагностические критерии некомпактного миокарда левого желудочка**

С момента описания феномена некомпактного миокарда было разработано 3 группы диагностических критериев: Chin 1990 года [16], Jenni 2001 года [17], и Stollberger 2002 года [18]. Эти критерии предлагают различные способы оценки некомпактности миокарда. В качестве диагностически значимых показателей используется оценка глубины межтрабекулярных пространств (критерии Chin), соотношение некомпактного и компактного слоев (Jenni) и число трабекул, движущихся в конце диастолы синхронно с двухслойным миокардом (Stollberger). В клинической практике наиболее часто применяются эхокардиографические критерии Jenni (2001 г.):

1. при наличии признаков НМЛЖ - отсутствие сопутствующей сердечной патологии;
2. выраженная гипертрофия стенки ЛЖ, состоящей из двух слоев: тонкого компактизированного эпикардального слоя и утолщенного эндокардального слоя с выраженными трабекулами и полостями;
3. в конце систолы максимальное отношение толщины некомпактного слоя миокарда к компактному  $> 2$ ;
4. по результатам цветной доплерографии – наличие кровотока в глубоких межтрабекулярных пространствах.

Необходимо отметить, что основное ограничение всех исследований, по результатам которых были предложены эхокардиографические критерии, состоит в малых размерах обследованных выборок. В результате предложенные критерии могут оказаться неспецифичными. Действительно, согласно Ikeda et al. [19], при обследовании здоровой популяции у 8,3% лиц выполняется как минимум один эхокардиографический диагностический критерий. Возможно, принятые в

настоящее время ЭХО-КГ критерии излишне чувствительны и недостаточно специфичны.

МРТ сердца может применяться для уточнения диагноза после проведения эхокардиографии, также МРТ сердца позволяет диагностировать СНМЛЖ в случае затруднения визуализации верхушки сердца. Было предложено два подхода к диагностике НМЛЖ методом МРТ: критерии Petersen [20] и критерии Jasquier [21]. Согласно критериям Jasquier, масса некомпактного миокарда оценивается как разница между общей массой и массой компактного миокарда, измерения проводятся в конце диастолы. Диагностически значимой считается масса некомпактного миокарда, составляющая  $>20\%$  от общей массы миокарда. Однако в клинической практике чаще применяются диагностические критерии, оценивающие соотношение толщины некомпактного и компактного слоев (критерии Petersen). Согласно критериям Petersen, диагностически значимым считается отношение некомпактного слоя миокарда к компактному, превышающее 2.3 (измерение толщины слоев проводится в диастолу). Несмотря на высокую диагностическую ценность этой методики, у нее есть определенные ограничения, в основном обусловленные невозможностью выполнения исследования пациентам с имплантированными устройствами и сложностью выполнения исследования детям (необходимость наркоза).

Диагностика НМЛЖ возможна с помощью метода компьютерной томографии [22].

Некоторые авторы отмечают, что увеличение частоты постановки диагноза «СНМЛЖ» обусловлено не только повышением информированности врачей, но и совершенствованием методик визуализации [23]. При этом возрастает частота обнаружения феномена некомпактного миокарда. Оправданность постановки диагноза «СНМЛЖ» у бессимптомных пациентов с «губчатым» миокардом в настоящее время дискуссионна.

Из-за малого количества исследований с длительным периодом динамического наблюдения за такими пациентами отсутствуют общепринятые представления о прогностическом значении НМЛЖ в отношении риска ВСС и развитии ХСН. Так, в исследовании Благовой О.В. и др. (2018) [24] не было обнаружено достоверных предикторов ВСС, отмечалась значительная фенотипическая неоднородность группы пациентов с НМЛЖ.

Согласно классификации Американской Ассоциации Сердца (American Heart Association, 2006), синдром некомпактного миокарда левого желудочка выделен в самостоятельную форму генетически детерминированных кардиомиопатий [25]. Однако классификация Европейского кардиологического общества (ECS, 2008) относит СНМЛЖ к «неклассифицированным» кардиомиопатиям с последующим делением на «семейную» и «несемейную» формы. Первую попытку классифицировать собственно НМЛЖ предприняли J. A. Towbin et al. [15] в своем исследовании 2015 года. В их довольно обширной классификации учитывалось наличие сопутствующей кардиальной патологии; классификация в виде блок-схемы представлена на рис.2.

Прогностическое значение феномена некомпактного миокарда, обнаруживаемого при различных кардиомиопатиях, остается спорным и, возможно, различается в разных возрастных группах. Как было представлено выше в классификации подтипов НМЛЖ J. A. Towbin et al. [15], прогноз заболевания у взрослых определяется степенью выраженности кардиомиопатии, а не фактом обнаружения некомпактного миокарда, хотя отмечено, что наличие некомпактного миокарда может увеличивать послеоперационные риски у пациентов с клапанной патологией. Такой подход к прогнозу тяжести кардиомиопатии в сочетании с НМЛЖ подкрепляется результатами исследования M.-S. Amzulescu et al. [26], в котором оценивается вклад повышенной трабекулярности или некомпактного миокарда в исход заболевания у взрослых пациентов с неишемической дилатационной кардиомиопатией. По результатам исследования, включавшего анализ исходов ДКМП у 162 пациентов, не было

установлено связи наличия и объема НМЛЖ с тяжестью заболевания и риском сердечно-сосудистой смертности. Тяжесть клинической картины заболевания была обусловлена степенью ремоделирования желудочков и систолической дисфункцией, но не фактом наличия НМЛЖ. Также было показано, что некомпактность миокарда является частой находкой у взрослых пациентов с ДКМП (36% и 44%, по результатам применения различных диагностических критериев). Зачастую такие пациенты также отвечают критериям диагностики СНМЛЖ.



Рисунок 2. Схема классификации СНМЛЖ Towbin et al. (2015), ред.

Noedemaekers Y. et al. [27] была предложена схема клинического и генетического обследования пробанда и родственников (рис.3).

Как видно из приведенной схемы, убедительно исключить СНМЛЖ у родственников пробанда возможно только при отсутствии патогенной мутации, выявленной ранее у пробанда. Во всех остальных случаях под наблюдением

кардиолога оказывается не только пробанд, но и родственники I и II степени родства. На данный момент руководство по динамическому наблюдению и терапии СНМЛЖ не разработано, что во многом обусловлено отсутствием клинических исследований с достаточным количеством пациентов. Проведенные исследования охватывают только отдельные аспекты терапии, такие, как назначение бета-блокаторов [28], антикоагулянтной терапии, имплантации ИКД. Было показано, что в группе пациентов с НМЛЖ наблюдается высокая частота развития сердечной недостаточности (NYHAIII-IV) и ВСС [29], [6].

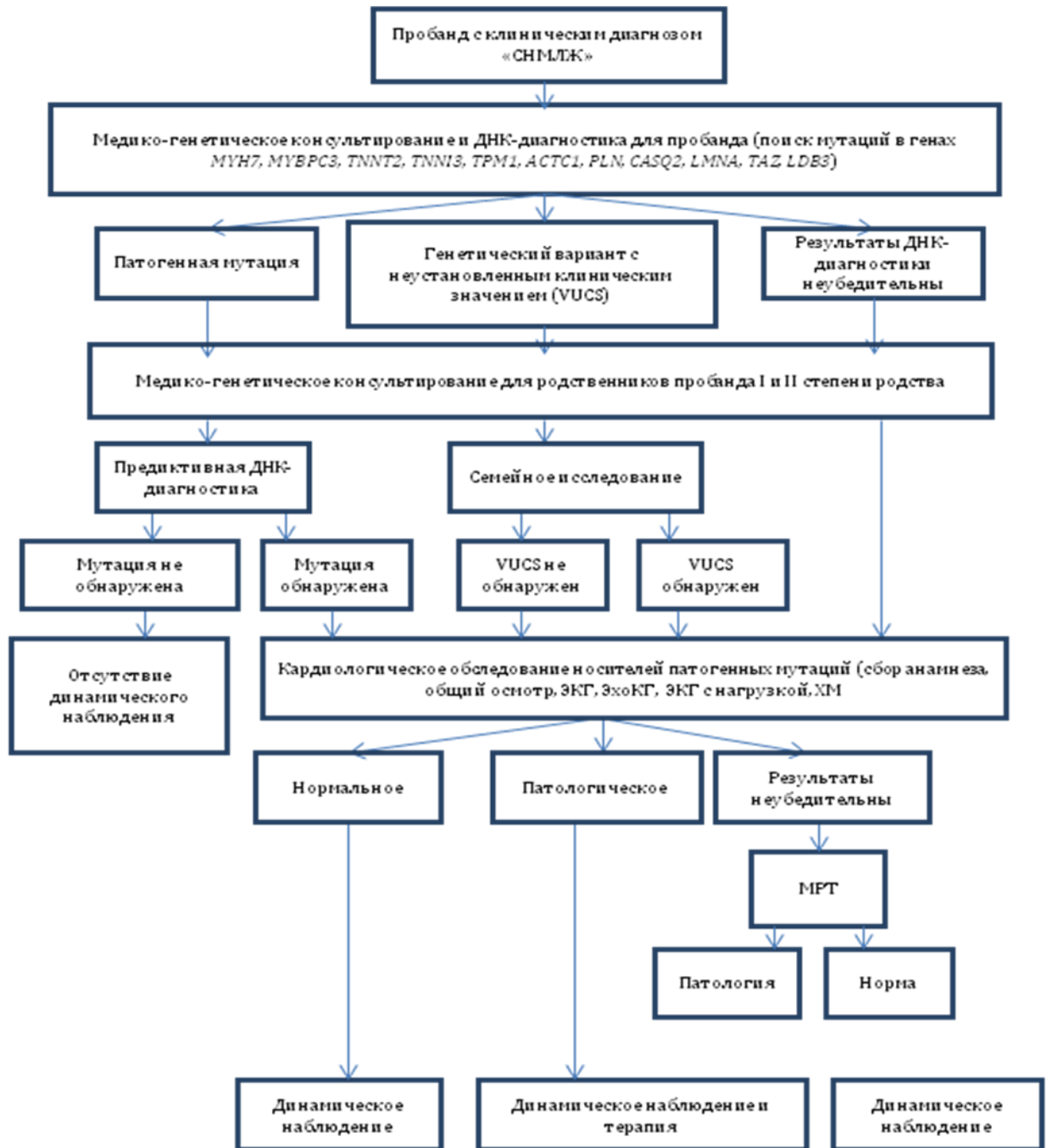


Рисунок 3. Схема клинического и генетического обследования пробанда с СНМЛЖ и его родственников.

Выявление СНМЛЖ на стадии внутриутробного развития и у новорожденных является, по-видимому, прогностически неблагоприятной находкой и ассоциировано с высоким риском развития ХСН, тромбоемболий и внезапной сердечной смерти [30].

## **1.5. Генетические основы некомпактного миокарда левого желудочка**

### ***1.5.1. Разнообразие генетических причин некомпактного миокарда левого желудочка***

Несмотря на отсутствие единой точки зрения на этиологию и патогенез НМЛЖ, высокая доля наследственных случаев НМЛЖ отмечается во многих исследованиях. В исследовании Probst V. et al. [31] по результатам обследования 63 семей наследственный характер СНМЛЖ был установлен в 25% случаев. По данным F Ichida et al. [32] у 44% обследованных пациентов наблюдался семейный характер заболевания, с аутосомно-доминантным наследованием в 70% случаев и X-сцепленным рецессивным – в 30%. Наиболее полное в этом отношении исследование было опубликовано Hoedemaekers Y. et al. [27] в 2010 году. Было обследовано 56 пробандов, молекулярно-генетическое исследование включало в себя секвенирование 17 генов. Семейный характер заболевания прослеживался в 67% случаев, однако генетический дефект удалось обнаружить в только в 50% подтвержденных инструментально случаев НМЛЖ. Увеличение процента семейных случаев НМЛЖ по сравнению с исследованием F. Ichida et al. [32] связано, скорее всего, с более детальным обследованием родственников пробандов.

Во всех приведенных исследованиях аутосомно-доминантный тип наследования описан как наиболее частый при СНМЛЖ. Сочетание НМЛЖ и врожденных пороков сердца, по данным J. A. Towbin [33], также в большей части случаев наследуется аутосомно-доминантно с вариабельной экспрессивностью порока сердца в семье. Второй по частоте тип наследования СНМЛЖ – X-сцепленный рецессивный (например, при синдроме Барта), реже встречаются случаи аутосомно-рецессивного и митохондриального наследования. Клиническая и генетическая гетерогенность НМЛЖ диктует необходимость детального клинического обследования родственников пробанда, т.к. в этом случае возможно определение типа наследования и установление диагноза даже в



отсутствие выявленной мутации. К настоящему времени известны не менее 20 генов, в которых обнаруживаются мутации у пациентов с СНМЛЖ (Таблица 1).

Таблица 1. Гены, мутации в которых обнаруживаются при СНМЛЖ, и ассоциированные с ними заболевания

№	Название гена	Название белка	Ассоциированные заболевания	Ссылка
1	<i>MYH7</i>	Тяжелая цепь бета-миозина	ГКМП, ДКМП, СНМЛЖ, дистальная миопатия с ранним началом и др.	[34], [35],[36]
2	<i>MYBPC3</i>	Миозин-связывающий белок С	ГКМП, ДКМП, СНМЛЖ	[35], [34], [36], [37]
3	<i>ACTC1</i>	$\alpha$ -актин	ДКМП, ГКМП, СНМЛЖ	[35], [34], [36], [37]
4	<i>TNNT2</i>	Тропонин Т2	ГКМП, ДКМП, РКМП, СНМЛЖ	[35], [34], [36], [37]
5	<i>TPM1</i>	$\alpha$ -1 цепь тропомиозина	ГКМП, ДКМП, СНМЛЖ,	[35], [34], [36], [37]
6	<i>LDB3</i>	ЛИМ-домен связывающий белок 3	ДКМП, СНМЛЖ, миофибриллярная миопатия	ГКМП, [34], [36]
7	<i>TAZ</i>	Таффазин	Синдром Барта	[35], [37]
8	<i>TNNC1</i>	Тропонин С	ДКМП, ГКМП, СНМЛЖ	[34]
9	<i>TNNI3</i>	Тропонин I	ГКМП, ДКМП, СНМЛЖ	[35], [34]
10	<i>MYL2</i>	Регуляторная легкая цепь миозина-2	ГКМП, СНМЛЖ	[34]
11	<i>MYL3</i>	Легкая цепь миозина-3	ГКМП, СНМЛЖ	[34]

Таблица 1. Гены, мутации в которых обнаруживаются при СНМЛЖ, и ассоциированные с ними заболевания (продолжение).

№	Название гена	Название белка	Ассоциированные заболевания	Ссылка
12	<i>CSRP3</i>	Цистеин- и глицин-обогащённый белок 3	ДКМП, ГКМП, СНМЛЖ	[34]
13	<i>TCAP</i>	Телетонин	ГКМП, СНМЛЖ, миодистрофия поясов конечностей	[34]
14	<i>CASQ2</i>	Кальсеквестрин-2	СНМЛЖ, CPVT	[36]
15	<i>CALR3</i>	Кальретикулин-3	ГКМП, СНМЛЖ	[34]
16	<i>PLN</i>	Фосфоламбан	ДКМП, СНМЛЖ, ГКМП,	[34]
17	<i>LMNA</i>	Ламин А/С	Миодистрофия Эмери-Дрейфуса, липодистрофия, ДКМП с гипогонадизмом, СНМЛЖ и др.	[35], [36], [37]
18	<i>DTNA</i>	Дистробревин	СНМЛЖ, пороки сердца	[36]
19	<i>mtDNA</i>		Митохондриальные болезни	[35], [37]
20	<i>DMD</i>	Дистрофин	Миодистрофия Дюшенна/Беккера	[37]
21	<i>GLA</i>	$\alpha$ -галактозидаза	Болезнь Фабри	[36]
22	<i>SCN5A</i>	$\alpha$ -субъединица $Na_v1.5$ натриевого канала	LQT3, синдром Бругада, ДКМП, СНМЛЖ, CCCU и др.	[35]

СНМЛЖ был описан у нескольких пациентов с нервно-мышечными заболеваниями: при дистрофинопатиях (миодистрофии Дюшенна/Беккера), ламинопатиях, миотонической дистрофии 2 типа (мутации в гене *ZFP9*),

невральной амиотрофии Шарко-Мари-Тут, тип 1А (мутации в гене *PMP22*) [11]. Также НМЛЖ обнаруживается при некоторых хромосомных aberrациях. Так, повышенная трабекулярность миокарда является частью фенотипа при синдроме микроделеции 1p36. Единичные описания некомпактности миокарда встречаются при синдромах Шерешевского-Тернера, Отахара, делеции 1q43, дистальной делеции 5q, мозаичной форме трисомии 22, микроделеционных синдромах Ди Джорджи и Корнелии де Ланге. Довольно часто, особенно у детей, НМЛЖ ассоциирован с митохондриальными заболеваниями. В настоящее время описано не менее 40 пациентов с сочетанием митохондриальной патологии и НМЛЖ [25].

Одним из первых синдромов, для которых было описано сочетание с НМЛЖ, был синдром Барта, обусловленный мутациями в гене *TAZ*. Ген *TAZ*, расположенный на X-хромосоме, кодирует белок таффазин, вовлеченный в метаболизм фосфолипидов. Синдром Барта является мультисистемным заболеванием с такими клиническими проявлениями как низкий рост, легкие когнитивные расстройства, дилатационная кардиомиопатия, митохондриальная миопатия и гематологические нарушения (нейтропения) [36]. Синдром Барта наследуется X-сцепленно рецессивно, поражая, как правило, мальчиков; возраст манифестации колеблется от младенческого до среднего (от 1 до 49 лет [25]), однако, как правило, развернутая клиническая картина наблюдается в подростковом возрасте. К настоящему времени ассоциация синдрома Барта с НМЛЖ описана в нескольких исследованиях [25], [36].

В некоторых работах отмечался большой процент случаев сочетания НМЛЖ и различных нервно-мышечных заболеваний – до 80% [2] пациентов с НМЛЖ. Однако спектр нервно-мышечных заболеваний, при которых наблюдается НМЛЖ, очень широк, а число пациентов с определенным нервно-мышечным заболеванием и НМЛЖ, как правило, небольшое. Это позволяет предположить компенсаторную природу НМЛЖ при нервно-мышечной патологии, а не генетически обусловленную.

Наиболее часто обнаруживаются мутации в генах, ответственных за развитие различных типов кардиомиопатий – генах *MYH7*, *MYBPC3*, *ACTC1*, *LMNA*, *TRPM1* и др., что может свидетельствовать в пользу этиологической общности кардиомиопатий и некомпактности миокарда. По результатам исследований мутаций генов саркомерных белков показано, что на долю генов *MYH7* и *MYBPC3* приходится около 20% мутаций, выявленных при СНМЛЖ [12]. Для сравнения, при гипертрофической кардиомиопатии мутации в генах *MYH7* и *MYBPC3* составляют около 40% от всех выявленных мутаций. Эти данные могут свидетельствовать об универсальной роли генов *MYH7* и *MYBPC3* в генезе различных кардиомиопатий. Однако в случае обнаружения мутации в генах саркомерных белков возникает следующий вопрос: является ли выявленный генетический дефект причиной феномена НМЛЖ или причиной развития кардиомиопатии, приведшей к феномену НМЛЖ? Ответ на этот вопрос может быть получен в ходе исследований с большим количеством пациентов, с выполнением детального описания фенотипа как пробанда, так и родственников, и изучением корреляций между генотипом и фенотипом. В настоящее время данных о таких корреляциях недостаточно.

Были описаны корреляции «генотип-фенотип» для мутаций в гене *HCN4* и развитием НМЛЖ, ассоциированным с синусовой аритмией [38] и для мутаций в гене *LMNA* и НМЛЖ, ассоциированным с АВ-блоком и желудочковыми аритмиями [39]. Однако в большинстве случаев подобные исследования представлены описанием одного или нескольких клинических случаев и не могут являться руководством для определения тактики ДНК-диагностики.

В 2000 году авторами Bowles N., Bowles K. и Towbin J. была предложена «гипотеза единого патогенеза» кардиомиопатий. Согласно предложенной гипотезе, структурно-функциональные сходства белков, повреждаемых из-за мутаций кодирующих их генов, являются причиной общности фенотипа для группы заболеваний [5], [22]. В «общий патологический путь» включаются не только белки, непосредственно повреждающиеся в результате мутаций

кодирующих их генов, но и белки, взаимодействие с которыми нарушается в результате повреждения сайтов связывания. Однако такой гипотетический «общий патологический путь» для кардиомиопатий пока не выявлен, и эта концепция также нуждается в дальнейшей разработке.

### ***1.5.2. Спектр мутаций в генах, ассоциированных с изолированной кардиальной формой некомпактного миокарда левого желудочка***

Спектр мутаций при НМЛЖ в настоящее время активно изучается. Благодаря доступности высокопроизводительного секвенирования и накоплению клинической информации начали появляться крупные исследования, целью которых является накопление данных о мутациях различных генов при НМЛЖ и выявление корреляций «генотип-фенотип».

Стоит отметить крупное исследование Се Wang et al. 2017 года [40], в ходе которого для 102 пациентов детского возраста (средний возраст  $1,8 \pm 0,4$  года) с диагнозом «некомпактный миокард ЛЖ» с помощью секвенирования нового поколения на платформе Ion Torrent было проведено секвенирование 73 генов, мутации в которых приводят к возникновению различных кардиомиопатий. Всего было выявлено 43 патогенных генетических варианта – 39 миссенс-вариантов, 1 делеция, 1 нонсенс-вариант и 2 варианта, затрагивающих сайты сплайсинга. Большая часть патогенных генетических вариантов была обнаружена в генах *MUN7* и *TAZ* – 19 (44%) и 6 (14%) вариантов, соответственно. В ходе изучения корреляций «генотип-фенотип» было показано, что наличие патогенного варианта – это независимый фактор риска смерти, пересадки сердца или имплантации ИКД. Также наличие патогенного варианта было ассоциировано с более ранним началом заболевания и со сниженной ФВ ЛЖ. Прогноз развития заболевания был хуже у пациентов-носителей патогенных вариантов, особенно в гене *TAZ*.

Известно, что мутации в гене *TAZ* приводят к развитию синдрома Барта (OMIM # 302060). Между тем, только у троих из 102 пациентов в исследовании

Се Wang et al [40] был диагностирован полный симптомокомплекс синдрома Барта. У остальных носителей патогенных генетических вариантов в гене *TAZ* наблюдался только изолированный НМЛЖ. Данное наблюдение позволяет, с одной стороны, расширить аллельную серию заболеваний гена *TAZ* в сторону НМЛЖ, а с другой – включать поиск мутаций в гене *TAZ* в схему ДНК-диагностики для пациентов мужского пола с ранней манифестацией НМЛЖ и тяжелой клинической картиной, независимо от наличия других признаков синдрома Барта.

Интересно, что клиническая картина у пациентов-носителей мутаций в гене *TAZ* была тяжелее, чем у носителей мутаций в гене *MYH7*. В целом, спектр симптомов заболевания у носителей мутаций в гене *MYH7* был очень широким: от полного отсутствия клинических проявлений до тяжелой формы сердечной недостаточности. Эти результаты соотносятся с данными других исследований, демонстрировавших отсутствие корреляций «генотип-фенотип» для мутаций в генах саркомерных белков при НМЛЖ. Так, в исследовании Probst et al. [32], в ходе которого был проведен поиск мутаций в генах 8 саркомерных белков в группе взрослых пациентов (средний возраст –  $40,2 \pm 15,6$  лет), среди обнаруженных мутаций большую часть (13/18) составили миссенс-мутации, но также были обнаружены 3 мутации сайтов сплайсинга, 1 делеция, приводящая к сдвигу рамки считывания и образованию преждевременного стоп-кодона (в гене *MYBPC3*), и одна делеция трех пар оснований, приводящая к делеции аминокислоты аспарагин в положении 239 без сдвига рамки считывания (в гене *MYH7*); большинство мутаций располагались в генах *MYH7* и *MYBPC3*.

Мутации в гене *MYH7* неоднократно описываются как ассоциированные с НМЛЖ, независимо от этнического происхождения пациентов [41]. Несмотря на то, что о причинно-следственной связи между мутациями в *MYH7* и развитием некомпактного миокарда большинство авторов высказывается осторожно, можно предположить важную роль белка *MYH7* в формировании пространственной структуры миокарда. В исследовании Y. Abbasi et al. [41], в ходе которого

проводилась биоинформатическая оценка генетических вариантов, ранее ассоциированных с развитием НМЛЖ, большинство (24/60) обнаруженных генетических вариантов располагались в гене *MYH7*. Интересно отметить, что, по результатам биоинформатического анализа, 71% генетических вариантов в гене *MYH7* были признаны патогенными, а «доброкачественных» вариантов не было обнаружено вообще.

На рисунке 4 представлен спектр патогенных генетических вариантов в гене *MYH7* по Y. Abbasi et al [41]. Как видно из приведенных данных, 23 из 24 генетических вариантов представляют собой миссенс-мутации, и только один вариант – нонсенс-мутацию (p.Y266\*).

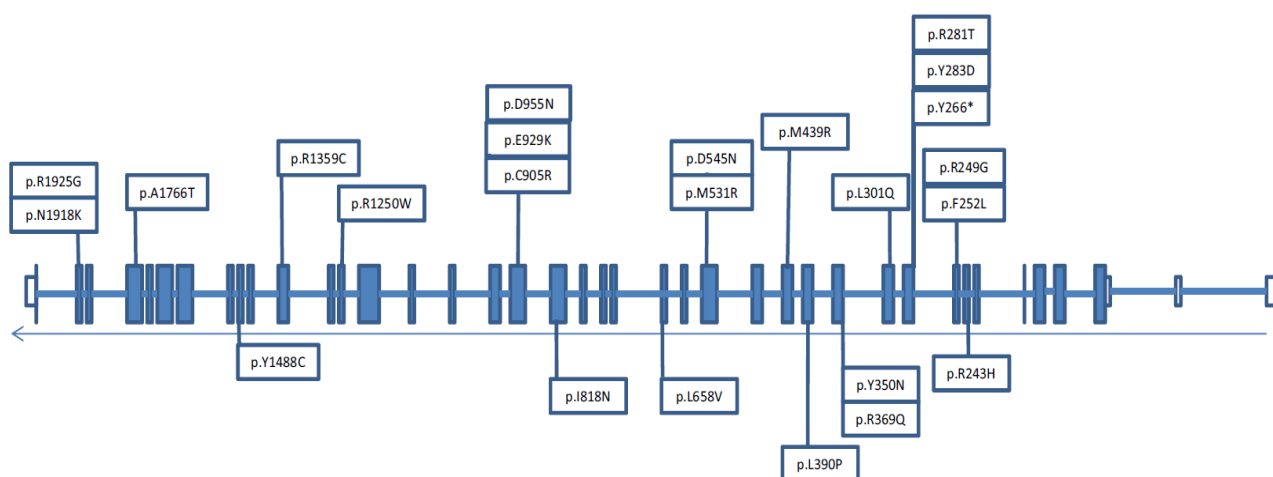


Рисунок 4. Спектр патогенных генетических вариантов в гене *MYH7* (Y. Abbasi et al.).

Спектр клинических проявлений, в свою очередь, был очень широким и включал в себя как бессимптомное течение заболевания, так и сочетание НМЛЖ с другими кардиомиопатиями – ДКМП и ГКМП.

В исследованиях Ce Wang et al. [40] и Probst et al [31] также обращает на себя внимание значительное преобладание миссенс-вариантов. Это может быть связано как со специфическим спектром мутаций при НМЛЖ в исследуемых генах, так и с ограничениями методов исследования. Поиск мутаций в

исследовании Се Wang et al. проводили методом высокопроизводительного секвенирования на платформе Ion Torrent. Одно из ограничений данного метода – невысокая точность детекции небольших по размеру инсерций/делеций. Кроме того, все методы высокопроизводительного секвенирования не способны детектировать внутригенные перестройки, размеры которых сопоставимы с размерами экзона, и вариации числа копий генов. Предположить наличие такой перестройки можно в ходе проведения анализа покрытия после экзомного секвенирования, для подтверждения ее наличия – проведение MLPA или хромосомно-микроматричного анализа.

В исследовании Probst et al. [31] поиск мутаций проводили методом денатурирующей высокоэффективной жидкостной хроматографии фрагментов таргентных генов с последующим секвенированием фрагментов с аномальными пиками. Поскольку в основе данного метода лежит амплификация таргентных участков гена методом ПЦР, метод также не свободен от ограничений, связанных с ПЦР, в частности, с его помощью невозможно детектировать вариации числа копий генов, и делеции, сопоставимые с размером амплифицируемого фрагмента.

В приведенных выше исследованиях большинство патогенных генетических вариантов было обнаружено в гене *МУН7*. Механизм реализации патогенных генетических вариантов в гене *МУН7* был рассмотрен для гипертрофической кардиомиопатии. Известно, что при ГКМП большая часть обнаруженных патогенных генетических вариантов в гене *МУН7* – это миссенс-замены, эффект которых реализуется по доминант-негативному механизму. Возможно, преобладание миссенс-вариантов при НМЛЖ обусловлено в том числе преимущественно миссенс-заменами в гене *МУН7*.

Информации об исследованиях, проводивших анализ покрытия для пациентов с НМЛЖ, нам найти не удалось. Между тем, комбинация полноэкзомного секвенирования и ПЦР в реальном времени, MLPA и сравнительной геномной гибридизации применялась для исследования доли



крупных перестроек в спектре мутаций при АДПЖ [42]. Исследование Fedida et al. продемонстрировало сравнительно высокую частоту крупных перестроек при АДПЖ – 5,7%.

В данном контексте необходимо привести исследование M J. Campbell et al. (2015) [43], описывающее случай полиморфной желудочковой тахикардии в сочетании с СНМЛЖ, обусловленной de novo возникшей делецией размером 698 п. о. в гене *RYR2*. Данная делеция была обнаружена после таргетного поиска делеций/инсерций в гене *RYR2* у пациентки с синкопальными эпизодами, фибрилляцией желудочков и случаем ВСС в анамнезе. Обнаруженная делеция полностью захватывала экзон 3 гена *RYR2*. Интересно, что делеции в экзоне 3 гена *RYR2* были и ранее описаны при НМЛЖ и ДКМП [44], [45]. Помимо примечательной генетической находки, исследование M J. Campbell et al. интересно еще и тем, что описывает развитие СНМЛЖ у пациентки практически «в реальном времени». НМЛЖ был диагностирован у пациентки методом ЭХО-КГ после значительного ухудшения ее состояния – фибрилляции желудочков, потребовавшей применения терапевтической гипотермии. За год до эпизода фибрилляции желудочков у пациентки была выявлена трабекулярность миокарда, не достигающая диагностических значений. Неясно, является ли трабекулярность миокарда в данном случае предиктором ухудшения течения полиморфной желудочковой тахикардии, или развитие некомпактного миокарда привело к увеличению площади аритмогенного субстрата и способствовало возникновению фибрилляции желудочков.

### ***1.5.3. Медико-генетическое консультирование при некомпактном миокарде левого желудочка***

Несмотря на обилие данных о семейном характере (по крайней мере, в значительной части случаев) НМЛЖ, рекомендации и подходы к ДНК-диагностике противоречивы. Так, согласно рекомендациям Европейского общества кардиологов от 2011 г., ДНК-диагностика при СНМЛЖ может быть

полезна для пациента с установленным кардиологическим диагнозом «СНМЛЖ» (класс рекомендаций IIa, [46]). Родственникам пробанда ДНК-диагностика рекомендована в случае выявления мутации у пробанда (класс рекомендаций I). Это наиболее свежие рекомендации по ДНК-диагностике НМЛЖ.

Одним из показателей эффективности ДНК-диагностики является соотношение «сигнал-шум», показывающее соотношение между обнаруженными патогенными генетическими вариантами («сигнал») и редкими генетическими вариантами с неустановленным клиническим значением («шум»). Класс I рекомендаций подразумевает высокую положительную прогностическую значимость генетического тестирования (вероятность положительного результата  $>40\%$  при соотношении «сигнал:шум»  $>10$ ) и/или важное диагностическое, прогностическое или терапевтическое значение полученного результата. Для молекулярно-генетического исследования генов, ассоциированных с НМЛЖ, соотношение «сигнал:шум» не определено, а диагностическая значимость колеблется в очень широких пределах – 17-41%, где 17% - диагностическая значимость тестирования основных генов, ассоциированных с НМЛЖ [37].

Можно предположить, что по мере проведения функциональных исследований количество генетических вариантов с неустановленным клиническим значением в хорошо изученных генах будет уменьшаться. Однако одновременно происходит внедрение методов высокопроизводительного секвенирования в клиническую практику. Как отмечает R.Walsh [47], совместная доля редких генетических вариантов может составлять значительную долю от числа всех обнаруженных, а в среднем в экзOME можно обнаружить 7,6 вариантов с неустановленным клиническим значением, расположенных в хорошо изученных генах. Следовательно, на этапе накопления данных, полученных методом высокопроизводительного секвенирования, доля «шума» может возрасти.

Авторы обзора [2] высказываются против проведения ДНК-диагностики пациентам с НМЛЖ, поскольку причинно-следственная связь между

генетическим вариантом и развитием НМЛЖ не установлена ни для одного гена, а результаты ДНК-диагностики не будут иметь ни терапевтического, ни прогностического значения. На скромное диагностическое значение обнаруженных генетических вариантов также указано в рекомендациях Европейского общества кардиологов. Однако при подозрении на сопутствующее генетическое заболевание проведение соответствующей ДНК-диагностики с целью подтверждения диагноза оправдано и необходимо [2].

Вклад выявляемых в ходе молекулярно-генетических исследований генетических вариантов в развитие собственно некомпактного миокарда требует дополнительных исследований. В ходе клинического обследования пациента с СНМЛЖ необходимо исключать синдромальную патологию, нервно-мышечные и митохондриальные заболевания. Учитывая значимый процент наследственных случаев СНМЛЖ и широкий спектр ассоциированной наследственной патологии, клиническое обследование и медико-генетическое консультирование необходимо проводить не только пациенту, но и родственникам I степени родства.

Роль некоторых генетических вариантов (например, нонсенс-мутаций в гене *MYBPC3*) в развитии кардиомиопатии доказана. При обнаружении подобного генетического варианта у пробанда проведение каскадного семейного скрининга позволит исключить кардиомиопатию у родственников пробанда и/или организовать динамическое наблюдение для носителей патогенного генетического варианта. В этом случае проведение медико-генетического консультирования оправдано и необходимо. Однако стоит отметить, что спрогнозировать фенотип для конкретного генетического варианта невозможно – известно, что в одной семье могут наблюдаться различные варианты ремоделирования миокарда.

## **1.6. Различные подходы к терапии при синдроме некомпактного миокарда левого желудочка**

На данный момент руководство по динамическому наблюдению и терапии СНМЛЖ не разработано, что во многом обусловлено отсутствием клинических исследований, включающих достаточное количество пациентов. Проведенные исследования охватывают только отдельные аспекты терапии, такие, как назначение бета-блокаторов [28], антикоагулянтной терапии, имплантации ИКД. Было показано, что в группе пациентов с НМЛЖ наблюдается высокая частота развития сердечной недостаточности (НУНА III-IV) и ВСС [29], [5].

У пациентов с НМЛЖ также отмечаются частые случаи миокардита. Миокардит был описан как типичный феномен у пациентов с НМЛЖ [48]. Было показано, что независимо от природы миокардита, он приводит к достоверному ухудшению структурно-функциональных показателей, увеличению частоты жизнеугрожающих аритмий, исходов (смерть + трансплантация, оправданные срабатывания дефибрилляторов) и требует активной базисной терапии. В литературе отмечено также, что миокардит при НМЛЖ может приводить к развитию дилатационной кардиомиопатии [2].

Широкомасштабных исследований исходов заболевания у пациентов с сочетанием кардиомиопатии и НМЛЖ в настоящее время мало. При исследовании пациентов с ДКМП и НМЛЖ было показано, что наличие НМЛЖ не коррелирует с тяжестью заболевания у пациентов с ДКМП [26]. На этом основании было предложено не применять более агрессивную тактику терапии у пациентов с ДКМП и НМЛЖ.

В целом, у взрослых пациентов рекомендуется экстраполировать руководство по терапии кардиомиопатий на терапию пациентов с НМЛЖ [49], при наличии сниженной ФВ ЛЖ – рекомендуется применять стандарт лечения ДКМП. Для пациентов детского возраста вопросы терапии обговариваются в рекомендациях по лечению сердечной недостаточности [50].

Некоторые аспекты терапии являются уникальными для СНМЛЖ.

### ***1.6.1. Вопросы антикоагулянтной терапии***

В ретроспективном исследовании Stollberger et al. риск тромбоэмболии у пациентов с НМЛЖ оценивался по шкале CHADS<sub>2</sub>/CHADS<sub>2</sub>-Vasc [51]. Было показано, что у пациентов с НМЛЖ и тромбоэмболией или инсультом в анамнезе баллы по шкале CHADS<sub>2</sub>/CHADS<sub>2</sub>-Vasc были существенно выше. Таким образом, шкала CHADS<sub>2</sub>/CHADS<sub>2</sub>-Vasc может служить дополнительным инструментом при принятии решения о назначении антикоагулянтной терапии у пациентов с НМЛЖ. При наличии тромба ЛЖ или документированной ФП антикоагулянтную терапию следует назначать независимо от баллов по шкале CHADS<sub>2</sub>/CHADS<sub>2</sub>-Vasc [52].

Несмотря на отсутствие исследований по использованию антагонистов витамина К у пациентов с НМЛЖ, некоторые авторы рекомендуют применение данных препаратов в связи с их практичностью и возможностью их назначения пациентам старше 75 лет [52].

Есть данные о применении детской дозировки аспирина – 81 мг у пациентов детского возраста (т.н. «daily baby aspirin», [2]).

### ***1.6.2. Терапия сердечной недостаточности при синдроме некомпактного миокарда левого желудочка***

Сердечная недостаточность, обусловленная дисфункцией левого желудочка, при СНМЛЖ наблюдается, по разным данным, у 53–73% взрослых пациентов и у 30–63% пациентов детского возраста. Причины систолической дисфункции левого желудочка неясны, однако по некоторым данным, она может развиваться в результате субэндокардиальной гипоперфузии или из-за сократительной несостоятельности субэндокардиального слоя миокарда. Диастолическая

дисфункция обусловлена нарушением расслабления миокарда или развитием рестриктивной кардиомиопатии.

Независимо от природы дисфункции ЛЖ, терапия сердечной недостаточности включает в себя применение бета-блокаторов, ингибиторов АПФ, блокаторов рецепторов ангиотензина II, антагонистов рецепторов минералкортикоидов и/или диуретиков [2]. Таким образом, терапия сердечной недостаточности при СНМЛЖ не отличается от таковой при других кардиомиопатиях.

Стоит также отметить, что пациентам с СНМЛЖ в сочетании с аритмиями, врожденным пороком сердца, другой кардиомиопатией стоит избегать тяжелой физической нагрузки. Бессимптомным пациентам с НМЛЖ не противопоказано участие в соревновательных видах спорта [2]. Пациенткам с НМЛЖ не противопоказана беременность [53], а обнаружение НМЛЖ у плода не является показанием к прерыванию беременности [29].

### ***1.6.3. Антиаритмическая терапия***

Высокая частота аритмий при НМЛЖ отмечалась во многих исследованиях, по некоторым данным, частота электрокардиографических нарушений может достигать 88–94% у взрослых пациентов и 88% у детей [54], [18]. Клинические исследования, проведенные с участием взрослых пациентов, показали высокий риск развития желудочковых тахиаритмий и ВСС у пациентов с НМЛЖ [15], однако субстрат злокачественных желудочковых аритмий при СНМЛЖ не известен.

Спектр и частота отдельных нарушений ритма приведены в обзоре Finester et al. [2] (Таблица 2).

Один из наиболее сложных аспектов терапии СНМЛЖ – решение об имплантации ИКД. Известно, что один из подтипов СНМЛЖ – неосложненный НСЛЖ без нарушений ритма сердца и с благоприятным прогнозом. Однако

поскольку ВСС может быть первым симптомом заболевания при кардиомиопатиях, оценку риска ВСС необходимо проводить даже у пациентов, бессимптомных на момент обнаружения НМЛЖ.

Таблица 2. Частота и спектр нарушений ритма сердца при НМЛЖ

Вид нарушения ритма	Доля взрослых пациентов, %	Доля пациентов детского возраста, %
Наджелудочковые аритмии/нарушение проводимости	25	Нет данных
Синдром WPW	0-3	13-15
Фибрилляция предсердий	5-29	Не описана
Блокада ПНПГ	26-56	15-25
Желудочковые аритмии	18-47	0-38
ВСС	18	0-13

Согласно рекомендациям Европейского общества кардиологов по терапии желудочковых нарушений ритма сердца и профилактике ВСС [55], решение об имплантации ИКД у пациентов с НМЛЖ стоит принимать на основании тяжести диастолической дисфункции и наличия устойчивых желудочковых аритмий с использованием критериев для ДКМП. Для дополнительной оценки риска ВСС и исключения пароксизмальной формы желудочковой тахикардии у пациентов с сохранной ФВ ЛЖ предлагается использовать холтеровское мониторирование. Также в качестве дополнительных факторов риска могут рассматриваться случаи ВСС в семье и/или наличие синкопе в анамнезе.

Также пациентам с НМЛЖ с целью купирования желудочковых аритмий успешно проводились левожелудочковая абляция и катетеризация правого желудочка [56].

Отмечено, что пациентам с сердечной недостаточностью, снижением систолической функции и замедлением внутрижелудочкового проведения может быть назначена сердечная ресинхронизирующая терапия [55].

#### ***1.6.4. Хирургическое лечение синдрома некомпактного миокарда левого желудочка***

В случае развития сердечной недостаточности, устойчивой к медикаментозной терапии, возможна пересадка сердца или имплантация устройств механической поддержки ЛЖ. Хирургическая тактика в таком случае определяется тяжестью сердечной недостаточности и наличием жизнеугрожающих нарушений ритма сердца. Имеющиеся публикации по вопросам хирургического лечения в основном касаются трансплантации сердца при НМЛЖ, имплантации ИКД и лечения клапанной патологии и представлены описаниями отдельных клинических случаев. Как и по остальным аспектам НМЛЖ, основная проблема – отсутствие широкомасштабных исследований, посвященных динамическому наблюдению за достаточным количеством пациентов с НМЛЖ. E.Oechslin et al. [4] наблюдали 34 взрослых пациента с НМЛЖ на протяжении  $44 \pm 40$  месяцев. За этот период времени пересадка сердца была выполнена 4 пациентам (12%). В ряде случаев в качестве промежуточной терапии перед трансплантацией сердца пациентам с СНМЛЖ выполнялась имплантация искусственного левого желудочка. В нескольких сообщениях был показан высокий риск обструкции вводной канюли имплантированных устройств вследствие специфической губчатой структуры миокарда [57],[58].

Наиболее полное исследование, посвященное пересадке сердца у пациентов с НМЛЖ, было выполнено Al-Kindi et al. [59]. Данные динамического наблюдения и результаты трансплантации были проанализированы для 113 пациентов с диагнозом «некомпактная кардиомиопатия левого желудочка». Результаты этого исследования показывают схожесть исходов трансплантации



сердца у пациентов с СНМЛЖ и ДКМП, хотя авторы и отмечают большее число посттрансплантационных инфекций у пациентов с СНМЛЖ.

Однако при выборе пересадки сердца в качестве терапии СНМЛЖ, устойчивого к медикаментозному лечению, необходимо учитывать, что НМЛЖ часто сочетается с нервно-мышечной патологией. В таком случае необходимый уровень иммуносупрессии может оказаться миотоксичным и спровоцировать или усложнить течение нервно-мышечного заболевания [2].

Необходимо отметить публикацию Gan et al. [60], посвященную хирургическому удалению некомпактного слоя миокарда у пациента 16 лет. Пациенту с сердечной недостаточностью IV функционального класса (NYHA) была выполнена частичная резекция трабекулярного слоя миокарда на верхушке сердца, нижней и боковых стенках желудочка и протезирование митрального клапана механическим протезом. В послеоперационном периоде отмечено улучшение состояния до II функционального класса (NYHA), этот результат сохранялся на протяжении 2-х лет динамического наблюдения. По состоянию на 2017 год, эта операция – единственная в своем роде. Безусловно, данная операция, концептуально напоминающая операции ремоделирования при кардиомиопатиях, представляет большой интерес, однако необходим детальный анализ проведенного вмешательства и оценка возможности его выполнения у других пациентов с НМЛЖ.

Пациентам с НМЛЖ и врожденными пороками сердца может потребоваться независимая от НМЛЖ хирургическая коррекция порока, чтобы облегчить симптомы сердечной недостаточности, улучшить сердечную функцию и уменьшить размер сердца [2].

### **1.7. Заключение**

В настоящей работе мы исследуем клиничко-генетические особенности некомпактного миокарда в группе пациентов с некомпактным миокардом ЛЖ и

оцениваем эффективность проведенного молекулярно-генетического исследования для разных групп пациентов. Мы также рассматриваем возможные корреляции между генотипом и клиническими проявлениями заболевания и предлагаем алгоритм ДНК-диагностики для пациентов с НМЛЖ с учетом полученных данных.

## **Глава 2. Материалы и методы**

### **2.1. Общая характеристика обследованной группы пациентов**

Исследование было проведено в соответствии с протоколом, утвержденным Локальным этическим комитетом ФГБНУ «РНЦХ имени академика Б.В. Петровского», и с нормами Хельсинской декларации. Первый обратившийся член семьи с диагнозом «СНМЛЖ» здесь и далее именуется «пробанд». Его кровные родственники здесь и далее именуются «родственники пробанда».

В исследование вошли клинические, инструментальные, молекулярно-генетические данные 67 неродственных семей, в которых хотя бы одному пациенту был поставлен диагноз «синдром некомпактного миокарда левого желудочка» согласно общепринятым диагностическим критериям (критерии Jenni, 2001, или Peterson, 2005).

### **2.2. Клиническое и инструментальное обследование**

Всем пробандам было рекомендовано обследование по единой схеме. Часть пробандов были обследованы в рамках госпитализации в РНЦХ им. акад. Б.В.Петровского; для тех пробандов, которые в РНЦХ им. акад. Б.В.Петровского обращались только амбулаторно, были проанализированы данные, полученные в других медицинских учреждениях, недостающие процедуры назначались в амбулаторном порядке.

Диагностика кардиомиопатий проводилась на основе соответствующих рекомендаций и диагностических критериев.

#### ***2.2.1. Диагностика некомпактного миокарда левого желудочка***

За время изучения феномена некомпактного миокарда левого желудочка было предложено несколько групп диагностических критериев.

Эхокардиографические критерии Jenni (2001) часто используются в клинической практике и включают в себя следующие аспекты:

1. Соотношение некомпактного и компактного слоев миокарда более 2. Из парастернальной позиции по короткой оси выявляется двухслойная структура миокарда с истонченным компактным и утолщенным некомпактным слоем.
2. Отсутствие сопутствующих аномалий сердца.
3. Наличие многочисленных, выступающих в полость левого желудочка трабекул с глубокими межтрабекулярными пространствами.
4. Наличие межтрабекулярных пространств, выявляемых с помощью цветового доплеровского картирования и сообщающихся с полостью левого желудочка

Магнитно-резонансная томография так же может использоваться для постановки диагноза «некомпактный миокард левого желудочка». В клинической практике используются критерии Peterson [20]:

1. Повышенная трабекулярность миокарда ЛЖ встречается в норме в апикальных сегментах.
2. Соотношение компактного и некомпактного слоев миокарда в диастолу более 1:2,3.
3. Число измененных сегментов при НКМП значительно больше ( $10 \pm 3$ ), чем в группах сравнения.

Количественные МРТ-критерии основаны на измерении массы миокарда. Критерии Jasquier [21] предусматривают оценку соотношения массы некомпактного слоя миокарда к общей массе. Диагностически значимым считается соотношение  $> 20\%$ . Критерии Grothoff [61] более полные и включают в себя следующие позиции:

1. Индекс массы некомпактного миокарда более  $15 \text{ г/м}^2$ ;
2. Соотношение массы некомпактного слоя миокарда к общей массе  $> 20\%$ ;

3. Соотношение компактного и некомпактного слоев в диастолу более 1:3;
4. Вовлечение базальных сегментов.

Таким образом, эхокардиография и МРТ являются независимыми методами диагностики НМЛЖ.

Для всех пациентов дополнительно проводилась диагностика других типов ремоделирования миокарда.

### ***2.2.2. Диагностика гипертрофии миокарда***

Для диагностики гипертрофии миокарда использовали рекомендации Европейского кардиологического общества по диагностике и лечению гипертрофической кардиомиопатии 2014 года.

Согласно рекомендациям, ГКМП у взрослых диагностируется при увеличении толщины стенки ЛЖ  $\geq 15$  мм в одном или более сегментах миокарда ЛЖ, которое не объясняется исключительно увеличенной нагрузкой давлением, по результатам любой визуализирующей методики [62]. В качестве допустимых визуализирующих методик перечислены эхокардиография, магнитно-резонансная томография или компьютерная томография. Центральным методом диагностики ГКМП и мониторинга состояния пациентов является ЭХО-КГ. В то же время отдельно оговаривается, что при наличии ресурсов МРТ должна рассматриваться в качестве базового метода диагностики, т.к. полезна для постановки диагноза пациентам с недостаточной визуализацией [62].

В случае меньшей выраженности утолщения (13-14 мм) диагноз ГКМП требует изучения дополнительного материала (семейный анамнез, экстракардиальные симптомы, нарушения на электрокардиограмме (ЭКГ), лабораторные исследования и мульти-модальная визуализация сердца). [62]. Таким образом, в ходе диагностики ГКМП оценивают локализацию, размеры, симметричность гипертрофии ЛЖ (или других участков миокарда), сократимость, наличие обструкции выносящего тракта ЛЖ [63].

Семейный анамнез по гипертрофической кардиомиопатии считался отягощенным в случае диагностированной ГКМП у родственников I степени родства. Согласно рекомендациям Европейского кардиологического общества по диагностике и лечению гипертрофической кардиомиопатии 2014 года [61], клинический диагноз ГКМП у родственников первой степени родства пациента с бесспорным заболеванием (ГЛЖ  $\geq 15$  мм) базируется на наличии необъяснимого иначе утолщения стенки  $\geq 13$  мм в одном или более сегментах миокарда [62]. Визуализирующие методики аналогичны таковым при постановке диагноза пробанду.

Согласно рекомендациям Европейского кардиологического общества по диагностике и лечению гипертрофической кардиомиопатии 2014 года [61], пациентам детского возраста диагноз ГКМП выставляется на основе наличия утолщения стенки ЛЖ более, чем на два стандартных отклонения от предполагаемого популяционного среднего [62]. Визуализирующие методики аналогичны таковым при постановке диагноза пробанду.

### ***2.2.3. Диагностика дилатации камер сердца***

Общепринятых рекомендаций по диагностике и лечению дилатационной кардиомиопатии в настоящее время нет.

Согласно [64], эхокардиография является основным методом диагностики ДКМП и последующего наблюдения за пациентом и членами его семьи.

Диагностические критерии дилатации левого желудочка применимы для идиопатической дилатационной кардиомиопатии в случае исключения вторичной дилатации левого желудочка [63].

Критериями диагностики идиопатической дилатационной кардиомиопатии являются:

1. расширение левого желудочка  $>112\%$  (с поправкой на площадь поверхности тела и возраст)

2. снижение фракции сокращения  $<25\%$  и/или снижение фракции выброса левого желудочка  $<45\%$ ).

### **2.3. Генеалогический анализ**

В ходе генеалогического анализа оценивали тип наследования некомпактного миокарда и отягощенность семейного анамнеза по случаям НМЛЖ, другим кардиомиопатиям и внезапной сердечной смерти.

Медико-генетическое консультирование для семей включало сбор и анализ родословных, объяснение семьям целей молекулярно-генетического исследования, получение письменного информированного согласия на проведение генетического тестирования от каждого обследуемого члена семьи, объяснение членам семей особенностей типов наследования и риска передачи заболевания, при необходимости – репродуктивное консультирование.

### **2.4. Схема обследования пациентов с некомпактным миокардом левого желудочка**

На основании приведенных выше рекомендаций нами была предложена единая рекомендованная схема обследования пациента. Она включала в себя следующие исследования:

1. Общий осмотр пациента. В ходе общего осмотра пациента особое внимание уделяется признакам возможного наличия хромосомной патологии, нервно-мышечного, митохондриальных заболеваний.
2. Общий и биохимический анализ крови.
3. Анализ разовой ЭКГ.
4. 24-часовое Холтеровское мониторирование ЭКГ
5. Трансторакальная эхокардиография (ЭхоКГ), оценка наличия некомпактного миокарда по критериям Jenni.

6. МРТ/МСКТ сердца - оценка наличия некомпактного миокарда по критериям Peterson.
7. При наличии анамнестических указаний на перенесенный миокардит проводилось определение антимиокардиальных антител.
8. Первичное медико-генетическое консультирование.
9. Выполнение молекулярно-генетического исследования.
10. Повторное медико-генетическое консультирование.
11. В случае обнаружения патогенного варианта – каскадный семейный скрининг с последующим медико-генетическим консультированием.

В рекомендованной схеме обследования присутствуют и эхокардиография, и МРТ/МСКТ сердца. Эхокардиографическое обследование является более доступным методом, чем МРТ/МСКТ и позволяет диагностировать НМЛЖ у пациентов с имплантируемыми устройствами (ИКД, ЭКС). МРТ/МСКТ сердца позволяет с высокой точностью определить соотношение компактного и некомпактного слоев и, следовательно, соответствие соотношения диагностическим критериям. При применении методики контрастирования миокарда с помощью хелатных солей гадолиния (LGE) возможно выявить и оценить очаги нарушения целостности мембран кардиомиоцитов (очаги воспаления, некроза, фиброза).

## **2.5. Молекулярно-генетическое исследование**

Поиск патогенных генетических вариантов проводили на образцах ДНК, выделенной из периферической венозной крови пациентов.

### ***2.5.1. Выделение ДНК из крови***

Выделение ДНК из лейкоцитов периферической крови проводилось методом фенол-хлороформной экстракции [65] и стандартных наборов реагентов и (Promega, США) согласно протоколу фирмы-производителя.



Оценку качества выделенной геномной ДНК проводили на флюориметре Qubit™ с помощью набора реагентов dsDNA HS Assay Kit по протоколу фирмы (для высокопроизводительного секвенирования нового поколения на платформе Ion Torrent) и на спектрофотометре NanoDrop ND 1000 (для прямого автоматического двунаправленного секвенирования методом Сенгера).

Подходящей для приготовления библиотек ампликонов Ampliseq и секвенирования на платформе Ion Torrent - концентрацию от 10 нг/мкл.

Анонимизированные, нумерованные образцы выделенных ДНК хранятся в Биобанке лаборатории медицинской генетики ФГБНУ «РНЦХ им. Б.В. Петровского» (-20°C).

### ***2.5.2. Формирование диагностической панели генов при некомпактном миокарде левого желудочка и других типах кардиомиопатий и секвенирование на платформе Ion Torrent***

Поскольку рекомендации по генетическому тестированию для пациентов с СНМЛЖ отсутствуют, в нашей работе мы опирались на Консенсус по генетическому тестированию для каналопатий и кардиомиопатий [36], а также на некоторые рекомендации по ДНК-диагностике при ДКМП и СНМЛЖ.

Согласно Консенсусу HRS/EHRA (2011 г.) по генетическому тестированию для каналопатий и кардиомиопатий генетический анализ при СНМЛЖ должен включать гены, мутации в каждом из которых встречаются  $\geq 2\%$  случаев, а именно, гены:

- *MYBPC3*
- *MYH7*
- *TAZ*
- *LDB3*
- *ACTC1*
- *TNNT2*

В рекомендациях по генетическому исследованию кардиомиопатий Американского общества сердечной недостаточности [66] этот список был дополнен генами *TNNC1*, *MYL2*, *ACTC1*, *ACTN2*, *CSRP3*, *PLN*, *TTR*, *PRKAG2*, *LAMP2*, *GLA*

Для молекулярно-генетических исследований при ДКМП рекомендациями Американского общества сердечной недостаточности предлагается следующий список генов:

- *TTN*,
- *LMNA*,
- *MYH7*,
- *TNNT2*,
- *BAG3*,
- *RBM20*,
- *TNNC1*,
- *TNNI3*,
- *TPM1*,
- *SCN5A*,
- *PLN*.

Также рекомендуется дополнять ДНК-диагностику генами, мутации в которых приводят к развитию ДКМП и аритмогенной кардиомиопатии.

Согласно рекомендациям Американского общества сердечной недостаточности, для ДНК-диагностики при НМЛЖ следует применять панель генов, рекомендованную для ассоциированной с НМЛЖ кардиомиопатии.

В случае обнаружения у бессимптомного пациента изолированного некомпактного миокарда ЛЖ необходимо тщательно собрать семейный анамнез, чтобы не пропустить случаи кардиомиопатии. Согласно рекомендациям

Американского общества сердечной недостаточности, бессимптомным пациентам с изолированным НМЛЖ и сохранной функцией сердца ДНК-диагностика не показана.

На основе базы данных OMIM и литературы, была сформирована панель генов «Синдром некомпактного миокарда ЛЖ» для последующей мультиплексной ПЦР и секвенирования кодирующих и прилегающих интронных областей выбранных генов. Панель генов «Синдром некомпактного миокарда ЛЖ» для диагностики НМЛЖ основана на Консенсусе HRS/ENRA по генетическому тестированию для каналопатий и кардиомиопатий (2011 год) [36], дополнена генами, мутации в которых были описаны при СНМЛЖ и частично соответствует рекомендациям Американского общества сердечной недостаточности. Список генов, вошедших в панель «Синдром некомпактного миокарда ЛЖ», а также ссылки на обоснование включения в панель для каждого гена представлены в Таблице 3.

Дизайн праймеров проводили с помощью ресурса Ampliseq. Панель состояла из двух пулов праймеров: праймеры, фланкирующие соседние фрагменты ДНК, в ходе амплификации помещали в разные пробирки, чтобы исключить образование димеров праймеров. Суммарный размер анализируемых фрагментов составил 28770 bp (28.77 Kb). Суммарная длина непокрытых фрагментов, требующих дополнительного капиллярного секвенирования по Сенгеру, составила 1310 bp.

Секвенирование выбранной панели из 13 генов проводили методом полупроводникового секвенирования на платформе Ion Torrent (Life Technologies). Методология секвенирования на платформе Ion Torrent основана на последовательном удлинении олигонуклеотидной затравки ДНК-полимеразой с одновременной регистрацией локального изменения pH на полупроводниковом микрочипе. В приборе используются микрочипы, содержащие высокоплотную матрицу микроячеек для биохимических реакций. Каждая ячейка имеет датчик

ионов (рН-метр). В каждой ячейке проходит секвенирование одного молекулярного клона ДНК путём синтеза комплементарной цепи ДНК-полимеразой. При встраивании полимеразой нуклеотида в молекулу ДНК происходит гидролизное отщепление трифосфата и высвобождение иона водорода. Изменение рН фиксируется датчиком и преобразуется в сигнал. При встраивании подряд сразу нескольких одинаковых нуклеотидов количество высвободившихся ионов пропорционально увеличивается. По силе сигнала судят о количестве встроившихся за один шаг одинаковых нуклеотидов.

Таблица 3. Гены, вошедшие в Ampliseq-панель «Кардиомиопатии и синдром некомпактного миокарда ЛЖ»

№	Ген	Кодируемый белок	Источник
1	<i>MYH7</i>	$\beta$ -тяжелая цепь миозина	[36]
2	<i>MYBPC3</i>	Миозин-связывающий белок С	[36]
3	<i>TPM1</i>	$\alpha$ -1 цепь тропомиозина	[67]
4	<i>TNNT2</i>	Тропонин Т, миокард	[36]
5	<i>TNNI3</i>	Тропонин I, миокард	[68]
6	<i>TAZ</i>	Тафаззин	[36]
7	<i>MYL2</i>	Регулятор легкой цепи миозина 2	[69]
8	<i>MYL3</i>	Легкая цепь миозина 3	[70]
9	<i>ACTC1</i>	Белок семейства актинов	[36]
10	<i>LDB3 (ZASP)</i>	LIM domain binding 3 (Z-band alternatively spliced PDZ-motif)	[36]
11	<i>LMNA</i>	Ламин А/С	[71]
12	<i>DTNA</i>	Дистробревин- $\alpha$	OMIM: 604169

Таблица 3. Гены, вошедшие в Ampliseq-панель «Кардиомиопатии и синдром некомпактного миокарда ЛЖ» (продолжение)

№	Ген	Кодируемый белок	Источник
13	<i>DES</i>	Десмин	OMIM: 604765

Секвенирование выполнялось с использованием наборов готовых реагентов по протоколу фирмы-изготовителя (Life Technologies). Пробоподготовку для секвенирования на Ion Torrent проводили по протоколу фирмы (Life Technologies).

Приготовление библиотек ампликонов проводили по следующей схеме (рисунок 5):

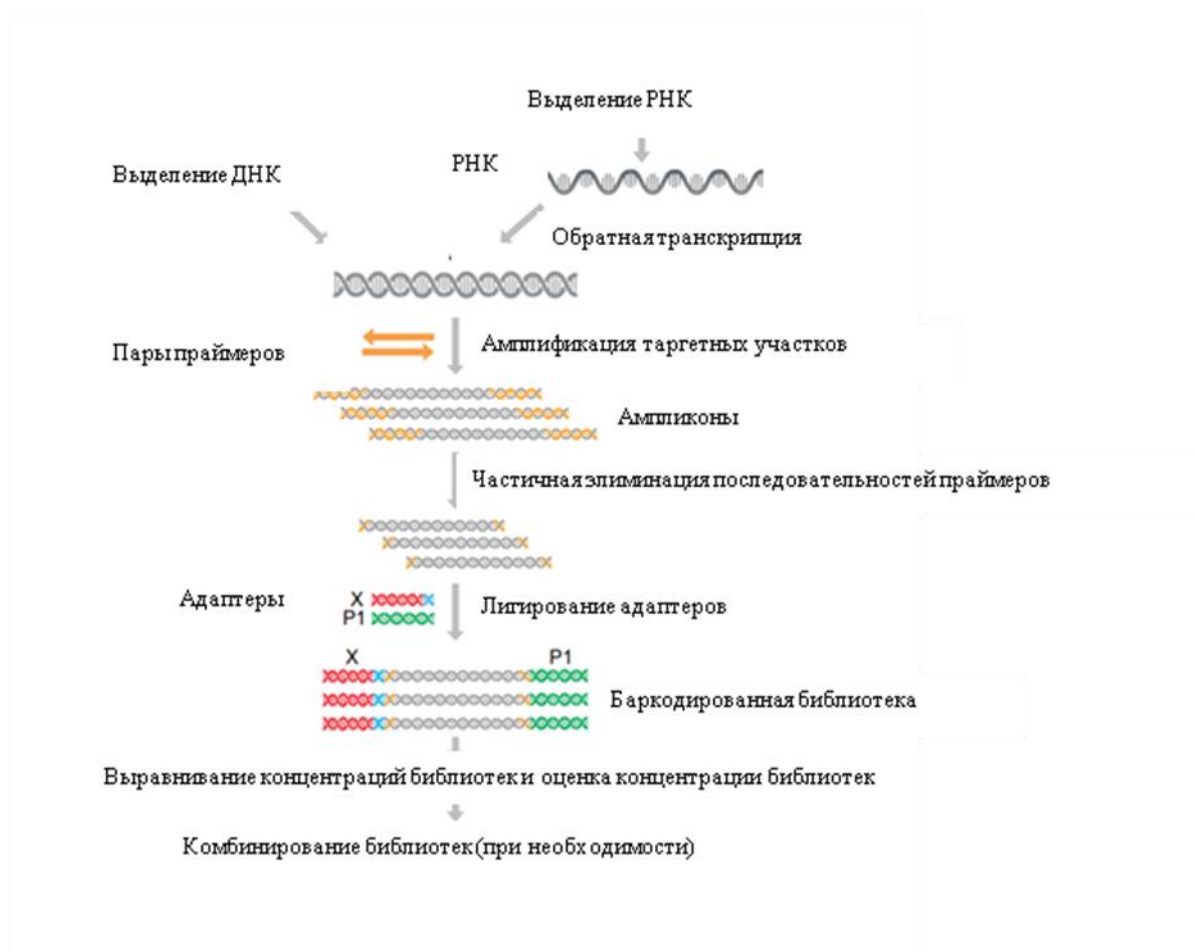


Рисунок 5. Схема пробоподготовки библиотек для секвенирования на платформе Ion Torrent.

Приготовление библиотек ампликонов включало в себя следующие этапы:

1. Таргетная амплификация участков ДНК с использованием панели праймеров Ampliseq.
2. Частичная элиминация последовательностей праймеров
3. Лигирование ампликонов и молекулярных штрихкодов. В случае секвенирования на одном чипе нескольких библиотек к каждой библиотеке присоединяют молекулярный штрихкод (адаптер). Набор реагентов для лигирования включает в себя адаптеры IonXpress Adapters (форвардный и реверсный) в необходимой концентрации.
4. Очистка библиотеки с использованием магнитных шариков, выравнивание концентраций библиотек и оценка концентрации библиотек с использованием флуориметра Qubit.

Приготовленные библиотеки ампликонов смешивали в эквимольном соотношении. Смесь библиотек наносили на чип прибора Ion Torrent в соответствии с протоколом фирмы-производителя.

Результаты секвенирования считались достоверными, если покрытие соответствующего участка гена составляло не менее 10 прочтений и целевой фрагмент был прочитан как с форвардного праймера, так и с реверсного.

Все стабильно непокрываемые панелью области, а также области, имеющие низкое качество покрытия у конкретных пациентов (< 10 прочтений) были отсекуены методом прямого автоматического двунаправленного секвенирования по Сенгеру.

Выявленные у пробандов генетические варианты подтверждали альтернативным методом – прямым автоматическим двунаправленным секвенированием по Сенгеру или ПЦР-ПДФ анализом.

### ***2.5.3. ПЦР - амплификация исследуемых фрагментов ДНК***

Для избирательной амплификации кодирующих последовательностей и прилегающих интронных областей генов вошедших в Ampliseq-панель «Синдром

некомпактного миокарда левого желудочка», был проведен дизайн и синтез оригинальных олигопраймеров.

Подбор праймеров осуществлялся с использованием интернет-ресурсов PrimerQuest и NCBI\Primer Blast. Предварительный расчет температур плавления осуществлялся с помощью программ PerlPrimer и PrimerQuest (<http://www.idtdna.com/PrimerQuest>). Специфичность выбранных пар праймеров оценивалась с помощью Интернет-ресурса NCBI\Primer Blast. Условия амплификации впоследствии подбирались экспериментально.

Визуализация результатов ПЦР проводилась методом электрофореза нуклеиновых кислот в агарозных гелях различной плотности. Метод основан на различной подвижности в геле молекул нуклеиновых кислот с разной молекулярной массой под действием электрического поля.

Для амплификации использовался автоматический амплификатор «Терцик» (ДНК-Технология, Россия). Очистка проб перед секвенированием проводилась с использованием смеси ферментов Exo-SAPIt согласно протоколу фирмы-производителя.

#### ***2.5.4. Прямое двунаправленное секвенирование по Сенгеру***

Секвенирование последовательности амплифицированных фрагментов проводилось на приборе Applied Biosystems ABI3730 XL согласно протоколу фирмы-производителя.

Результаты прямого секвенирования анализировались при помощи программы «Chromas 2» (<http://www.techneylum.com.au>). В качестве последовательности сравнения использовались референсные последовательности базы данных NCBI RefSeq (hg19). Номера референсных последовательностей, которые использовались при анализе результатов секвенирования, приведены в Таблице 4.

### 2.5.5. ПЦР-ПДРФ анализ

Подбор эндонуклеаз рестрикции для детекции конкретного генетического варианта проводили с помощью Интернет-ресурса <http://www.restrictionmapper.org>.

Таблица 4. Номера референсных последовательностей (NCBI RefSeq) кДНК генов *MYH7*, *MYBPC3*, *TPM1*, *TNNT2*, *TNNI3*, *ACTC1*, *TAZ*, *MYL3*, *MYL2*, *LDB3 (ZASP)*, *LMNA*, *DTNA*, *DES* которые использовались при анализе результатов секвенирования

№	Ген	Изоформа кДНК (NCBI RefSeq)
1	<i>MYH7</i>	NM_000257.3
2	<i>MYBPC3</i>	NM_000256.3
3	<i>TPM1</i>	NM_001018005.1
4	<i>TNNT2</i>	NM_001001430.2
5	<i>TNNI3</i>	NM_000363.4
6	<i>TAZ</i>	NM_000116.4
7	<i>MYL2</i>	NM_000432.3
8	<i>MYL3</i>	NM_000258.2
9	<i>ACTC1</i>	NM_005159.4
10	<i>LDB3 (ZASP)</i>	NM_001080116.1
11	<i>LMNA</i>	NM_170707.3
12	<i>DTNA</i>	NM_001390.4
13	<i>DES</i>	NM_001927.3



ПЦР-ПДРФ анализ осуществляли путем обработки амплифицированных целевых фрагментов ДНК соответствующей эндонуклеазой рестрикции по протоколу фирмы-производителя (НПО «СибЭнзим»).

Анализ результатов проводили методом электрофореза нуклеиновых кислот в 2% агарозном геле или в 8% полиакриламидном геле.

#### ***2.5.6. Дополнительное секвенирование с учетом клинической картины***

При наличии у пациента данных в пользу определенного генетического заболевания проводилось таргетное секвенирование соответствующего гена методом прямого двунаправленного секвенирования по Сенгеру.

### ***2.6. Секвенирование экзона***

Для четверых пробандов и пятерых родственников было проведено секвенирование экзона на платформе Ion Torrent. Для одного пробанда секвенирование экзона было проведено из-за подозрения на синдромальную патологию; семьям двух пробандов с тяжелыми клиническими проявлениями заболевания секвенирование экзона было предложено с учетом оценки целесообразности секвенирования панели генов и дополнительного таргетного секвенирования отдельных генов. Еще в одной семье секвенирование экзона было проведено с учетом отягощенного по повторным детским смертям семейного анамнеза и запроса семьи на раннюю генетическую диагностику.

Приготовление экзомных библиотек проводили с помощью методики SeqCap EZ Target Enrichment System готовым набором для обогащения экзотов по протоколу фирмы (Roche).

Потенциально патогенные генетические варианты подтверждались методом прямого автоматического секвенирования методом Сенгера. Для трех семей после секвенирования экзона проводили каскадный семейный скрининг с целью таргетного поиска потенциально патогенных генетических вариантов. Для одной

семьи было выполнено секвенирование экзонов обоих родителей, пробанда и трех сибсов.

## 2.7. Биоинформатические методы

Предварительная оценка функциональной значимости выявленных нуклеотидных замен осуществлялась на основе биоинформатических Интернет-ресурсов:

- NCBI ([www.ncbi.nlm.nih.gov/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/))
- Exome Variant Server (<http://evs.gs.washington.edu/EVS/>)
- HGMD (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>)
- CardioClassifier (<https://www.cardioclassifier.org/>)
- NetGene2 Server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetGene2/>)
- Splice Site Predictor ([http://www.fruitfly.org/seq\\_tools/splice.html](http://www.fruitfly.org/seq_tools/splice.html))
- Polyphen2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>)
- SIFT (<http://blocks.fhcrc.org/sift/SIFT.html>)
- PROVEAN (<http://provean.jcvi.org/index.php>)
- MutationTaster (<http://www.mutationtaster.org/>)
- InterVar (<http://wintervar.wglab.org/>)

Оценка потенциальной патогенности обнаруженных генетических вариантов проводилась в соответствии с Руководством по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) от 2017 года [73]. При анализе потенциальной патогенности использовали биоинформатические ресурсы CardioClassifier и InterVar. Генетическим вариантам по результатам анализа присваивались классы патогенности I-V.

## 2.8. Оценка потенциального функционального значения генетического варианта

Для пробанда, у которого был обнаружен генетический вариант, затрагивающий сайт сплайсинга, выполнялась оценка возможного функционального значения генетического варианта. Было проведено исследование мутантной мРНК.

Тотальную РНК выделяли из биоптата мышцы пробанда и его отца (контрольный образец) с помощью готового набора реагентов Quick RNA Zymo Research по протоколу фирмы-производителя. Мутантная кДНК была получена методом ПЦР с обратной транскрипцией с помощью готового набора реагентов PrimeScript One Step RT-PCR Kit по протоколу фирмы-производителя. Секвенирование мутантной кДНК проводили методом прямого автоматического двунаправленного секвенирования по Сенгеру.

Последовательности олигонуклеотидных праймеров для реакции ПЦР с обратной транскрипцией и для последующего секвенирования методом Сенгера, приведены в таблице 5.

Таблица 5. Последовательности олигонуклеотидных праймеров для реакции ПЦР с обратной транскрипцией

№	Название олигопраймера	Последовательность олигопраймера (5'-3')
1	3F	GGAGATTCGGAGATGGCAG
2	4-5R	ATCAGTACATGCTGACAGACAGAGAA
3	36-37F	ACGGATGCCGCCATGAT
4	39R	ACGAAGGGCTTGAATGAGGAG

## 2.9. Статистический анализ полученных данных

Для статистического анализа полученных данных использовали программные пакеты SciPy и StatsModels языка программирования Python.

Все количественные показатели были представлены в виде среднего и разброса максимального и минимального значений. При оценке значимости различий между двумя группами количественных показателей применяли t-критерий Стьюдента. Для сравнения групп с бинарными данными использовали точный тест Фишера. Оценку факторов, потенциально способных повлиять на результаты исследования, проводили методом линейной регрессии.

Для всех тестов различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## Глава 3. Результаты и обсуждение

### 3.1. Клинико-генеалогическая характеристика сформированной группы пациентов

Нами были обследованы 67 неродственных семей, где пробанду был поставлен диагноз «синдром некомпактного миокарда левого желудочка» («СНМЛЖ»). Выборка включала 67 пробандов и 29 родственников I степени родства (всего – 96 человек), обратившихся в РНЦХ им. акад. Б.В.Петровского в период с 2011 по 2018 год. Был создан банк биологических образцов (венозная кровь, в отдельных случаях – образцы тканей в парафиновых блоках) и ДНК пациентов. Клиническая информация для всех семей была собрана в отдельные папки-файлы и проиллюстрирована родословными.

В соответствии с возрастом манифестации заболевания были сформированы 3 группы пациентов – взрослая (манифестация заболевания старше 18 лет), детская (манифестация заболевания в возрасте с 1 месяца до 17 лет включительно) и неонатальная (манифестация заболевания пренатально или с рождения и до 1 месяца жизни включительно).

Мы также проанализировали возраст постановки диагноза «СНМЛЖ» в группе взрослых пациентов. Возраст постановки диагноза в детской группе оценить не представлялось возможным, т.к. некоторые пациенты были включены в исследование во взрослом возрасте и имели анамнестические указания на манифестацию кардиомиопатии в детском возрасте, но возраст постановки диагноза «СНМЛЖ» был не установлен.

Распределение по полу пациентов с СНМЛЖ, а также средний возраст манифестации заболевания и средний возраст постановки диагноза для пациентов каждой группы представлен в таблице 6.

По данным литературы, возраст постановки диагноза при СНМЛЖ варьирует в очень широких пределах; в среднем, для взрослых пациентов он

составляет 40-50 лет. Это согласуется с нашими данными – средний возраст постановки диагноза в группе взрослых пациентов составил  $46,3 \pm 14,4$  года.

Средний возраст постановки диагноза для детской группы не представлен, т.к. многие пациенты длительное время наблюдались с диагнозом «кардиомиопатия» или «нарушения ритма сердца», а наличие НМЛЖ было верифицировано только во взрослом возрасте. Согласно литературным данным, средний возраст постановки диагноза для детей составляет 5-7 лет [2].

Таблица 6. Распределение по полу пациентов с СНМЛЖ

Группа пациентов с СНМЛЖ	Пол (Число пробандов, чел/(%))		Средний возраст манифестации заболевания, лет (минимальный-максимальный)	Средний возраст постановки диагноза, лет
	Мужской	Женский		
Взрослая группа	25 (51%)	24 (49%)	38,6 (19-59)	46,2
Детская группа	5 (41,7%)	7 (58,3%)	11,0 (6 месяцев – 17 лет)	н/д
Неонатальная группа	4 (66,7%)	2 (33,3%)	До 1 месяца жизни	До 1 месяца жизни
Итого	34 (50,7%)	33 (49,3%)		

Обращает на себя внимание тот факт, что в неонатальной возрастной группе из 6 пациентов было 4 мальчика. Можно было предположить, что среди пациентов с ранней манифестацией заболевания окажутся пациенты с тяжело протекающей X-сцепленной формой (синдромом Барта), в этом случае пациенты мужского пола будут значимо преобладать в неонатальной группе, по сравнению с детской и взрослой группами. В нашей выборке ни у одного пациента неонатальной группы в семейном анамнезе не было указаний на X-сцепленную

патологию, синдром Барта не был диагностирован ни у одного из пациентов: не было обнаружено нейтропении и других облигатных клинических признаков синдрома. Статистически значимой разницы в распределении по полу между взрослой и неонатальной группами, а также между детской и неонатальной группами выявлено не было,  $p = 0,67$  и  $p = 0,62$ , соответственно (Таблицы 7 и 8).

Таблица 7. Оценка статистической значимости различий в распределении по полу во взрослой и неонатальной группах пациентов

	Взрослая группа	Неонатальная группа	Значение p
Мужчины	25	4	> 0,05
Женщины	24	2	

Таблица 8. Оценка статистической значимости различий в распределении по полу в детской и неонатальной группах пациентов

	Детская группа	Неонатальная группа	Значение p
Мальчики	5	4	> 0,05
Девочки	7	2	

Однако небольшое число пациентов в неонатальной группе пациентов не позволяет корректно сравнить возрастные группы и сделать вывод о статистически значимом преобладании пациентов мужского пола в группе пациентов раннего возраста. В нашем случае отсутствие статистически значимых различий следует скорее интерпретировать как нехватку данных, нежели как

гомогенность в распределении по полу в различных возрастных группах пациентов с СНМЛЖ. В исследовании Се Wang et al. (2017) [40] мутации в гене *TAZ* были на втором месте по выявляемости после мутаций в гене *MYH7*, а клинические проявления СНМЛЖ у носителей мутаций в гене *TAZ* не ограничивались синдромом Барта. Однако это исследование было проведено на большой группе пациентов раннего возраста (102 пациента, средний возраст которых составил  $1,8 \pm 0,4$  года). В нашем случае, вероятно, имеет место особенность выборки. Дети с синдромом Барта, при условии относительной сохранности фракции выброса, нуждаются в коррекции неврологических нарушений и, следовательно, оказываются в профильных учреждениях.

### **3.2. Анатомические варианты ремоделирования миокарда у пациентов с некомпактным миокардом левого желудочка**

Мы проанализировали анатомические варианты ремоделирования миокарда в обследованной группе пациентов, независимо от возраста. Изолированный НМЛЖ наблюдался у 15 пациентов (23%). У большей части пациентов наблюдалось сочетание НМЛЖ с другими вариантами ремоделирования миокарда (Рис. 6).

У большей части пациентов (35/67, 52,2%) наблюдалась, наряду с некомпактным слоем миокарда, дилатация камер сердца. Средний возраст взрослых пациентов с некомпактным миокардом и дилатацией (без учета неонатальной возрастной группы) составил 36 лет. Гипертрофия миокарда наблюдалась у 15 пациентов (22,4%), при этом у 10 из 15 пациентов наблюдалась, кроме гипертрофии миокарда, дилатация камер сердца. Средний возраст пациентов с некомпактным миокардом и гипертрофией составил 28 лет. Мы считаем возникновение дилатации естественным прогрессированием гипертрофической кардиомиопатии, поэтому рассматриваем данных пациентов в контексте первично возникшей гипертрофии. Средний возраст пациентов с НМЛЖ и дилатацией был выше, чем таковой у пациентов с НМЛЖ и



гипертрофией (как без дилатации, так и в сочетании с дилатацией). Это позволяет рассматривать дилатацию как естественное прогрессирование кардиомиопатии, конечную стадию имеющегося заболевания сердца.

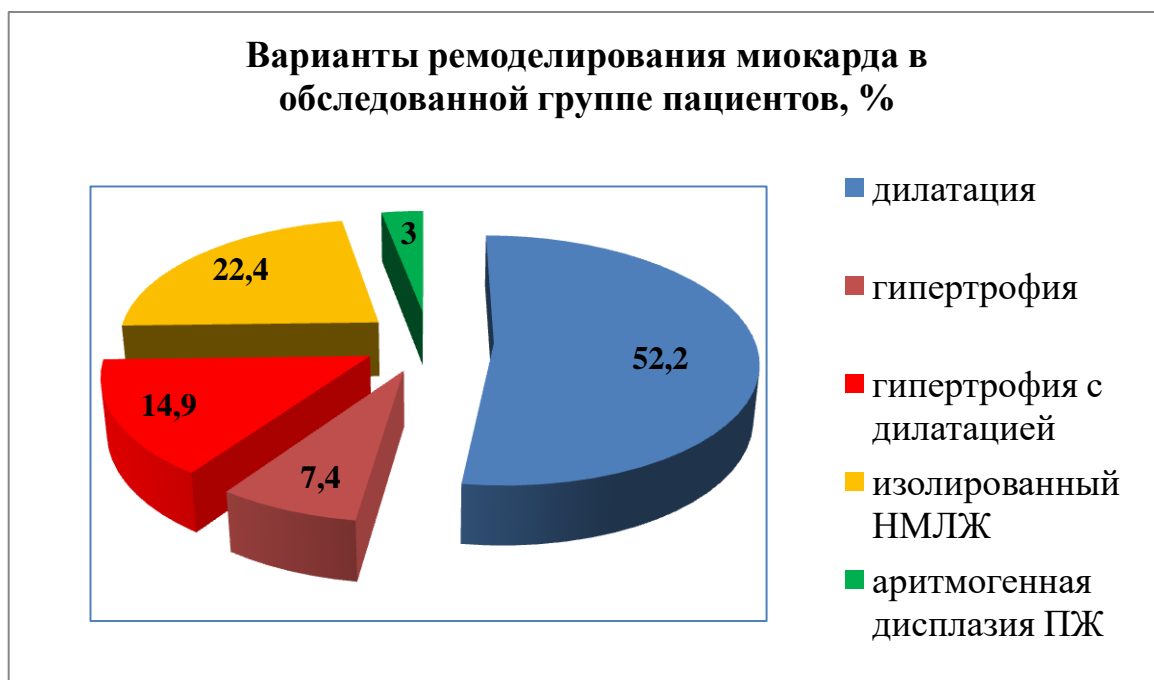


Рисунок 6. Варианты ремоделирования миокарда в обследованной группе пациентов, %.

У двоих пациентов (3%), помимо НМЛЖ, выполнялись диагностические критерии Marcus (2010) для аритмогенной дисплазии правого желудочка. У одного из пациентов диагноз «АДПЖ», в соответствии с критериями Marcus (2010), был достоверным, присутствовали следующие диагностические критерии: нарушения локальной и глобальной сократимости правого желудочка, частая правожелудочковая экстрасистолия, эpsilon-волна в отведении V1. У второй пациентки диагноз «АДПЖ» был вероятным, согласно критериям Marcus (2010).

Необходимо отметить, что наше исследование имело определенные ограничения. Большинство пациентов были направлены на молекулярно-генетическое исследование из отделений, специализирующихся на лечении

сердечной недостаточности и/или нарушений сердечного ритма. Следовательно, выраженность клинических проявлений у большинства пациентов на момент направления на исследование требовала обращения к врачу и рассмотрения вопроса о медикаментозном и/или хирургическом лечении.

Согласно классификации Towbin (2015), прогноз заболевания наиболее благоприятен для бессимптомных пациентов с изолированным НМЛЖ, на долю которого приходится до 35% случаев обнаружения НМЛЖ [37]. В исследовании Towbin et al. не приводятся доли остальных вариантов ремоделирования. Поскольку в нашей выборке пациентов преобладают пациенты с выраженными симптомами кардиомиопатии, доли пациентов с различными вариантами ремоделирования не отражают структуру спектра морфологических форм НМЛЖ в популяции в целом. В нашем исследовании среди пациентов с морфологически изолированным НМЛЖ только у двоих пациентов (3%) отсутствовали клинические проявления заболевания. Оба бессимптомных пациента были мужского пола, у обоих НМЛЖ был диагностирован случайно во время рутинного обследования в возрасте 15 и 25 лет. Обоим пациентам было рекомендовано динамическое наблюдение с целью оценки рисков развития аритмий и/или кардиомиопатии в дальнейшем.

Мы проанализировали средний возраст манифестации СНМЛЖ и варианты ремоделирования миокарда во взрослой и детской группах пациентов. В ходе анализа из группы пациентов с дилатационной кардиомиопатией были исключены пациенты неонатальной группы, поскольку экстремально ранняя манифестация ДКМП у этих пациентов не позволяет рассматривать дилатацию как естественное прогрессирование заболевания сердца. Результаты анализа представлены в таблице 9.

Поскольку в группе пациентов с АДПЖ оказалось только 2 пациента, учитывать средний возраст пациентов в этой группе не представлялось возможным.

Таблица 9. Средний возраст манифестации заболевания и различные варианты ремоделирования миокарда во взрослой и детской группах пациентов с СНМЛЖ

	Средний возраст манифестации заболевания	Соотношение «М:Ж»
Изолированный НМЛЖ	36	4:11
Дилатация (за исключением неонатальной группы)	36,2	14:13
Гипертрофия	28	9:6
Аритмогенная дисплазия ЛЖ	44	1:1

Статистически значимой разницы в возрасте манифестации для трех групп обнаружено не было. Тем не менее, обращает на себя внимание то, что самый ранний возраст манифестации заболевания наблюдался у пациентов с гипертрофией, самый поздний – у взрослых пациентов с дилатацией. Это, а также близкое к 1:1 соотношение по полу, может отражать естественный исход в дилатацию имеющегося заболевания сердца.

Статистически значимой разницы между соотношением по полу в трех группах получено не было. В группе пациентов с изолированной формой некомпактного миокарда преобладали пациенты женского пола, в то время как в группе пациентов с гипертрофией – пациенты мужского пола. Для гипертрофической кардиомиопатии различия между пациентами мужского и женского пола в возрасте манифестации, пенетрантности и течении заболевания были описаны ранее [72], [73]. Согласно литературным данным, ГКМП манифестирует раньше у пациентов мужского пола, пенетрантность также выше среди мужчин, однако клинические проявления заболевания более выражены у

женщин, в т.ч. у женщин наблюдался более высокий класс сердечной недостаточности (NYHA III/IV). Это может объяснять преобладание пациентов мужского пола с более ранним возрастом манифестации в группе пациентов с гипертрофией. В таком случае пациенты женского пола с первично возникшей гипертрофией миокарда могут оказаться в группе с дилатацией.

Преобладание женщин в группе пациентов с изолированной формой некомпактного миокарда в рамках настоящего исследования объяснено не было. Соответствующих исследований также обнаружено не было. Возможно, преобладание женщин в группе пациентов с изолированной формой некомпактного миокарда является особенностью нашей группы пациентов.

Выводы по разделу:

- Было обследовано 67 пробандов и 29 родственников I степени родства. Соотношение по полу среди пробандов было близко к 1 (34 пробанда мужского пола, 33 – женского).
- Были проанализированы анатомические варианты ремоделирования миокарда у пациентов с НМЛЖ. Изолированный НМЛЖ присутствовал в 23% случаев; у большинства пробандов (52,2%) наблюдалась дилатация камер сердца; в 22,4% случаев наблюдалась гипертрофия миокарда.
- Возраст манифестации заболевания различался в зависимости от типа ремоделирования миокарда. Наиболее ранний возраст манифестации заболевания наблюдался в группе пациентов с гипертрофией миокарда (28 лет), наиболее поздний – в группе пациентов с дилатацией (36,2 лет).
- В группе пациентов с НМЛЖ, где средний возраст манифестации заболевания составил 36 лет, наблюдалось значительное преобладание пациентов женского пола (73%).

### **3.3. Результаты молекулярно-генетического анализа генов, входящих в панель «Синдром некомпактного миокарда левого желудочка»**

#### ***3.3.1. Общие результаты молекулярно-генетического анализа у пациентов с синдромом некомпактного миокарда левого желудочка***

Секвенирование панели генов «Синдром некомпактного миокарда ЛЖ» было выполнено для 67 пробандов, которым был выставлен диагноз «синдром некомпактного миокарда ЛЖ».

Генетические варианты не рассматривали как потенциально патогенные, если они отвечали следующим критериям:

1. если генетический вариант ранее был описан в литературе как не имеющий клинического значения;
2. если генетический вариант внесен в базы данных и является частым – частота аллеля  $> 5\%$ , согласно базам данных ESP, 1KP или ExAC [74].
3. Частота генетического варианта превышает частоту заболевания (с учетом типа наследования). Поскольку частота НМЛЖ не определена, а большинство литературных источников сообщают преимущественно об аутосомно-доминантном типе наследования, нами был выбран порог отсечки частоты аллеля  $0,01\%$  [74];

Наличие генетических вариантов, не отвечающих данным критериям, а также наличие впервые выявленных генетических вариантов подтверждалось прямым автоматическим двунаправленным секвенированием по Сенгеру. Потенциальная патогенность обнаруженных генетических вариантов оценивалась с помощью указанных биоинформатических ресурсов.

Клиническое значение выявленных генетических вариантов оценивалось, согласно Руководству Российского общества медицинских генетиков по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного

секвенирования (MPS) [74], по критериям интерпретации генетических вариантов ACMG (2015), а также с привлечением ресурсов Cardio Classifier и InterVar.

Критерии интерпретации генетических вариантов ACMG были опубликованы в 2015 году и сразу оказались интегрированы в клиническую и исследовательскую практику, что говорит об их безусловной актуальности. По мере накопления данных о работе с критериями ACMG стали появляться публикации о недостатках этих критериев: так, некоторые авторы отмечают, что отдельные пункты рекомендаций не специфичны, могут быть интерпретированы неоднозначно и не учитывают значимые аспекты молекулярной генетики [75]. Результаты оценки применения критериев ACMG различными лабораториями были приведены в исследованиях Harrison et al. [76] (2017) и Whiffin et al. [77] (2018). Авторы отмечают, что дискордантность между лабораториями в интерпретации генетических вариантов может достигать 10%.

Имеющиеся разночтения не делают применение критериев ACMG невозможным, однако указывают на необходимость подходить к интерпретации генетических вариантов максимально объективно. С этой целью было создано несколько биоинформатических ресурсов, позволяющих автоматизировать интерпретацию генетических вариантов в соответствии с критериями ACMG. Среди них – ресурсы CardioClassifier (Whiffin et al. 2017 BioRxiv) и InterVar. Оба ресурса позволяют учитывать критерии, содержащие клиническую информацию (происхождение генетического варианта *de novo*, данные каскадного семейного скрининга и т.д.). Результаты интерпретации генетических вариантов в генах исследовательской панели будут рассмотрены в соответствующих разделах.

*Результаты собственной интерпретации выявленных генетических вариантов.* Генетические варианты с неустановленным клиническим значением, а также патогенные/вероятно патогенные генетические варианты были выявлены в 30 семьях (45%). Всего было обнаружено 33 генетических варианта III-V классов патогенности. Количество генетических вариантов каждого класса

патогенности (ACMG 2015, классы III-V) представлено в Таблице 10. Соотношения доли пациентов с генетическими вариантами различных классов представлено на рисунке 7.

Таблица 10. Генетические варианты, выявленные в группе пациентов с СНМЛЖ

	Классы патогенности		
	III (неустановленное клиническое значение)	IV (вероятно патогенный)	V (патогенный)
Количество генетических вариантов	20	6	7

Большая часть обнаруженных генетических вариантов была классифицирована как варианты с неустановленным клиническим значением. Доля пробандов-носителей VUCS составила 30% от общего числа семей; от общего числа пробандов с выявленными генетическими вариантами доля пробандов-носителей VUCS составила 60,6%, т.е. большая часть выявленных генетических вариантов была охарактеризована как варианты с неустановленным клиническим значением.

Обращает на себя внимание обнаружение большого количества вариантов с неустановленным клиническим значением в генах саркомерных белков, т.е. в хорошо изученных генах. Это явление может быть рассмотрено с нескольких точек зрения.

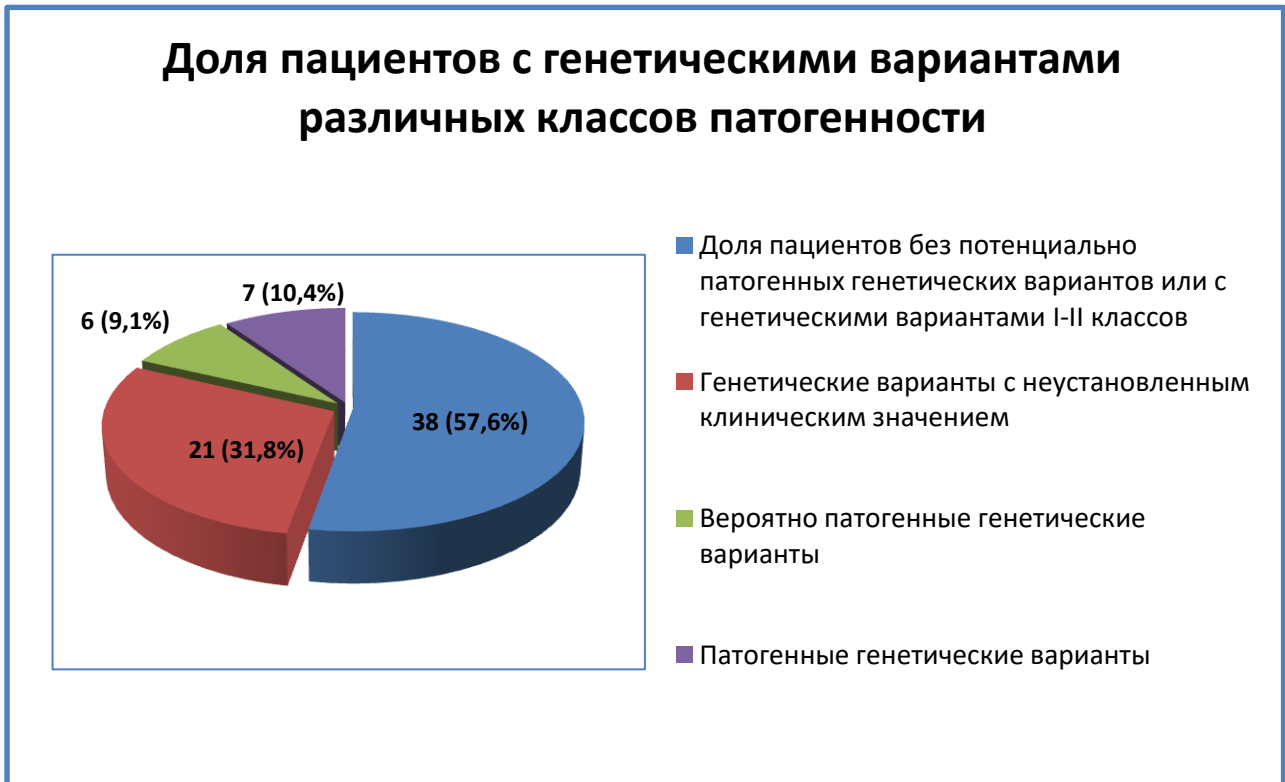


Рисунок 7. Доля генетических вариантов различных классов в группе пациентов с СНМЛЖ.

С одной стороны, обнаружение большого количества вариантов с неустановленным клиническим значением у пациентов с НМЛЖ может говорить об особом генетическом спектре НМЛЖ. В таком случае можно ожидать наличие неких общих свойств обнаруженных генетических вариантов, характеризующих генетические особенности НМЛЖ. К таким свойствам могли бы относиться определенный тип мутаций (миссенс, нонсенс, делеции/инсерции и т.д.), кластеризация мутаций в определенных участках генов и т.д.

С другой стороны, по мере внедрения в исследовательскую практику методов высокопроизводительного секвенирования, число обнаруженных генетических вариантов растет, и в таком случае обнаружение большого количества VUCS отражает этап накопления информации о генетическом спектре отдельных генов. Этот аспект рассматривается в исследовании R. Walsh et al. [47] (2017). Парадокс высокопроизводительного секвенирования в том, что генетические варианты, каждый из которых индивидуально редок, вместе



составляют большую долю от числа всех обнаруженных вариантов. Аналогию можно провести с орфанными заболеваниями – каждое заболевание по отдельности встречается в популяции с низкой частотой, однако в целом они составляют значительную долю в структуре заболеваемости. По данным Walsh et al.[47], в среднем в экземе можно обнаружить 7,6 редких несинонимичных вариантов с частотой минорного аллеля (MAF)  $<0.1\%$ , располагающихся в хорошо изученных генах, ответственных за те или иные доминантные заболевания. В популяции такие генетические варианты будут встречаться очень редко или же будут «частными», т.е. обнаруженными в единственной семье.

В нашей группе пациентов большая часть генетических вариантов была обнаружена в генах *MYH7* и *MYBPC3*. Из числа обнаруженных генетических вариантов 24 варианта (72,7%) приводили к замене одной аминокислоты на другую (миссенс-варианты), один из миссенс-вариантов затрагивал старт-кодон, 3 варианта (9,1%) приводили к замене аминокислоты на стоп-кодон (нонсенс-варианты), 4 варианта (12,1%) – к делеции/инсерции одной или нескольких аминокислот и, следовательно, к образованию транскрипта аномальной длины, 2 варианта (6,1%) затрагивали сайты сплайсинга. Мы не проводили анализ вариаций числа копий генов и детекцию крупных (сопоставимых с размером экзона) делеций/инсерций. Соотношение различных типов генетических вариантов представлено на рисунке 8.

Преобладание миссенс-вариантов согласуется с данными других авторов. В таблице 11 приведены сведения о типах мутаций в нашем исследовании и в соответствии с литературными данными.

Из числа всех обнаруженных генетических вариантов 13 относились к IV-V классу патогенности, 20 – к III классу патогенности. Соотношение «сигнал-шум» составило 13:20  $\sim 0,65:1$ . Для сравнения, соотношение «сигнал-шум» для гипертрофической кардиомиопатии по состоянию на 2011 год составляло 12:1, для аритмогенной дисплазии правого желудочка – 4:1 [36]



Рисунок 8. Соотношение различных типов генетических вариантов в группе пациентов с НМЛЖ.

Необходимо отметить, что указанные значения соотношения «сигнал-шум» для кардиомиопатий опубликованы в 2011 году, т.е. до разработки критериев интерпретации для генетических вариантов, выявленных в ходе высокопроизводительного секвенирования. По состоянию на 2011 год требования к интерпретации генетических вариантов могли отличаться. Насколько нам известно, повторный анализ соотношения «сигнал-шум», с учетом новых требований к интерпретации, для кардиомиопатий не проводился.

Нам не удалось выявить особенности, характерные для обнаруженного спектра генетических вариантов. Однако необходимо отметить преобладание миссенс-вариантов в нашем исследовании и в нескольких других (Таблица 11). Доля миссенс-вариантов в приведенных исследованиях (кроме Li et al. [78]), составляла 68-90%. В работе Li et al. [78] ген *TTN* был включен в спектр исследуемых генов и половина генетических вариантов, приводящих к сдвигу рамки считывания (7/14), находилась именно в нем, а доля миссенс-вариантов составила 38%. Результаты Li et al. [78] достоверно отличаются (точный тест

Фишера,  $p < 0,05$ ) от результатов других исследовательских групп, приведенных в таблице 11. Можно предположить, что значительное преобладание миссенс-вариантов в генах белков саркомерных генов не является характерной особенностью генетического спектра СНМЛЖ, но отражает особенности дизайна и ограничений исследований.

Таблица 11 Сравнение числа генетических вариантов различных типов в данном исследовании и с литературными данными

Типы генетических вариантов	Авторы	Probst et al., 2011 [31]	Wang et al., 2017 [40]	Li et al., 2018 [78]	Richard et al., 2018 [79]	Данное исследование
Миссенс		13	39	16	35	24
Нонсенс		0	1	8	6	3
Мутации сайтов сплайсинга		3	2	4	0	2
Делеции/инсерции		2	1	14	10	4
<b>Всего</b>		<b>18</b>	<b>43</b>	<b>42</b>	<b>51</b>	<b>33</b>

Кластеризации генетических вариантов в отдельных частях генов обнаружено не было. Распределение генетических вариантов внутри каждого гена и вопросы генетического спектра и интерпретации генетических вариантов будут представлены в соответствующих разделах.

### 3.3.2. Результаты молекулярно-генетического анализа гена *MYH7* у пациентов с синдромом некомпактного миокарда левого желудочка

В гене *MYH7* было обнаружено 15 потенциально патогенных генетических вариантов в 15 неродственных семьях. Пациентов-носителей двух потенциально патогенных генетических вариантов в гене *MYH7* в нашей выборке обнаружено не было. Также не было выявлено генетических вариантов, встречающихся более чем в одной семье. Выявленные генетические варианты, их локализация и, при наличии, ссылка на информацию в базе данных представлены в таблице 12.

Таблица 12. Локализация в гене и наличие информации в базах данных для генетических вариантов, выявленных в гене *MYH7* у пациентов с СНМЛЖ

№	Нуклеотидная замена	Изменение белка	Экзон	Частота (Б/Д gnomAD)	Ссылки
1	c.452C>T	p.P151L	5	н/д	rs730880837
2	c.541G>A	p.G181R	7	7.953e-6	rs760187215
3	c.709C>T	p.R237W	8	1.193e-5	rs45516091
4	c.1189A>G	p.K397E	13	н/д	новый
5	c.1255C>A	p.Q419K	13	н/д	новый
6	c.2510A>T	p.K837M	22	н/д	rs1060501439
7	c.2563_2565del GAG	p.E855del	22	н/д	rs730880887
8	c.3086A>C	p.Q1029P	24	н/д	новый
9	c.3286G>T	p.D1096Y	26	1.414e-4	rs45478699
10	c.4045G>A	p.E1349K	30	н/д	новый
11	c.4894G>A	p.A1632T	34	3.181e-5	rs565663412
12	c.5189T>C	p.M1730I	36	н/д	rs867004523

Таблица 12. Локализация в гене и наличие информации в базах данных для генетических вариантов, выявленных в гене *MYH7* у пациентов с СНМЛЖ (продолжение)

№	Нуклеотидная замена	Изменение белка	Экзон	Частота (Б/Д gnomAD)	Ссылки
13	c.5395G>A	p.E1799K	37	н/д	rs730880816
14	c.5655+5G>C	Мутация сайта сплайсинга	38	н/д	НОВЫЙ
15	c.5754_5756del CAA	p.N1918del	39	н/д	НОВЫЙ

Все перечисленные генетические варианты были выявлены в гетерозиготном состоянии. Из 15 генетических вариантов 6 (40%) были выявлены впервые.

Частота генетического варианта c.3286G>T (p.D1096Y) была несколько выше принятого нами порога отсечки в 0,01%. Этот вариант был неоднократно описан у пациентов с ГКМП и ДКМП [80], [81], [82], [83] и классифицирован как вариант с неустановленным клиническим значением панелью экспертов, одобренной FDA [84]. Однако частота генетического варианта c.3286G>T (p.D1096Y) ниже частоты ГКМП [85] и ДКМП [86] в популяции.

Частота генетического варианта c.4894G>A (p.A1632T) в африканской популяции так же выше порога отсечки в 0,01% и составляет 0,018%. Тем не менее, частота генетического варианта c.4894G>A (p.A1632T) ниже частоты частоты ГКМП [85] и ДКМП [86], а для африканской популяции нельзя исключить эффект основателя.

Распределение генетических вариантов внутри гена представлено на рис.9. Генетические варианты, выявленные впервые, показаны красным цветом.

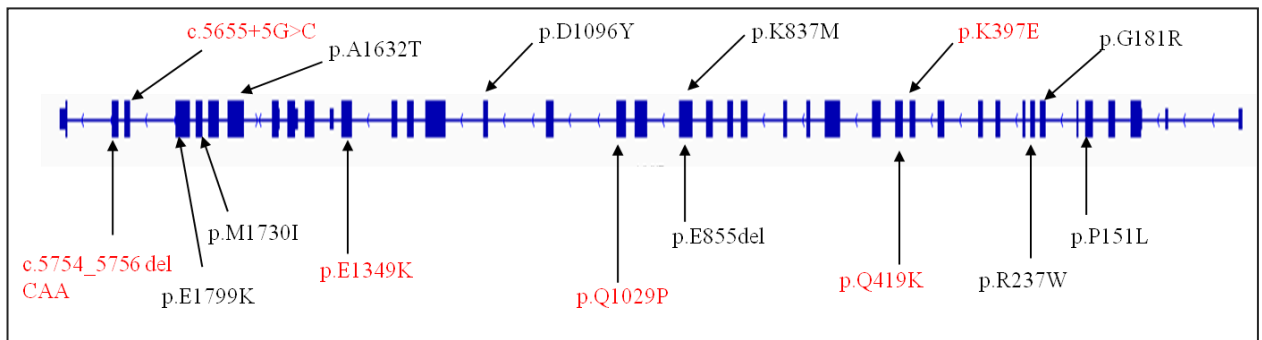


Рисунок 9. Распределение генетических вариантов в гене *MYH7*.

Был выполнен биоинформатический анализ всех миссенс-замен с использованием ресурсов PolyPhen2, SIFT, MutationTaster. Также все миссенс-замены были проанализированы на предмет возможного влияния на сплайсинг с помощью ресурса NetGene2. В случае, если как минимум 2 из 3 биоинформатических предикторов характеризовали замену как патогенную, генетический вариант считался потенциально патогенным по результатам биоинформатического анализа. С целью оценки возможного клинического значения все генетические варианты были охарактеризованы согласно рекомендациям ACMG [87] и Руководства по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования MPS [74]. Результаты биоинформатического анализа, анализа с помощью ресурсов CardioClassifier и InterVar и классы патогенности согласно рекомендациям ACMG (самостоятельная оценка) представлены в Таблице 13.

Генетические варианты, отмеченные астериском, располагаются в регионе с 181 по 937 аминокислотных остатков. Этот регион был подробно описан в исследовании Walsh et al. [47]. В ходе анализа неслучайных кластеров мутаций (nonrandom mutation cluster analysis) было показано, что генетические варианты, обнаруженные у пациентов с ГКМП, располагаются преимущественно в области с 181 по 937 аминокислоту, в то время как генетические варианты, присутствующие в базе данных ExAC, располагаются в регионе с 1271 по 1903 аминокислотный остаток.

Таблица 13. Результат биоинформатического анализа и класс патогенности генетических вариантов, обнаруженных в гене *MYH7* у пациентов с СНМЛЖ

№	Генетический вариант	Cardio Classifier	InterVar	Класс патогенности
1	p.P151L	Неустановленное клиническое значение	Вероятно патогенный	III
2	p.G181R*	Неустановленное клиническое значение	Вероятно патогенный	III
3	p.R237W*	Неустановленное клиническое значение	Вероятно патогенный	III
4	p.K397E*	Вероятно патогенный	Вероятно патогенный	IV
5	p.Q419K*	Неустановленное клиническое значение	Вероятно патогенный	III
6	p.K837M*	Неустановленное клиническое значение	Вероятно патогенный	III
7	p.E855del*	Неустановленное клиническое значение	Н/Д	III
8	p.Q1029P	Неустановленное клиническое значение	Вероятно патогенный	III
9	p.D1096Y	Неустановленное клиническое значение	Вероятно патогенный	III
10	p.E1349K	Вероятно патогенный	Патогенный	IV
11	p.A1632T	Неустановленное клиническое значение	Вероятно патогенный	III
12	p.M1730I	Неустановленное клиническое значение	Неустановленное клиническое значение	III

Таблица 13. Результат биоинформатического анализа и класс патогенности генетических вариантов, обнаруженных в гене *MYH7* у пациентов с СНМЛЖ (продолжение)

№	Генетический вариант	Cardio Classifier	InterVar	Класс патогенности
13	p.E1799K	Неустановленное клиническое значение	Вероятно патогенный	III
14	c.5754_5756 del CAA	Неустановленное клиническое значение	Н/Д	III
15	c.5655+5G>C	Н/Д	Н/Д	V

Схема расположения кластера мутаций в гене и один из генетических вариантов, обнаруженных у пациентки нашей группы и попавший в кластер, показаны на рис.10.

Описание мутантного кластера стало возможным благодаря обработке данных о большом количестве генетических вариантов и благодаря доступности клинической информации их носителей. Однако данный кластер был охарактеризован только для генетических вариантов, обнаруженных у пациентов с гипертрофической кардиомиопатией. В связи с этим мы считаем, что использовать данные о расположении генетического варианта в кластере для интерпретации клинического значения корректно только для пациентов с гипертрофией миокарда.

Мы проанализировали варианты ремоделирования миокарда у пациентов с генетическими вариантами, попавшими в кластер. Из 6 пациентов, у которых генетические варианты располагались в кластере гена *MYH7*, у троих наблюдалась гипертрофия миокарда. На этом основании считаем возможным повысить класс патогенности для замен, выявленных у пациентов с НМЛЖ в сочетании с гипертрофией миокарда. Для двух генетических вариантов класс патогенности был повышен с III до IV (вариант с неустановленным клиническим



значением → вероятно патогенный), еще для одного генетического варианта – с IV до V (вероятно патогенный → патогенный).

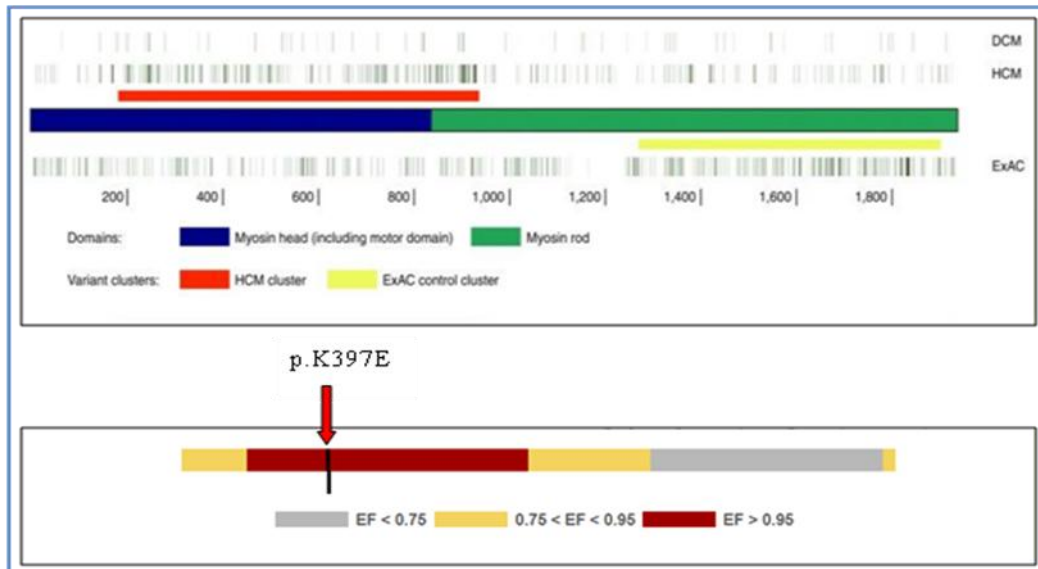


Рисунок 10 R. Walsh et al., 2017 [47], ред. В иллюстрации использованы результаты анализа замены p.K397E в гене *MYH7* с помощью ресурса Cardio Classifier. EF – этиологический индекс, доля пациентов, у которых генетический вариант вызвал заболевание.

Генетические варианты, расположенные внутри кластера, варианты ремоделирования миокарда у пациентов-носителей и классы патогенности генетических вариантов после переоценки представлены в таблице 14.

Генетический вариант p.R237W был ранее описан у пациента с семейной формой дилатационной кардиомиопатии [80] и охарактеризован как возможно патогенный, однако после переоценки генетических вариантов, выявленных в когорте пациентов с дилатационной кардиомиопатией [88], был признан вариантом с неустановленным клиническим значением. По результатам нашего анализа, генетический вариант p.R237W также можно охарактеризовать как вариант с неустановленным клиническим значением.

Таблица 14. Варианты ремоделирования миокарда у пациентов с генетическими вариантами, расположенными внутри кластера

№	Генетический вариант	Вариант ремоделирования миокарда	Класс патогенности генетического варианта
1	p.G181R	НМЛЖ + дилатация	III
2	p.R237W	НМЛЖ + аритмогенная дисплазия (вероятный диагноз).	III
3	p.K397E	НМЛЖ + гипертрофия	IV → V
4	p.Q419K	Изолированный НМЛЖ	III
5	p.K837M	НМЛЖ + гипертрофия	III → IV
6	p.E855del	НМЛЖ + гипертрофия в сочетании с дилатацией	III → IV

В гене *MYH7* было обнаружено 2 делеции: с.2563\_2656delGAG (p.E855del) и генетический вариант с.5754\_5756 del CAA (p.N1918del). Обе делеции не приводят к сдвигу рамки считывания и образованию преждевременного стоп-кодона.

Делеция с.2563\_2656delGAG (p.E855del) была выявлена у пробанда LVNC68 с некомпактным миокардом левого желудочка в сочетании с ГКМП; данный генетический вариант ранее был описан и зарегистрирован в базе данных ClinVar как вероятно патогенный (rs730880887). Семейный анамнез пробанда LVNC68 был отягощен по кардиомиопатиям, однако образцы ДНК родителей пробанда LVNC68 были не доступны для анализа. В отсутствии данных о сегрегации генетического варианта в семье и данных функциональных исследований генетический вариант с.2563\_2656delGAG (p.E855del) можно отнести только к III классу патогенности (неустановленное клиническое значение), однако, учитывая расположение генетического варианта

c.2563\_2656delGAG (p.E855del) внутри кластера мутаций и наличие у пробанда LVNC68 гипертрофии, мы считаем возможным отнести этот генетический вариант к IV классу патогенности.

Генетический вариант c.5754\_5756delCAA (p.N1918del) приводит к делеции аминокислоты аспарагина в положении 1918 и к образованию укороченной формы белка. Данный генетический вариант лежит вне описанного кластера мутаций. В отсутствии данных сегрегационного анализа и функциональных исследований, генетический вариант c.5754\_5756delCAA (p.N1918del) можно отнести только к III классу патогенности (неустановленное клиническое значение).

### **3.3.2.1. Оценка влияния генетического варианта c.5655+5G>C на сплайсинг**

Для одного (6,7%) генетического варианта в гене *MYH7* по результатам оценки с помощью программ-предикторов было обнаружено потенциальное влияние на сплайсинг. Генетический вариант c.5655+5G>C был обнаружен в ходе секвенирования экзона у пробанда NMD14 П-1 с задержкой физического развития, диффузной мышечной гипотонией, дилатацией камер сердца и некомпактным миокардом ЛЖ. Для семьи NMD14 был выполнен каскадный семейный скрининг. В образцах ДНК родителей пробанда генетический вариант c.5655+5G>C обнаружен не был, таким образом, было установлено происхождение генетического варианта *de novo*. Родословная семьи NMD14 и результаты каскадного семейного скрининга показаны на рисунке 11.

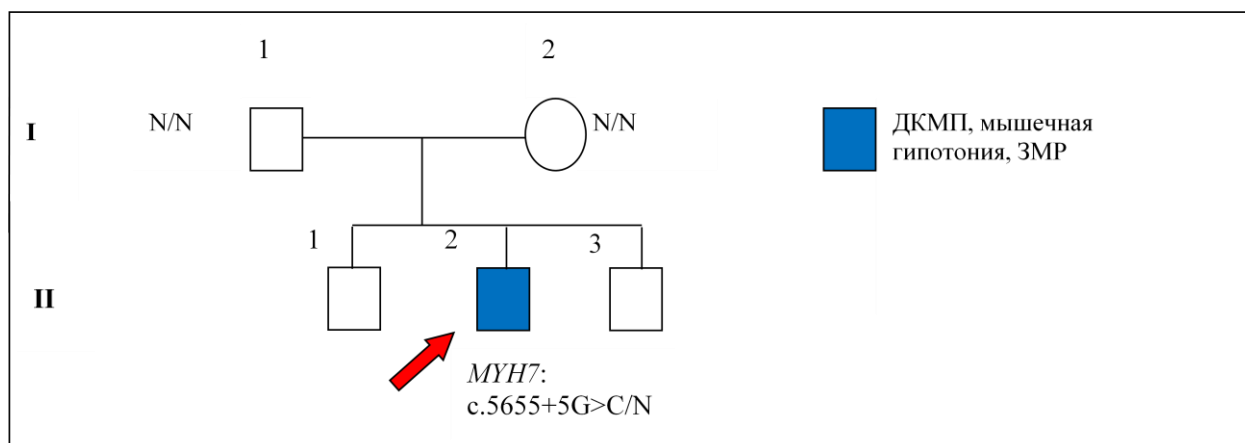


Рисунок 11 Родословная семьи NMD14. Римскими цифрами обозначены поколения семьи, арабскими – члены семьи внутри одного поколения. Пробанд указан красной стрелкой.

С целью оценки влияния генетического варианта на сплайсинг пациенту было проведено секвенирование кДНК, полученной из тотальной мРНК мышечной ткани.

Пациенту была выполнена биопсия четырехглавой мышцы бедра. В качестве контрольного образца мышечной ткани был получен биоптат четырехглавой мышцы бедра отца пациента (не-носитель генетического варианта с.5655+5G>C). Из полученных биоптатов была выделена тотальная РНК и затем методом ОТ-ПЦР получена кДНК; кДНК секвенировали методом прямого автоматического секвенирования по Сенгеру.

На рис. 12 показан фрагмент электрофореза в агарозном геле кДНК пробанда и его отца (контрольный образец). Образец пробанда в ходе электрофореза разделился на две полосы (на рисунке показаны черными горизонтальными стрелками). Обе полосы были вырезаны из агарозного геля и отсеквенированы методом прямого автоматического секвенирования методом Сенгера. В ходе секвенирования полосы, длина которой соответствовала нормальной длине ампликона, получена нормальная гомозиготная

последовательность экзонов 37-39 (на рисунке не показана). При секвенировании полосы, длина которой была меньше нормы, получена гомозиготная последовательность экзонов 37 и 39, с утратой последовательности экзона 38. Хроматограмма прямого автоматического рисунке 12. Таким образом, по результатам анализа кДНК у пробанда выявлена делеция 38 экзона гена *МУН7* в гетерозиготном состоянии; в контрольном образце кДНК делеция 38 экзона гена *МУН7* не обнаружена.

Таким образом, генетический вариант с.5655+5G>C приводит к потере донорного сайта сплайсинга. С учетом данных каскадного семейного скрининга и результатов анализа кДНК генетический вариант с.5655+5G>C был отнесен к V классу патогенности (патогенный).

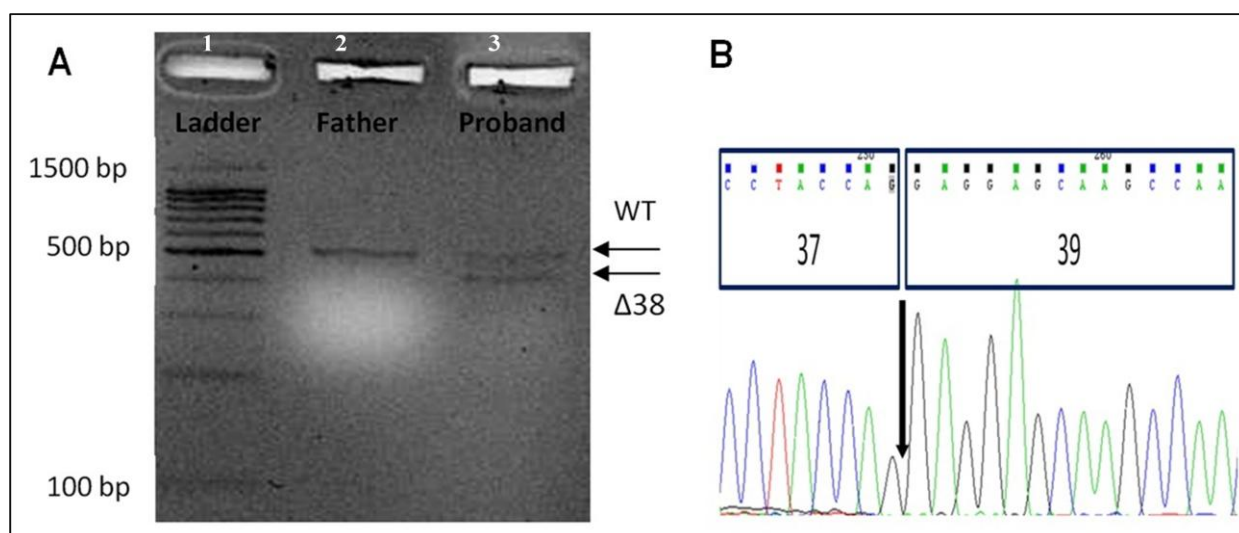


Рисунок 12. А - Электрофорез в агарозном 2% геле продуктов ОТ-ПЦР фрагментов гена *МУН7* пробанда (лунка 3) и его отца (лунка 2). В образце пробанда видны два фрагмента с разной электрофоретической подвижностью; лунка 1 – маркер длин фрагментов. В - фрагмент хроматограммы прямого секвенирования по Сенгеру кДНК пробанда (ген *МУН7*). Стрелкой показана граница между экзонами с утратой экзона 38.

### 3.3.3. Результаты молекулярно-генетического анализа гена *MYBPC3* у пациентов с синдромом некомпактного миокарда левого желудочка

Из числа выявленных в гене *MYBPC3* генетических вариантов 8 оказались патогенными или вариантами с неустановленным клиническим значением. Данные генетические варианты были выявлены в 10 неродственных семьях (таблица 14). Нумерация экзонов и аминокислот представлена в соответствии с транскриптом NM\_000256.3.

Все перечисленные генетические варианты были выявлены в гетерозиготном состоянии. Распределение генетических вариантов внутри гена представлено на рисунке 13. Генетические варианты, выявленные впервые, показаны красным цветом.

Таблица 15. Локализация в гене и наличие информации в базах данных для генетических вариантов, выявленных в гене *MYBPC3* у пациентов с СНМЛЖ

№	Нуклеотидная замена	Изменение белка	Экзон	Частота (б\д gnomAD)	Ссылки
1	c.557C>T	p.P186L	5	4,514e-5	rs727503216
2	c.1037G>A	p.R346H	12	н/д	rs397515883
3	c.1297G>A	p.A433T	14	н/д	новый
4	c.2162C>T	p.T721I	22	4.076e-6	rs1293844338
5	c.2217G>A	p.E739K	22	4.015e-6	CM084891 (Б/Д HGMD)
6	c.3143G>A	p.R1048H	28	2.482e-5	rs769018051
7	c.3642G>A	p.W1214*	32	н/д	rs368765949
8	c.3697C>T	p.Q1233*	32	8.024e-6	rs397516037

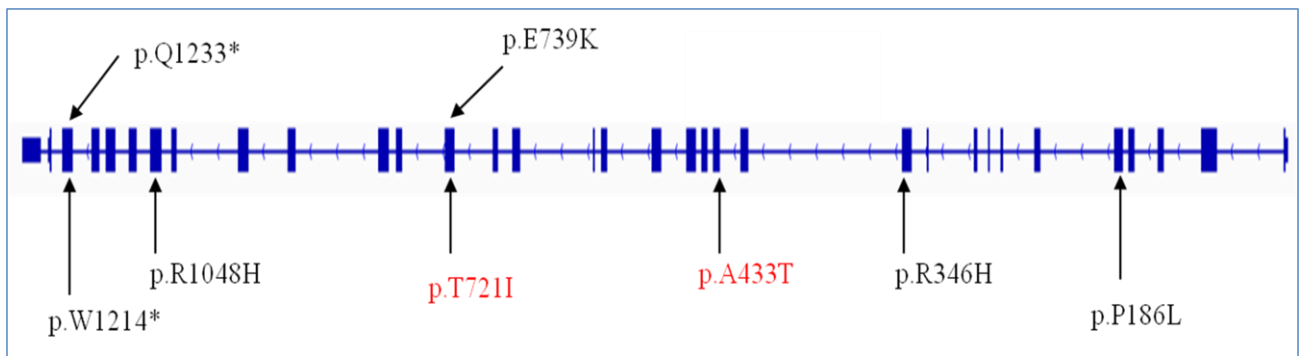


Рисунок 13. Распределение генетических вариантов в гене *MYBPC3*.

Из восьми перечисленных генетических вариантов два были выявлены впервые. Оценка частоты остальных генетических вариантов проводилась на основе данных базы GnomAD. Был выполнен анализ всех миссенс-замен с использованием ресурсов PolyPhen2, SIFT, MutationTaster. Также все миссенс-замены были проанализированы на предмет возможного влияния на сплайсинг с помощью ресурса NetGene2. С целью оценки возможного клинического значения все генетические варианты были охарактеризованы согласно рекомендациям ACMG (2015) [77] и Руководства по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования [73]. Результаты анализа представлены в таблице 16.

Из восьми обнаруженных генетических вариантов шесть были классифицированы как генетические варианты с неустановленным клиническим значением, 1 – как вероятно патогенный генетический вариант и 1 – как патогенный генетический вариант. Из восьми генетических вариантов два (25%) были обнаружены впервые.

Два генетических варианта были обнаружены более чем в одной семье. Миссенс-вариант p.R346H наблюдался в двух неродственных семьях, нонсенс-вариант p.Q1233\* обнаружен в 4 неродственных семьях. Во всех случаях наблюдалось совместное наследование нонсенс-варианта p.Q1233\* с генетическим вариантом p.R326Q.

Генетический вариант p.Q1233\*, приводящий к образованию преждевременного стоп-кодона в 32 экзоне гена *MYBPC3*, был неоднократно описан в литературе. Для него было показано преобладание в группе пациентов по сравнению со здоровыми контролями, а также сегрегация с заболеванием у >10 родственников пробанда, имеющих симптомы заболевания [89],[90],[91]. Однако, эти данные были получены в группах пациентов с гипертрофической кардиомиопатией. Несмотря на то, что роль генетического варианта p.Q1233\* в развитии ГКМП несомненна, его вклад в формирование некомпактного миокарда левого желудочка не установлен.

Таблица 16. Результат биоинформатического анализа и класс патогенности генетических вариантов, обнаруженных в гене *MYBPC3* у пациентов с СНМЛЖ

№	Генетический вариант	Cardio Classifier	InterVar	Класс патогенности
1	p.P186L	Неустановленное клиническое значение	Неустановленное клиническое значение	III
2	p.R346H	Неустановленное клиническое значение	Неустановленное клиническое значение	III
3	p.A433T	Неустановленное клиническое значение	Неустановленное клиническое значение	III
4	p.T721I	Неустановленное клиническое значение	Неустановленное клиническое значение	III
5	p.E739K	Неустановленное клиническое значение	Неустановленное клиническое значение	III
6	p.R1048H	Неустановленное клиническое значение	Неустановленное клиническое значение	III



Таблица 16. Результат биоинформатического анализа и класс патогенности генетических вариантов, обнаруженных в гене *MYBP3* у пациентов с СНМЛЖ (продолжение)

№	Генетический вариант	Cardio Classifier	InterVar	Класс патогенности
7	p.W1214*	Потенциально патогенный	Патогенный	IV
8	p.Q1233*	Потенциально патогенный	Патогенный	V

Из всех патогенных генетических вариантов, описанных в гене *MYBP3*, около 70% приводят к синтезу укороченной формы белка сMYBP-C, а именно – к синтезу белка с отсутствующим С-концом [92]. В большинстве случаев по этому механизму реализуют свое действие генетические варианты, вызывающие образование укороченной формы белка, т.е. нонсенс-генетические варианты, делеции/инсерции и генетические варианты, затрагивающие сайты сплайсинга. Поскольку С-конец белка сMYBP-C необходим для встраивания белка в саркомер, мутантный белок, как правило, не удастся обнаружить в тканях носителей патогенных генетических вариантов. Таким образом, кардиомиопатия у носителей патогенных генетических вариантов в большинстве случаев обусловлена гаплонедостаточностью. Несмотря на то, что исследований, подтверждающих патогенность генетического варианта p.W1214\*, не достаточно, нонсенс-варианты в гене *MYBP3* охарактеризованы достаточно хорошо и можно предположить, что эффект генетического варианта p.W1214\* будет реализован по механизму гаплонедостаточности. Согласно анализу с помощью ресурса Cardio Classifier, мРНК с аллелей, несущих нонсенс генетические варианты p.W1214\* и p.Q1233\*, попадают под действие нонсенс-опосредованного распада и будут уничтожены после выхода мРНК из ядра в цитозоль.

У двоих пробандов было обнаружено по 2 генетических варианта в гене *MYBPC3* – нонсенс-мутация в сочетании с вариантом с неустановленным клиническим значением. Сочетания генетических вариантов представлены в таблице 17.

Интересно отметить, что у пробанда LVNC16 гипертрофия миокарда не наблюдалась, заболевание развивалось по пути дилатации, в то время как у пробанда LVNC35, наряду с НМЛЖ, была диагностирована гипертрофическая асимметричная необструктивная кардиомиопатия.

Таблица 17. Сочетания генетических вариантов в гене *MYBPC3*, выявленные в группе пациентов с СНМЛЖ

№	Пробанд	Нонсенс-мутация	VUCS	Вариант ремоделирования миокарда
1	LVNC16	p.W1214*	p.P186L	НМЛЖ + дилатация
2	LVNC35	p.Q1233*	p.E739K	НМЛЖ + гипертрофия

### ***3.3.4. Результаты молекулярно-генетического анализа гена *ACTC1* у пациентов с синдромом некомпактного миокарда левого желудочка***

Из числа обнаруженных в гене *ACTC1* генетических вариантов один вариант, выявленный у одного из пробандов, был охарактеризован как возможно патогенный. Данные о его локализации и классе патогенности представлены в таблицах 18 и 19.

Генетический вариант p.L238P был отнесен к III классу патогенности – генетическим вариантам с неустановленным клиническим значением.

Мутации в гене *ACTC1*, согласно литературным данным, являются редкой причиной гипертрофической кардиомиопатии и дилатационной кардиомиопатий [93]. Однако, начиная с 2007 года [94],[95] появляются описания патогенных

генетических вариантов в гене *ACTC1* у пациентов с СНМЛЖ. Корреляций «фенотип-генотип», как и для других форм кардиомиопатий, нет, однако патогенные генетические варианты в гене *ACTC1* были описаны у пациентов с СНМЛЖ и апикальной формой ГКМП [96]. Морфология миокарда нашего пациента-носителя генетического варианта p.L238P соответствует литературному описанию, т.к. наряду с некомпактным миокардом ЛЖ, у него наблюдалась апикальная форма гипертрофии миокарда.

Таблица 18. Локализация в гене и наличие информации в базах данных для генетического варианта, выявленного в гене *ACTC1* у пробанда с СНМЛЖ

№	Нуклеотидная замена	Изменение белка	Экзон	Частота (б\д gnomAD)	Ссылки
1	c.713T>C	p.L238P	5	3.976e-6	Atlas of Cardiac Genetic Variation: <a href="https://www.cardiodb.org/acgv/acgv_variant.php?id=121182">https://www.cardiodb.org/acgv/acgv_variant.php?id=121182</a>

Таблица 19. Результат биоинформатического анализа и класс патогенности генетического варианта, обнаруженного в гене *ACTC1* у пробанда с СНМЛЖ

№	Генетический вариант	Cardio Classifier	InterVar	Класс патогенности
1	p.L238P	Неустановленное клиническое значение	Неустановленное клиническое значение	III

### 3.3.5. Результаты молекулярно-генетического анализа гена *DTNA* у пациентов с синдромом некомпактного миокарда левого желудочка

Из числа выявленных в гене *DTNA* генетических вариантов один вариант, обнаруженный у одного пробанда, был охарактеризован как возможно патогенный. Данные о его локализации, результаты биоинформатического анализа и класс патогенности представлены в таблицах 20 и 21.

Таблица 20. Локализация в гене и наличие информации в базах данных для генетического варианта, выявленного в гене *DTNA* у пациентов с СНМЛЖ

№	Нуклеотидная замена	Изменение белка	Экзон	Частота (б\д gnomAD)	Ссылки
1	c.316C>G	p.Q106E	5	2.051e-4	dbSNP rs140768365

Анализ генетического варианта p.Q106E с помощью Cardio Classifier не проводился, т.к. анализ вариантов в гене *DTNA* в настоящее время не предусмотрен ресурсом. Результаты биоинформатического анализа и класс патогенности генетического варианта p.Q106E представлены в таблице 21.

Таблица 21. Результат биоинформатического анализа и класс патогенности генетического варианта, обнаруженного в гене *DTNA* у пробанда с СНМЛЖ

№	Генетический вариант	Cardio Classifier	InterVar	Класс патогенности
1	p.Q106E	Н/Д	Неустановленное клиническое значение	III

Впервые мутация в гене *DTNA* у пациентов с СНМЛЖ была описана в 2001 году – миссенс-вариант p.P121L сегрегировал с заболеванием в японской семье

[97] и отсутствовал в образцах ДНК контрольной группы. Позже было показано [98], что у мышей-носителей генетического варианта p.N49S в гене *DTNA* развиваются глубокие трабекулы миокарда, дилатация камер сердца и сердечная недостаточность, т.е. в целом фенотип напоминает таковой при СНМЛЖ.

Генетический вариант p.Q106E был обнаружен у пациента с НМЛЖ, дилатацией камер сердца и желудочковыми нарушениями ритма сердца. Образцы ДНК членов семьи пациента были недоступны для анализа, поэтому, в отсутствие данных о сегрегации генетического варианта в семье и о его возможном функциональном значении, генетический вариант p.Q106E можно охарактеризовать как вариант с неустановленным клиническим значением (III класс патогенности).

### ***3.3.6. Молекулярно-генетический анализ гена *LDB3* у пациентов с синдромом некомпактного миокарда левого желудочка***

У пробанда LVNC55 в 4 экзоне гена *LDB3* был обнаружен генетический вариант c.407\_408insAGGCACCCC (p.Ser129\_Pro130 insProGlyThr) – инсерция 9 нуклеотидов, не приводящая к сдвигу рамки считывания. Согласно базе данных ExAC, частота аллеля c.407\_408insAGGCACCCC составляет 0,0002231 (0,02%), описание клинической информации носителей отсутствует.

Оценка потенциальной патогенности данного генетического варианта проводилась с помощью ресурсов PROVEAN и Mutation Taster. Анализ с помощью Cardio Classifier не проводился, т.к. анализ вариантов в гене *LDB3* в настоящее время не предусмотрен ресурсом. Ресурс PROVEAN характеризует генетический вариант p.Ser129\_Pro130insProGlyThr как потенциально повреждающий, ресурс Mutation Taster – как не имеющий клинического значения полиморфизм. Возможного влияния генетического варианта p.Ser129\_Pro130insProGlyThr (анализ с помощью ресурсов NetGene2, Mutation Taster) на сплайсинг выявлено не было.

Обращает на себя внимание тот факт, что в нормальной последовательности белка в области 130-132 аминокислот расположена последовательность «пролин-глицин-треонин», т.е. генетический вариант p.Ser129\_Pro130insProGlyThr представляет собой не столько инсерцию, сколько дубликацию фрагмента ProGlyThr.

Генетический вариант с.407\_408insAGGCACCCC (p.Ser129\_Pro130insProGlyThr) расположен вне функциональных доменов белка LDB3. Взаимное расположение функциональных доменов белка LDB3 и аминокислотной последовательности с инсерцией ProGlyThr показано на рис.15. Нумерация аминокислот соответствует транскрипту NM\_007078.

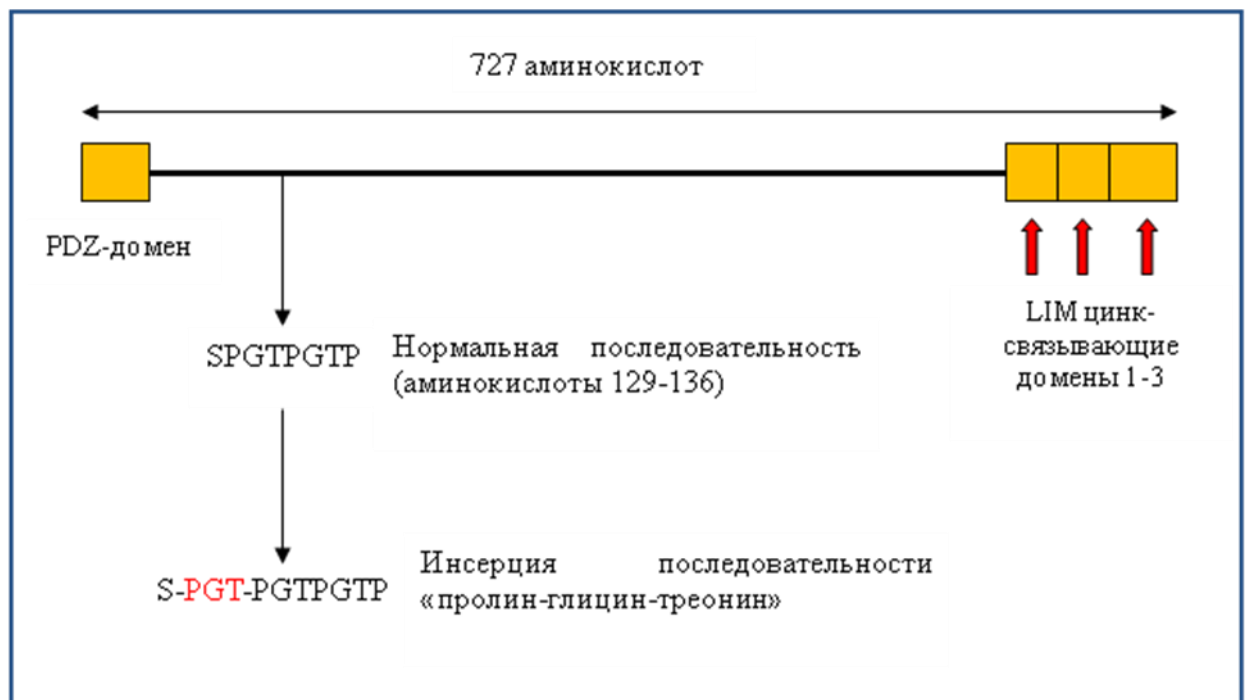


Рисунок 14. Взаимное расположение функциональных доменов белка LDB3 и аминокислотной последовательности с инсерцией ProGlyThr.

Расположение инсерции, не приводящей к сдвигу рамки считывания, вне функциональных доменов, отсутствие достаточных данных в пользу влияния на сплайсинг и/или структуру и функцию белка позволяет отнести генетический вариант с.407\_408insAGGCACCCC (p.Ser129\_Pro130insProGlyThr) ко II классу

патогенности (likely benign). Результаты оценки патогенности генетического варианта c.407\_408insAGGCACCCC представлены в таблице 22.

Генетический вариант c.407\_408insAGGCACCCC оказался единственным из обнаруженных нами потенциально патогенных генетических вариантов, для которого в ходе оценки патогенности произошло понижение класса патогенности с III (вариант с неустановленным клиническим значением) до II (вероятно доброкачественный).

Таблица 22. Результат биоинформатического анализа и класс патогенности генетического варианта c.407\_408insAGGCACCCC, обнаруженного в гене *LDB3* у пробанда с СНМЛЖ

№	Генетический вариант	PROVEAN	Mutation Taster	Класс патогенности
1	c.407_408insAGGCACCCC (p.Ser129_Pro130insProGlyThr)	Потенциально патогенный	Полиморфизм	III → II (likely benign)

В базе данных GnomAD имеется описание генетического варианта p.Gly134\_Pro136dup с частотой в популяции  $1,661e-4$  (0,016%). Учитывая наличие повторов «пролин-глицин-треонин» в аминокислотной последовательности, мы считаем, что может иметь место два опиания одного и того же варианта.

### ***3.3.7. Молекулярно-генетический анализ гена LMNA у пациентов с синдромом некомпактного миокарда левого желудочка***

У пробанда DCM125 III-2 с НМЛЖ, сопровождавшийся дилатацией всех камер сердца и умеренной гипертрофией ЛЖ, постоянной формой фибрилляции предсердий и полиморфной желудочковой тахикардией был обнаружен

генетический вариант с.3G>A в гетерозиготном состоянии, приводящий к замене метиона на изолейцин в положении старт-кодона.

Мутации в гене *LMNA* описаны при дилатационной кардиомиопатии [99], часто сопровождающейся нарушениями ритма и проводимости. Генетический вариант p.M1I был классифицирован как патогенный (V класс патогенности). Результаты анализа клинического значения генетического варианта p.M1I представлены в таблице 23.

Ранее была описана замена с.3G>T, классифицированная как патогенная/вероятно патогенная (идентификатор базы данных dbSNP - rs794728598).

Таблица 23. Результат биоинформатического анализа, ссылка на базу данных и класс патогенности генетического варианта p.M1I, обнаруженного в гене *LMNA* у пробанда с СНМЛЖ

№	Генетический вариант	Результат биоинформатического анализа	Ссылка на базу данных	Класс патогенности
1	с.3G>A (p.M1I)	Потенциально патогенный	н/д	V

Мы провели каскадный семейный скрининг семьи DCM125. Генетический вариант p.M1I был обнаружен у среднего сына пробанда (3,5 года), семья информирована о необходимости динамического наблюдения. Родословная семьи DCM125 представлена на рис.15.



### 3.3.8. Результаты молекулярно-генетического анализа гена *DES* у пациентов с синдромом некомпактного миокарда левого желудочка

У троих пробандов в гене *DES* были обнаружены потенциально патогенные генетические варианты. Данные об их локализации, результаты биоинформатического анализа и класс патогенности представлены в таблицах 24 и 25.

Анализ генетических вариантов в гене *DES* с помощью Cardio Classifier не проводился, т.к. анализ вариантов в гене *DES* в настоящее время не предусмотрен ресурсом.

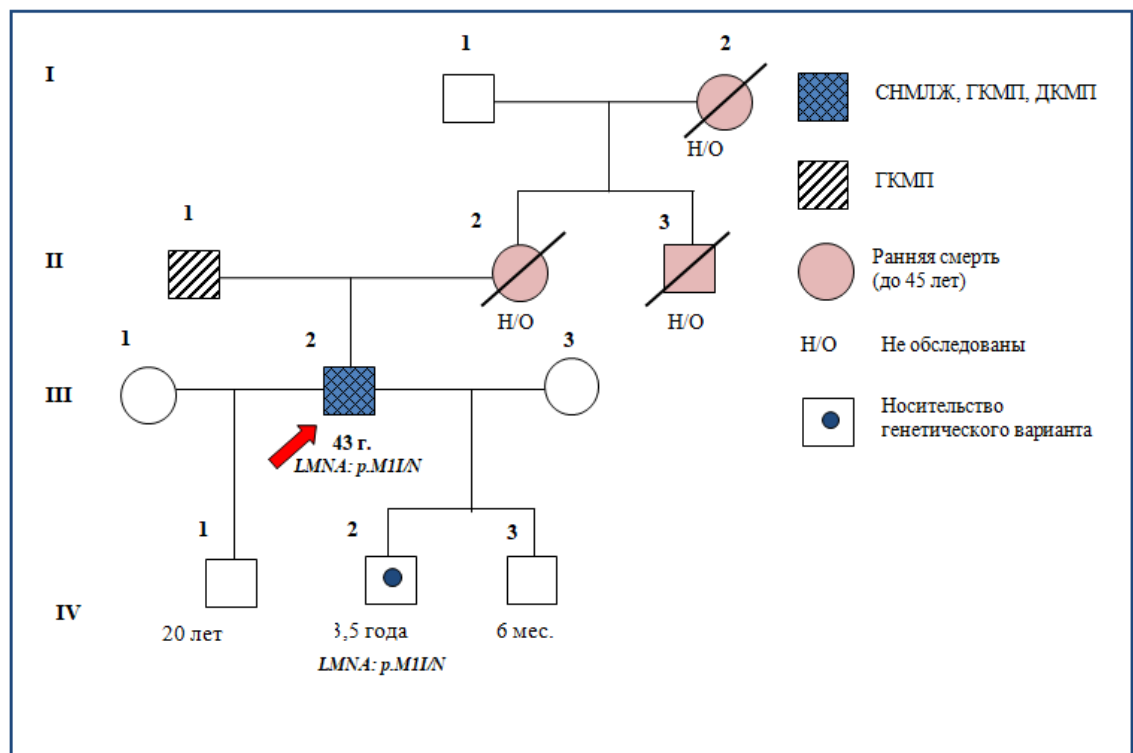


Рисунок 15. Родословная семьи DCM125. Пробанд DCM125 III-2 отмечен красной стрелкой.

Генетический вариант c.336\_344del (p.Gln113\_Leu115del) был обнаружен у пациента с миопатией. Учитывая результаты биоинформатического анализа,

сегрегацию генетического варианта p.Gln113\_Leu115del с миопатией, отсутствие сведений о данном генетическом варианте в базах данных, мы считаем возможным охарактеризовать делецию p.Gln113\_Leu115del как вероятно патогенную (likely pathogenic, IV класс патогенности).

Генетический вариант p.R212Q был обнаружен у пациента с неонатальной формой кардиомиопатии. Наряду с некомпактным миокардом, у пациента наблюдалась дилатационная кардиомиопатия и множественные дефекты межжелудочковой перегородки. Согласно базе данных ExAC, частота аллеля p.R212Q составляет 0,0002 (0,02%), что сопоставимо с частотами ГКМП [85] и ДКМП [86].

Таблица 24. Локализация в гене и наличие информации в базах данных для генетического варианта, выявленного в гене *DES* у пациентов с СНМЛЖ.

№	Нуклеотидная замена	Изменение белка	Экзон	Частота (б\д gnomAD)	Ссылки
1	c.336_344del	p.Gln113_Leu115del	1	н/д	[100]
2	c.635G>A	p.R212Q	2	2.192e-4	rs144261171
3	c.1009G>C	p.A337P	5	н/д	rs59962885

В базе данных HGMD указано, что генетическому варианту p.R212Q соответствует фенотип некомпактного миокарда ЛЖ, однако патогенность данного генетического варианта не установлена (обозначение базы данных HGMD – «disease causing mutation?»). В отсутствие данных каскадного семейного скрининга и данных функциональных исследований генетический вариант p.R212Q может быть охарактеризован как вариант с неустановленным клиническим значением (III класс патогенности).

Таблица 25. Результат биоинформатического анализа и класс патогенности генетических вариантов, обнаруженных в гене *DES* у пробандов с СНМЛЖ

№	Генетический вариант	Cardio Classifier	InterVar	Класс патогенности
1	p.Gln113_Leu115del	Н/Д	Н/Д	IV
2	p.R212Q	Н/Д	Неустановленное клиническое значение	III
3	p.A337P	Н/Д	Неустановленное клиническое значение/вероятно патогенная (автоматический анализ/результат с учетом данных сегрегационного анализа)	III→IV

Генетический вариант p.A337P был обнаружен у пациентки LVNC49 37 лет с сочетанием симптомов поражения сердца и миопатии. У пациентки наблюдался НМЛЖ, дилатация полости ЛЖ и выраженная слабость в мышцах ног. Генетический вариант p.A337P был ранее описан как патогенный, приводящий к развитию миофибриллярной миопатии с вовлечением сердца [101]. Был проведен каскадный семейный скрининг – поиск генетического варианта p.A337P в образцах ДНК двух сыновей пробанда LVNC49 17 и 11 лет. Родословная семьи LVNC49 и результаты каскадного семейного скрининга показаны на рисунке 16.

В статье L. G. Goldfarb et al. [92] генетический вариант p.A337P также описан как сегрегирующий с миопатией. С учетом данных биоинформатического анализа и сегрегации генетического варианта с миопатией в двух неродственных семьях считаем возможным охарактеризовать его как вероятно патогенный (likely

pathogenic, IV класс патогенности). Роль генетического варианта р.А337Р в патогенезе некомпактного миокарда ЛЖ, тем не менее, не установлена.

У старшего сына пробанда (LVNC49 II-1) на момент выполнения исследования наблюдались признаки миопатии – слабость в мышках ног. По результатам семейного исследования у сына пробанда LVNC49 II-1 был обнаружен генетический вариант р.А337Р в гетерозиготном состоянии. Таким образом, генетический вариант р.А337Р сегрегирует с миопатией в семье LVNC49. На момент выполнения исследования эхокардиографические параметры у сына пробанда LVNC49 II-1 были в пределах нормальных значений.

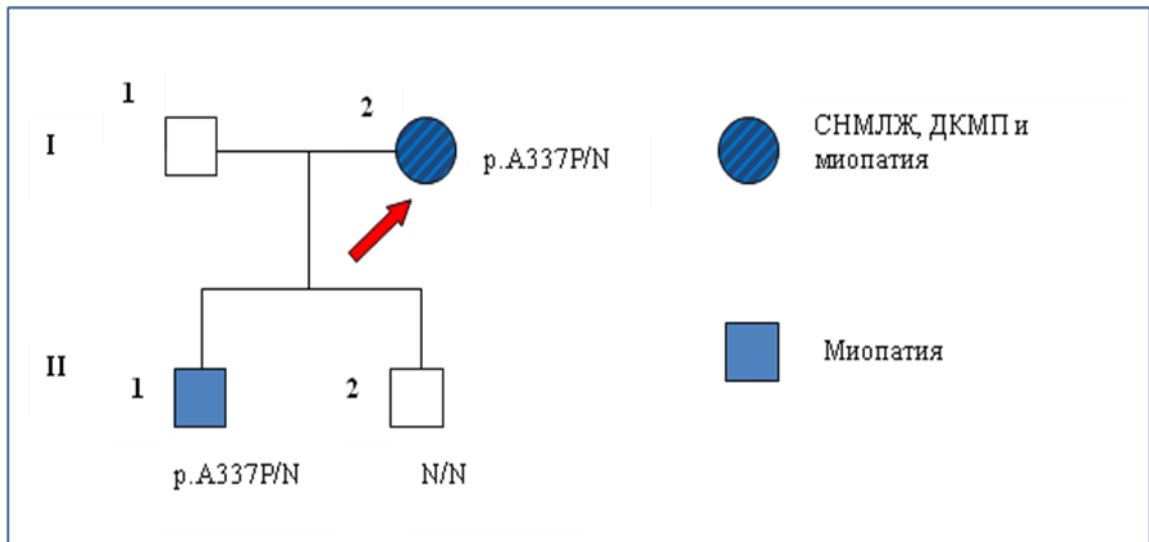


Рисунок 16. Родословная семьи LVNC49. Римскими цифрами обозначены номера поколения, арабскими – порядковый номер человека в поколении, пробанд указан стрелкой; отец LVNC49 I-1 не обследован.

Обращает на себя внимание тот факт, что два генетических варианта из трех были обнаружены у пациентов с миопатией. Сочетание миопатии и некомпактного миокарда ЛЖ может являться показанием для проведения поиска генетических вариантов в гене *DES*.

### ***3.3.9. Результаты молекулярно-генетического анализа генов *TNNT2*, *TPM1*, *TAZ*, *MYL3*, *MYL2*, у пациентов с синдромом некомпактного миокарда левого желудочка***

У пробанда DCM108 I-1 в гене *TNNT2* был обнаружен генетический вариант p.R173Q (rs397516471) в гетерозиготном состоянии. Данный генетический вариант был неоднократно описан как патогенный или вероятно патогенный [102],[103]. Более подробно родословная семьи DCM108 будет рассмотрена в следующем разделе.

В генах *TPM1*, *TAZ*, *MYL3*, *MYL2*, патогенных или потенциально патогенных генетических вариантов обнаружено не было.

Несколько неожиданным оказалось отсутствие потенциально патогенных генетических вариантов в гене *TAZ* в нашей группе пациентов. Возможно, это связано с редкостью (1:200000 – 1:400000 новорожденных по разным оценкам) синдрома Барта, а также с тем, что тяжелые клинические проявления развиваются уже в раннем детстве. Наша выборка пациентов состояла преимущественно из взрослых пациентов.

### ***3.3.10. Результаты молекулярно-генетического анализа генов, не вошедших в основную исследовательскую панель***

Пациентам с подозрением на синдромальную патологию, помимо основной исследовательской панели генов, был выполнен таргетный поиск мутаций в соответствующих генах или секвенирование экзона.

У пациента LVNC32 был диагностирован синдром Альпорта, X-сцепленная доминантная форма. Был проведен поиск мутаций в гене *COL4A5*, выявлена описанная ранее мутация c.1032+3\_1032+6delAAGT в гемизиготном состоянии.

В семье DCM108 с анамнезом, отягощенным по повторным детским смертям, было проведено секвенирование экзона для обоих родителей и четверых детей, двое из которых умерли в первый месяц жизни. Родословная семьи DCM108 представлена на рисунке 17.

У отца пробанда DCM108 I-1 в возрасте 24 лет была диагностирована дилатационная кардиомиопатия, отмечено снижение ФВ до 39-45%. На фоне проводимой терапии ФВ колеблется в пределах 38-41% в течение 13 лет. У старшего ребенка (DCM108 II-1) была диагностирована повышенная трабекулярность ЛЖ, не соответствующая диагностическим критериям для СНМЛЖ. У двоих детей (DCM108 II-2, DCM108 II-3) пренатально/перинатально была диагностирована ДКМП и нарушения ритма сердца. У пробанда DCM108 II-4 кардиомегалия была диагностирована пренатально - в 36 недель беременности, при рождении был выставлен диагноз «ДКМП, признаки некомпактного миокарда».

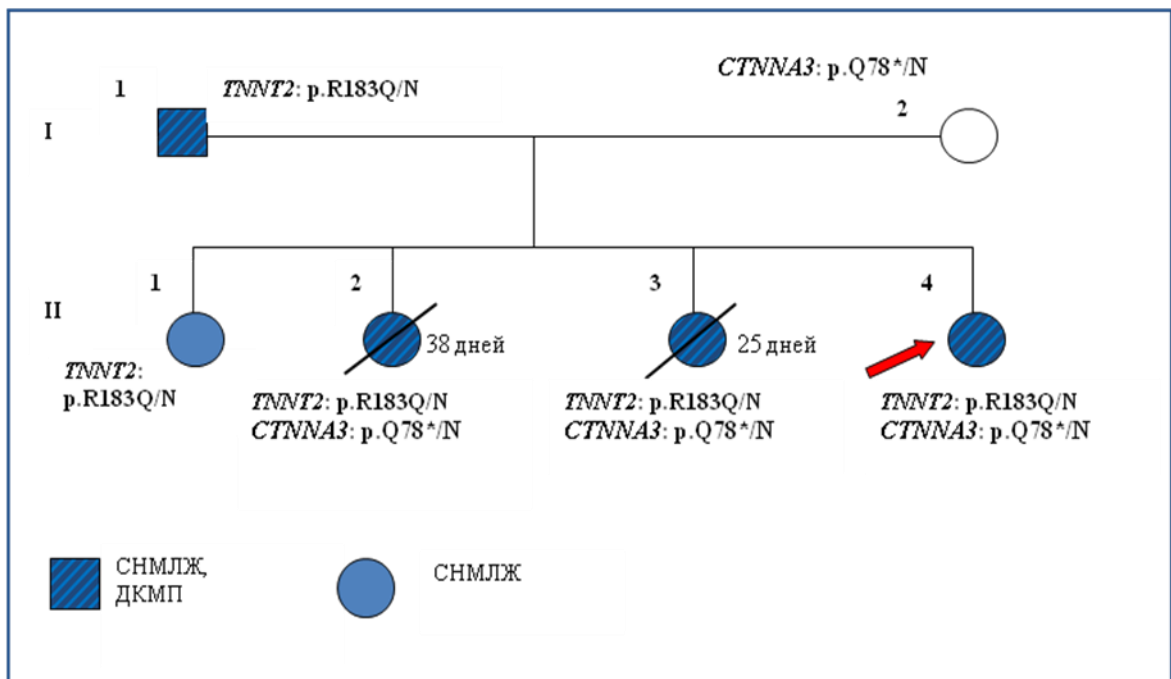


Рисунок 17. Родословная семьи DCM108. Римскими цифрами обозначены номера поколения, арабскими – порядковый номер человека в поколении, пробанд указан красной стрелкой.

По результатам секвенирования экзона в образце ДНК матери пробанда (DCM108 I-2) в гене *CTNNA3* был обнаружен генетический вариант нонсенс-вариант p.Q78\* в гетерозиготном состоянии. Данный генетический вариант

отсутствовал в образцах ДНК отца пробанда (DCM108 I-1) и старшей сестры (DCM108 II-1) и присутствовал в образцах ДНК других сестер пробанда. Таким образом, совместное наследование генетических вариантов p.R183Q в гене *TNNT2* и p.Q78\* в гене *CTNNA3* сегрегирует с тяжелой формой дилатационной кардиомиопатии и СНМЛЖ в семье DCM108.

Частота генетического варианта, согласно базе данных GnomAD, составляет  $4,243e-5$  (0,0042%). Генетический вариант p.Q78\* в гене *CTNNA3* ранее был описан (rs201306690) как вариант с неустановленным клиническим значением у пациента с семейной формой гипертрофической кардиомиопатии. Кроме того, ген *CTNNA3* был описан как ген-кандидат для развития аритмогенной дисплазии правого желудочка (OMIM 615616). Несмотря на то, что роль патогенных генетических вариантов в гене *CTNNA3* в развитии НМЛЖ и/или дилатационной не установлена, мы, на основании сегрегации генетического варианта p.Q78\* с заболеванием, считаем генетический вариант p.Q78\* вероятно патогенным (IV класс патогенности).

### ***3.3.11. Сочетания генетических вариантов в одном или нескольких генах у пациентов с некомпактным миокардом левого желудочка в нашей группе пациентов***

У 6 (8,9%) пробандов были обнаружены сочетания генетических вариантов в одном или нескольких генах, данные представлены в таблице 26.

Обращает на себя внимание тот факт, что пациентов с двумя патогенными генетическими вариантами или с гомозиготными патогенными генетическими вариантами в гене *MYH7* в нашей выборке обнаружено не было. Описания носительства компаунд-гетерозиготных или гомозиготных мутаций в гене *MYH7* крайне малочисленны [104], [105]. В исследовании на животных моделях было показано, что у мышей-носителей гомозиготной мутации p.R403Q, несмотря на нормальные показатели сердечной деятельности при рождении, развивается фульминантная ДКМП, приводящая к гибели в течение первой недели жизни

[106]. Исходя из имеющихся литературных данных можно предположить, что носители компаунд-гетерозиготных или гомозиготных мутаций в гене *MYH7* имеют крайне негативный прогноз заболевания и низкую выживаемость, в связи с чем подобные пациенты оказались не представлены в нашей выборке, состоящей преимущественно из взрослых пациентов.

У большинства пробандов (5 из 6) наблюдалось сочетание генетических вариантов в гене *MYBPC3* и в других генах. У пяти из шести пробандов наблюдалось сочетание генетического варианта IV-V классов патогенности и генетического варианта с неустановленным клиническим значением.

Сочетание двух патогенных/вероятно патогенных генетических вариантов было обнаружено только в одной семье – в семье DCM108. Именно в семье DCM108 наблюдалась экстремально ранняя манифестация заболевания – у одной сестры некомпактный миокард в сочетании с дилатационной кардиомиопатией был диагностирован перинатально, у двух других – пренатально. Ранняя манифестация и тяжелое течение заболевания сегрегировали с наследованием обоих генетических вариантов. Это позволяет ожидать более агрессивное течение заболевания у носителей сочетания потенциально патогенных генетических вариантов. Также для пациентов раннего возраста целесообразно проводить как можно более широкую ДНК-диагностику (секвенирование экзома), чтобы увеличить вероятность обнаружения сочетания потенциально патогенных генетических вариантов.

Средний возраст манифестации заболевания у носителей двух генетических вариантов был ниже, чем у носителей одного генетического варианта IV-V классов патогенности, однако эта разница статистически незначима ( $p=0,7$ ). Этот результат нуждается в проверке на больших группах пациентов. Однако этот результат не позволяет говорить о том, что наличие, наряду с генетическим вариантом IV-V классов патогенности, варианта с неустановленным клиническим



значением в генах саркомерных белков предрасполагает к более ранней манифестации НМЛЖ.

Таблица 26. Сочетания генетических вариантов у пробандов, вариант ремоделирования миокарда и возраст манифестации НМЛЖ

№	Пробанд	Генетические варианты		Дополнительное ремоделирования миокарда	Возраст манифестации, лет
1	LVNC16	MYBPC3: p.P186L	MYBPC3: p.W1214*	дилатация	25
2	LVNC30	MYH7: p.R237W	MYBPC3: p.Q1233*	аритмогенная дисплазия	47
3	LVNC35	MYBPC3: p.E739K	MYBPC3: p.Q1233*	гипертрофия	10
4	LVNC25	MYH7: p.P151L	MYBPC3: p.A433T	Изолированный НМЛЖ	20
5	LVNC12	MYH7: p.G181R	MYBPC3: p.R346H	дилатация	15
6	DCM108 II-4	TNNT2: p.R183Q	CTNNA3: p.Q78*	дилатация	0
Средний возраст манифестации заболевания, лет					19,5

### ***3.3.12. Вопросы интерпретации генетических вариантов у пациентов с некомпактным миокардом левого желудочка в нашей группе пациентов***

Интерпретацию генетических вариантов, обнаруженных у пациентов с НМЛЖ, проводили на основании критериев Руководства по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования (2017) [73], и на основании критериев [77]. Также для интерпретации мы использовали два биоинформатических ресурса – Cardio Classifier и InterVar, каждый из

которых позволяет учитывать как наличие данных функциональных исследований (автоматический поиск), так и клинические данные для каждого отдельного пациента (ручной ввод).

Обращали на себя внимание расхождения в интерпретации генетических вариантов в гене *MYH7*: в 10 случаях ресурсом InterVar генетическому варианту присваивался более высокий класс патогенности, чем ресурсом Cardio Classifier. Результаты самостоятельной интерпретации соответствовали результатам, полученным с помощью Cardio Classifier. Складывается впечатление, что интерпретация с помощью ресурса Cardio Classifier выполняется аккуратнее, а в ходе анализа с помощью ресурса InterVar может иметь место большое число ложноположительных результатов. Тем не менее, необходимо отметить, что ресурс InterVar свободен от существенного ограничения ресурса Cardio Classifier. Возможность анализа с помощью ресурса Cardio Classifier ограничена относительно небольшим числом генов, в то время как анализ с помощью ресурса InterVar может быть выполнен для генетического варианта в любом гене. В то же время, у ресурса InterVar есть ограничение по типу генетических вариантов, от которого, в свою очередь, свободен Cardio Classifier. Ресурс Cardio Classifier позволяет анализировать не только точковые замены, но и делеции/инсерции.

На наш взгляд, с помощью ресурса InterVar можно проводить первичный анализ выявленных генетических вариантов, но результат интерпретации требует перепроверки с помощью ресурса Cardio Classifier и/или самостоятельной интерпретации согласно критериям патогенности.

### ***3.3.13. Эффективность ДНК-диагностики некомпактного миокарда левого желудочка в нашей группе пациентов***

При использовании комбинации молекулярно-генетического исследования генов панели «СНМЛЖ и другие кардиомиопатии», таргетного секвенирования отдельных генов (по показаниям по результатам медико-генетического консультирования) и секвенирования экзома (синдромальным пациентам и

семьям с отягощенным по повторным детским смертям анамнезом) генетические варианты, относящиеся к IV-V классам патогенности (вероятно патогенные и патогенные), были обнаружены в 15 семьях из 67 обследованных. Эффективность ДНК-диагностики составила 22,4%.

Эффективность ДНК-диагностики в нашем исследовании (22,4%) оказалась сопоставима с опубликованной ранее (17%–41%, [36]). Однако необходимо учитывать, что предыдущая оценка эффективности ДНК-диагностики кардиомиопатий проводилась до введения в практику критериев интерпретации генетических вариантов (критерии ACMG, 2015 год). Авторами критериев предъявляются довольно высокие требования к интерпретации генетических вариантов, и ведущая роль отводится не анализу с помощью ресурсов-предикторов, а функциональному анализу и оценке сегрегации генетических вариантов с заболеванием. Следовательно, предыдущая оценка эффективности ДНК-диагностики НМЛЖ могла быть завышена из-за некоторого количества ложноположительных результатов. Так, эффективность обнаружения генетических вариантов, охарактеризованных по результатам биоинформатического анализа как патогенные с высокой вероятностью, в нашей выборке пациентов составила 47%.

Выводы по разделу:

- секвенирование панели генов «Синдром некомпактного миокарда ЛЖ» было выполнено для 67 пробандов;
- Было выявлено 33 генетических варианта, относящихся к III-V классам патогенности согласно классификации ACMG; большая часть генетических вариантов (60,6%) относилась к III классу патогенности (генетические варианты с неустановленным клиническим значением), 18,2% обнаруженных генетических вариантов – к IV классу (вероятно патогенный генетический вариант), 21,2% – к V классу (патогенный генетический вариант).

- Большая часть генетических вариантов располагалась в генах *MYH7* и *MYBPC3* (15 и 8, соответственно).
- У 6 (8,9%) пробандов было обнаружено по 2 генетических варианта.
- Эффективность ДНК-диагностики с использованием панели «СНМЛЖ и другие кардиомиопатии», таргетного секвенирования отдельных генов (по показаниям по результатам медико-генетического консультирования) и секвенирования экзона составила 22,4%, генетические варианты III-V классов патогенности были выявлены в 47% случаев.

### **3.4. Клинико-генеалогический анализ синдрома некомпактного миокарда левого желудочка**

Нами было проанализирован семейный анамнез в группе пациентов с НМЛЖ. Данные семейного анамнеза были доступны в 44 семьях (~67% случаев). В оставшихся 30% семей пробанды не располагали информацией о состоянии здоровья родственников, наличии у них кардиомиопатии и в целом сердечно-сосудистых заболеваний.

Диагноз «СНМЛЖ» вошел в клиническую практику относительно недавно. Зачастую семейный анамнез оказывается отягощенным по сердечно-сосудистым событиям в целом, имеются указания на инфаркт миокарда, инсульт, нарушения ритма сердца. Однако, не имея данных инструментального обследования, нельзя провести дифференциальную диагностику между осложнением кардиомиопатии и независимым сердечно-сосудистым событием. Таким образом, в части случаев отрицательный семейный анамнез может быть обусловлен клиническими масками СНМЛЖ.

Среди 44 пациентов, данные семейного анамнеза которых были доступны, мы проанализировали отягощенность по НМЛЖ и по любой другой ишемической кардиомиопатии (рисунок 18).

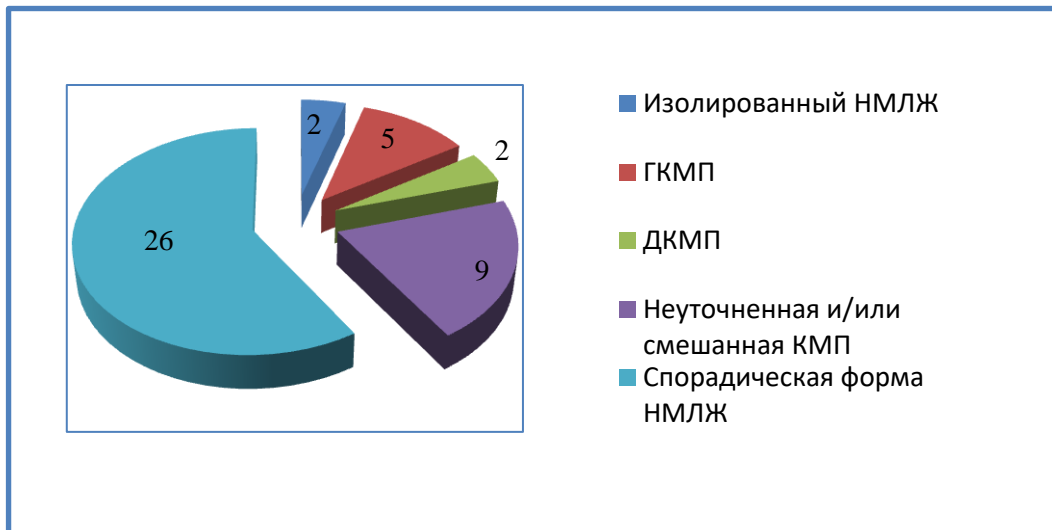


Рисунок 18. Варианты ремоделирования в семьях больных с НМЛЖ (по данным анамнеза).

В одной семье был выявлен достоверный семейный случай некомпактного миокарда ЛЖ в сочетании с нарушениями ритма сердца, родословная семьи LVNC61 представлена на рисунке 19.

В семье LVNC61 наблюдалось аутосомно-доминантное наследование НМЛЖ. Некомпактный миокард ЛЖ был диагностирован у пробанда LVNC61 I-2 в возрасте 53 лет, в возрасте 58 лет по поводу частой ЖЭС и неустойчивой ЖТ ей был имплантирован двухкамерный частотно-адаптивный кардиовертер-дефибриллятор. Также у пациентки были диагностированы нарушения проводимости: блокада ПНПГ, передней ветви ЛНПГ, АВ блокада 1 степени, переходящая 2 степени. Семейный анамнез пробанда отягощен по некомпактному миокарду ЛЖ и нарушениям ритма сердца – у сына пробанда (LVNC61 II-1) некомпактный миокард ЛЖ диагностирован в возрасте 33 лет, имплантирован ЭКС по поводу АВ-блокады. Брат пробанда LVNC61 I-3 умер в возрасте 49 лет, причина смерти неизвестна.

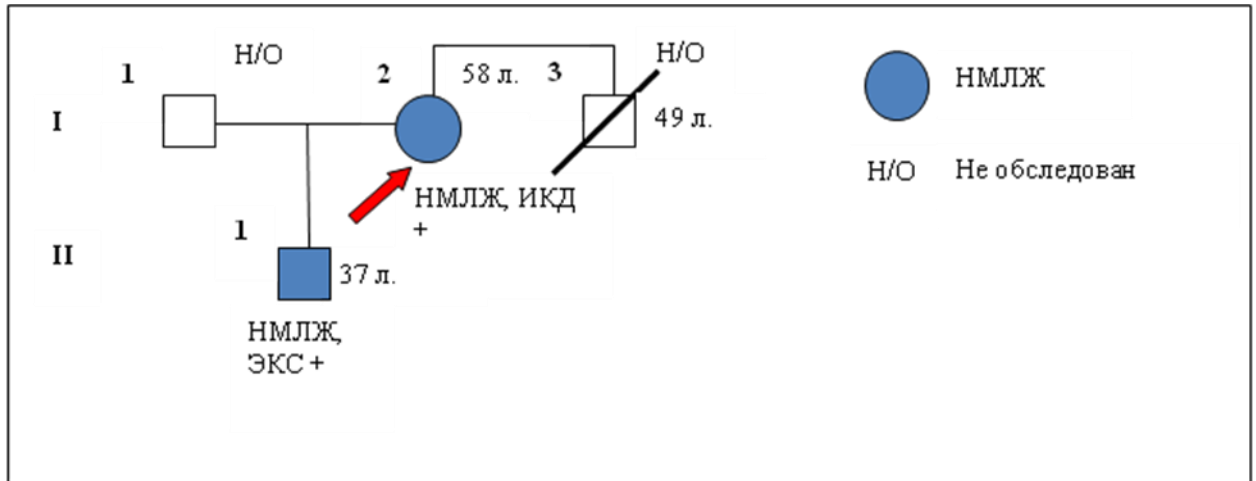


Рисунок 19. Родословная семьи LVNC61. Римскими цифрами обозначены номера поколения, арабскими – порядковый номер человека в поколении, пробанд (LVNC61 I-2) указан стрелкой; брат (LVNC61 I-3) и супруг (LVNC61 I-1) пробанда не обследованы.

Данная родословная иллюстрирует аутосомно-доминантное наследование НМЛЖ. В генах исследовательской панели у пробанда LVNC61 I-2 патогенных/потенциально патогенных генетических вариантов обнаружено не было.

В 5 семьях у пробандов было выявлено сочетание НМЛЖ с гипертрофической кардиомиопатией. В семейном анамнезе наблюдалась как отягощенность только по ГКМП, так и сочетанное проявление признаков у родственников. На рисунке 20 показана родословная семьи HCM102 с НМЛЖ у пробанда и отягощенным по ГКМП семейным анамнезом.

В семье HCM102 наблюдалось аутосомно-доминантное наследование ГКМП, характерное для большинства генетических форм; НМЛЖ в данной семье наблюдался только у пробанда HCM102 II-2. В генах исследовательской панели у пробанда HCM102 II-2 патогенных/потенциально патогенных генетических вариантов обнаружено не было.

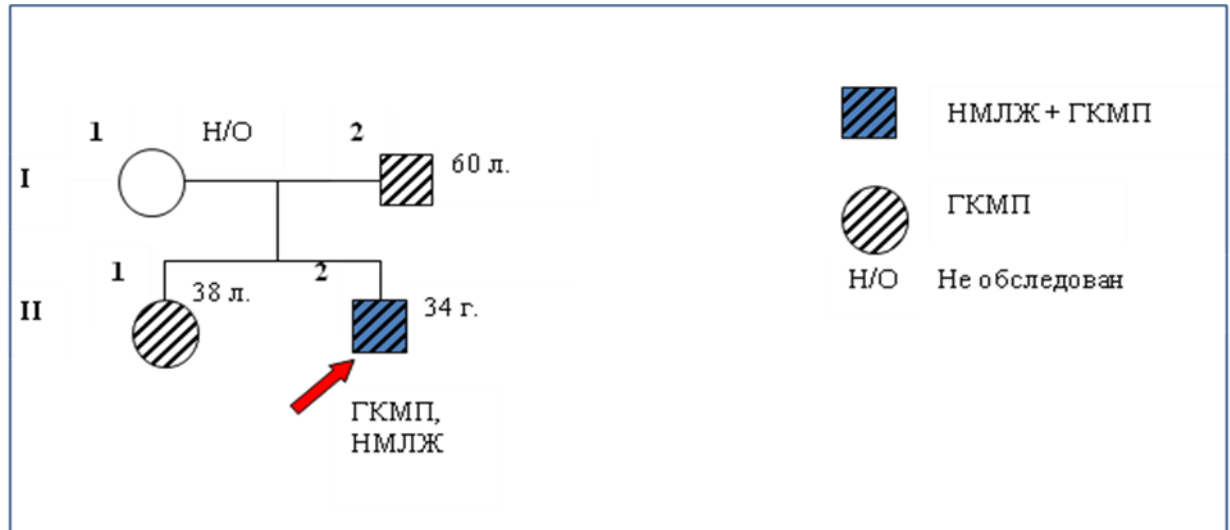


Рисунок 20. Родословная семьи HSM102. Римскими цифрами обозначены номера поколения, арабскими – порядковый номер человека в поколении, пробанд (HSM102 II-2) указан стрелкой.

В семье HSM75 наблюдалось наследование НМЛЖ совместно с гипертрофической кардиомиопатией (рисунок 21).

У пробанда был диагностирован НМЛЖ и гипертрофическая кардиомиопатия. Семейный анамнез пробанда HSM75 II-1 отягощен по кардиомиопатиям – у отца HSM75 I-2 в возрасте 36 лет была диагностирована НМЛЖ в сочетании с ГКМП, выполнена ортотопическая трансплантация сердца. Брат пробанда HSM75 II-2 умер внезапно в возрасте 16 лет после физической нагрузки, *post mortem* была диагностирована гипертрофическая кардиомиопатия. В данной семье наблюдается аутомно-доминантное наследование ГКМП в сочетании с НМЛЖ.

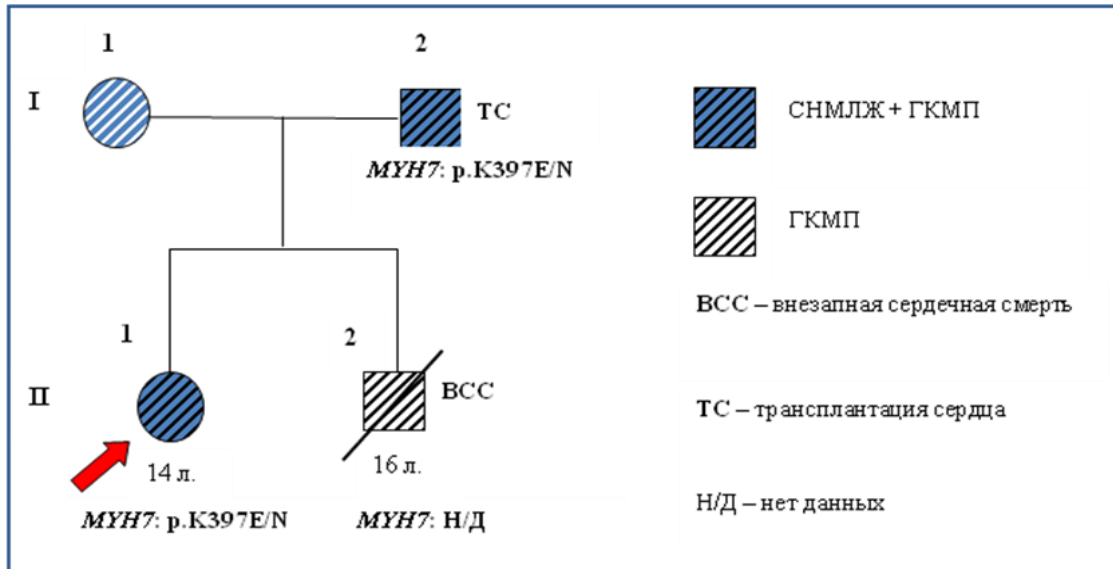


Рисунок 21. Родословная семьи HCM75. Римскими цифрами обозначены номера поколения, арабскими – порядковый номер человека в поколении. Пробанд обозначен красной стрелкой.

У пробанда и ее отца в гене *MYH7* был обнаружен генетический вариант p.K397E в гетерозиготном состоянии; образец ДНК брата пробанда был недоступен для исследования. Результаты биоинформатического анализа генетического варианта p.K397E были приведены выше.

Генетический вариант p.K397E в семье HCM75 сегрегирует с гипертрофической кардиомиопатией и НМЛЖ. В данном случае нельзя однозначно сказать, является ли обнаруженный генетический вариант причиной феномена НМЛЖ или же причиной развития кардиомиопатии, приведшей к феномену НМЛЖ

В двух семьях наблюдалось наследование НМЛЖ и ДКМП в различных сочетаниях. На рисунке 22 представлена родословная семьи LVNC16. У пробанда LVNC16 II-1 был диагностирован СНМЛЖ в сочетании с дилатационной кардиомиопатией. Семейный анамнез пробанда LVNC16 II-1 был отягощен по некомпактному миокарду ЛЖ – у младшей сестры пробанда, LVNC16 II-4, был диагностирован изолированный НМЛЖ.



В ходе молекулярно-генетического исследования у пробанда обнаружено сочетание двух генетических вариантов в гене *MYBP3* – генетический вариант с неустановленным клиническим значением с.557C>T, приводящий к миссенс-замене р.Р186L, и с.3642G>А, приводящий к нонсенс-замене р.W1214\*. Образцы ДНК членов семьи пробанда были недоступны для анализа, поэтому провести каскадный семейный скрининг не представлялось возможным. Неизвестным остается взаимное расположение генетических вариантов в аллелях и сегрегация генетических вариантов с заболеванием.

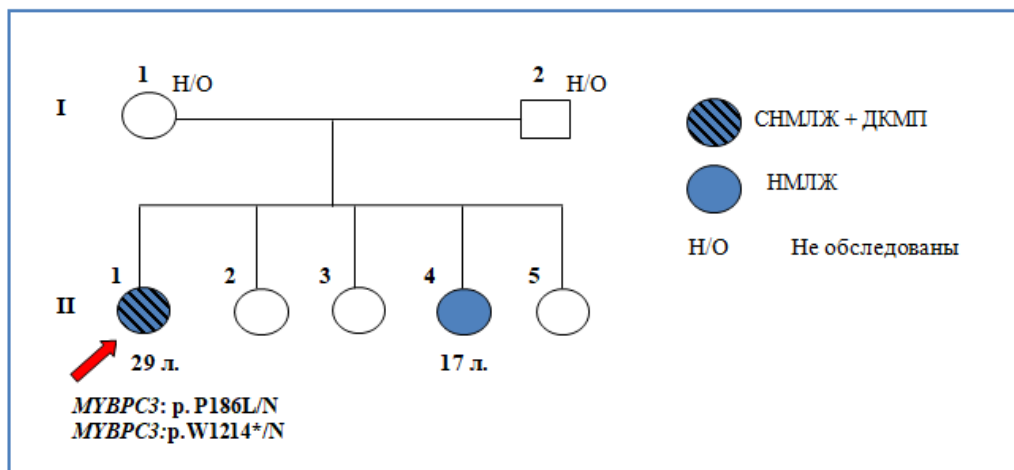


Рисунок 22. Родословная семьи LVNC16. Римскими цифрами обозначены номера поколения, арабскими – порядковый номер человека в поколении. Пробанд обозначен красной стрелкой.

В нашей работе мы анализировали наследование НМЛЖ как независимого признака, однако семей, в которых нескольким членам семьи был бы диагностирован НМЛЖ, оказалось недостаточно для корректных выводов о преобладающем типе наследования. В тех случаях, когда НМЛЖ был диагностирован не менее, чем в двух поколениях (3 семьи, 4,5%), наблюдалось аутосомно-доминантное наследование признака. В случае, когда НМЛЖ наблюдался только у нескольких членов семьи, относящихся к одному поколению (1 семья, 1,5%), можно предположить аутосомно-рецессивное наследование или

дигенное наследование (при наличии у родителей пациента – носителей выявленных генетических вариантов признаков заболевания, например, мягкой форма кардиомиопатии).

Также аутосомно-рецессивное наследование можно предполагать в семьях, где НМЛЖ был диагностирован у ребенка здоровых родителей. Однако в этом случае нельзя исключить возникновение мутации *de novo*. В двух семьях (3%) нам удалось доказать происхождение мутации *de novo*, родословные представлены на рисунках 11 и 12 (семьи LVNC71 и NMD14).

Уточнение типа наследования для семьи с потенциальным аутосомно-рецессивным типом наследования возможно только после обнаружения патогенных генетических вариантов и проведения каскадного семейного скрининга. При невозможности проведения каскадного семейного скрининга из-за отрицательного результата молекулярно-генетического исследования или отсутствия образцов ДНК родственников подобный случай НМЛЖ следует считать спорадическим.

Спорадические случаи НМЛЖ преобладают среди пациентов нашей выборки – у 26 из 44 пробандов (59%) семейный анамнез не был отягощен по НМЛЖ или другой КМП. Таким образом, для 22 пробандов отсутствовали данные о семейном анамнезе, у 26 пробандов случай НМЛЖ был признан спорадическим, у 18 пробандов семейный анамнез был отягощен по НМЛЖ или другой КМП.

Распределение мутаций и вариантов с неустановленным клиническим значением по группам пациентов с различным семейным анамнезом представлено на рисунке 23.

В результате анализа имеющихся данных с помощью точного критерия Фишера было показано, что факт обнаружения мутации не зависит от отягощенности семейного анамнеза по кардиомиопатиям ( $p = 1$ ). Данный результат нуждается в проверке на больших группах пациентов. Однако при

проведении медико-генетического консультирования пациентам с НМЛЖ необходимо учитывать, что отсутствие семейного анамнеза заболевания не является обоснованием для отказа в проведении ДНК-диагностики.

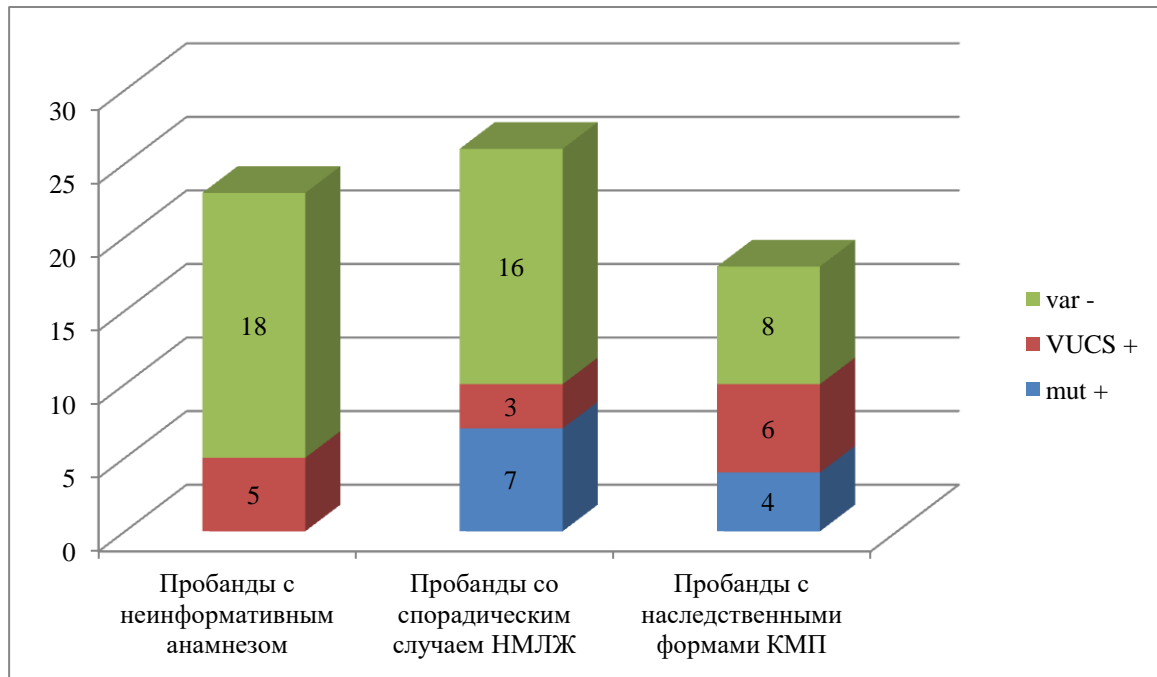


Рисунок 23. Распределение генетических вариантов в группах пациентов с различной отягощенностью семейного анамнеза.

Выводы по разделу:

- В ходе клинико-генеалогического анализа удалось проследить наследование НМЛЖ как независимого признака;
- в случае наследования НМЛЖ как независимого признака наблюдался аутосомно-доминантный тип наследования;
- при наследовании НМЛЖ в сочетании с другой кардиомиопатией необходимо ориентироваться на тип наследования КМП;
- при наличии у пробанда двух патогенных генетических вариантов в одном гене в транс-положении можно говорить об аутосомно-рецессивном

наследовании или о неполном доминировании (при наличии мягких фенотипических проявлений у носителей одной из мутаций);

- для 34% пробандов отсутствовали данные о семейном анамнезе. Недостаток информации о семейном анамнезе может объясняться относительно недавним внедрением диагноза «НМЛЖ» с клиническую практику, недостаточно информативными методами визуализации в недавнем прошлом, не позволяющими подробно определить тип кардиомиопатии и недостаточностью информирования о возможной семейной природе заболевания;
- в 39,4% семей наблюдался спорадический случай НМЛЖ у пробанда;
- в 27,3% случаев в семейном анамнезе присутствовали указания на наличие кардиомиопатии;
- вероятность обнаружения патогенного генетического варианта не зависела от отягощенности семейного анамнеза по кардиомиопатиям. Таким образом, отсутствие семейного анамнеза кардиомиопатии у пробанда не является основанием для отказа в выполнении ДНК-диагностике.

### **3.5. Анализ корреляций «генотип-фенотип» в группе пациентов с синдромом некомпактного миокарда левого желудочка**

В рамках нашего исследования мы планировали изучить эффективность предложенного варианта выполнения ДНК-диагностики и оценить корреляции «генотип-фенотип» в группе пациентов с НМЛЖ. С целью оценки эффективности ДНК-диагностики мы проанализировали количество выявленных генетических вариантов, их распределение по генам и оценили патогенность выявленных генетических вариантов. В ходе клинико-генеалогического анализа мы исследовали наследование НМЛЖ как независимого признака и отягощенность семейного анамнеза в группе пациентов с направляющим диагнозом «некомпактный миокард левого желудочка».

Одной из задач нашего исследования было выявление корреляций «генотип-фенотип» в группе пациентов с НМЛЖ с целью оптимизации ДНК-диагностики. Мы проанализировали эффективность ДНК-диагностики в группах пациентов с различными вариантами ремоделирования миокарда, а также тяжесть клинических проявлений у носителей мутаций и у пациентов, у которых патогенные/вероятно патогенные генетические варианты обнаружить не удалось.

### ***3.5.1. Анализ эффективности ДНК-диагностики в группах пациентов с различными вариантами ремоделирования миокарда***

В нашей группе пациентов наблюдались различные варианты ремоделирования миокарда. Изолированный НМЛЖ был обнаружен у 15 пробандов (22,4% случаев). У большинства пробандов (35/67, 52,2%) наблюдалась дилатация камер сердца. Гипертрофия миокарда наблюдалась у 15 пробандов (22,4%). Сочетание гипертрофии миокарда с дилатацией мы рассматривали в контексте первично возникшей гипертрофии. Также у двоих пробандов (3%) выполнялись диагностические критерии Marcus (2010) для аритмогенной дисплазии правого желудочка (достоверный и вероятный диагноз).

Мы проанализировали число обнаруженных генетических вариантов во всех группах. Результаты анализа и соотношение числа патогенных генетических вариантов (IV-V классы патогенности) и вариантов с неустановленным клиническим значением представлены на рисунке 24.

Обращает на себя внимание отсутствие патогенных/вероятно патогенных генетических вариантов в группе пациентов с изолированной формой некомпактного миокарда. Это может указывать на низкую эффективность предложенного объема ДНК-диагностики в группе пациентов с изолированной формой НМЛЖ.

Предложенная схема ДНК-диагностики была наиболее эффективна в группе пациентов, у которых наряду с НМЛЖ наблюдалась гипертрофия миокарда.

Группа пациентов с сочетанием НМЛЖ и АДПЖ оказалась слишком малочисленна для анализа выявленных генетических вариантов.

Сравнительная эффективность предложенной схемы ДНК-диагностики для групп пациентов с различными вариантами ремоделирования представлена в таблице 27.

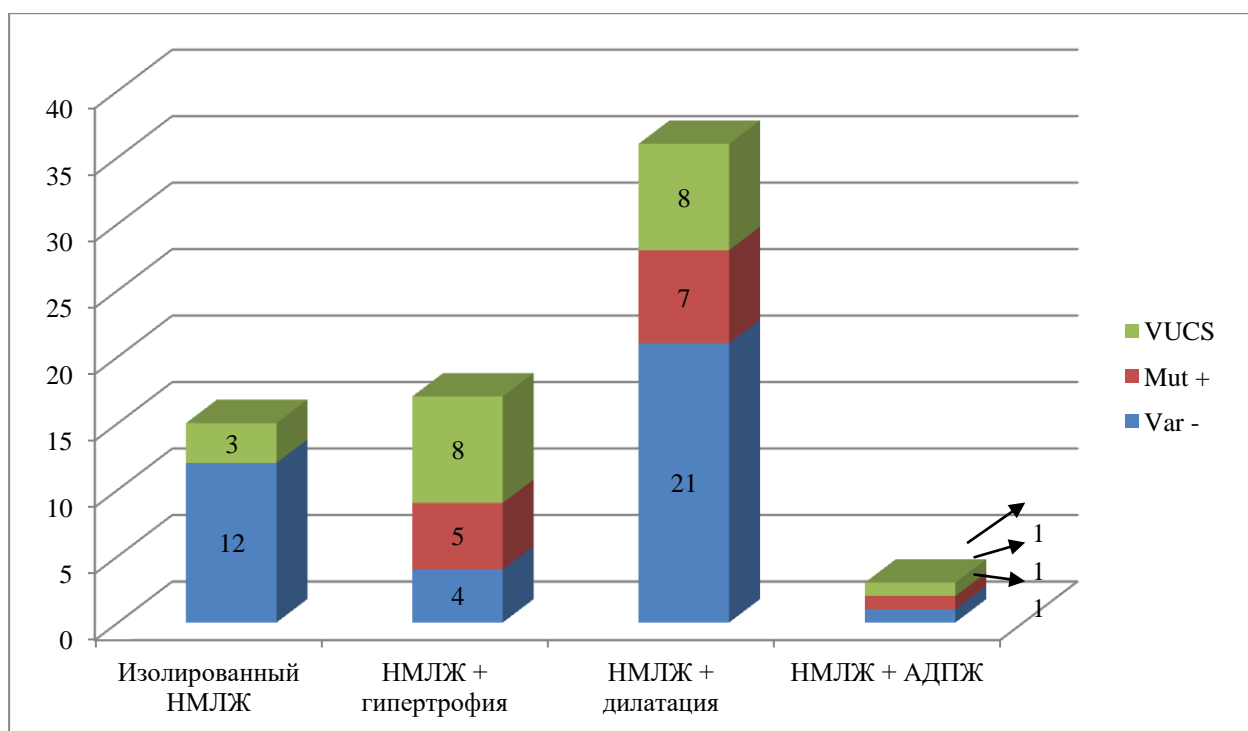


Рисунок 24 Распределение генетических вариантов в зависимости от типа ремоделирования миокарда.

Данный результат иллюстрирует различные генетические спектры гипертрофической и дилатационной кардиомиопатии, и, предположительно, изолированного некомпактного миокарда ЛЖ, что позволяет предложить различные стратегии ДНК-диагностики в зависимости от варианта ремоделирования миокарда.

Для пациентов с сочетанием НМЛЖ и гипертрофии миокарда наиболее оптимальной представляется ДНК-диагностика с помощью панели генов,

включающей в себя гены саркомерных белков. Для пациентов с изолированной формой НМЛЖ или с сочетанием НМЛЖ с дилатацией камер сердца необходимо охватить как можно более широкий спектр генов и с этой целью ДНК-диагностика может проводиться либо с помощью больших диагностических панелей, либо методами секвенирования экзона.

Таблица 27. Доля генетических вариантов различных классов патогенности в зависимости от типа ремоделирования.

<b>Генетический вариант</b>	<b>Изолированный НМЛЖ</b>	<b>НМЛЖ + гипертрофия миокарда</b>	<b>НМЛЖ + дилатация камер сердца</b>
Патогенный (IV-V классы патогенности) генетический вариант, доля случаев	0	5/15	7/35
Эффективность ДНК-диагностики, %	Очень низкая	33	20

Отдельно необходимо обсудить необходимость и объем ДНК-диагностики для бессимптомных пациентов с диагнозом НМЛЖ. Как было указано выше, в нашей выборке только у 2 пациентов наблюдалась бессимптомная форма НМЛЖ, в обоих случаях некомпактность миокарда была обнаружена случайно в ходе рутинного обследования, не связанного с кардиологическими жалобами. У обоих пациентов в ходе проведения ДНК-диагностики патогенных/потенциально патогенных генетических вариантов выявлено не было. Небольшое число бессимптомных пациентов в нашей группе пациентов не позволяет делать вывод о необходимости и эффективности ДНК-диагностики при такой форме заболевания. Согласно рекомендациям Общества сердечной недостаточности [66] бессимптомным пациентам с изолированной формой НМЛЖ в отсутствие кардиологических жалоб ДНК-диагностика не показана. Однако многие авторы

отмечают сложность дифференциальной диагностики бессимптомной формы НМЛЖ с благоприятным прогнозом и НМЛЖ, сопровождающимся нарушениями ритма сердца. С этой точки зрения информация, полученная в результате ДНК-диагностики, может иметь большое значение для организации динамического наблюдения за пациентом. На наш взгляд, вопрос о целесообразности ДНК-диагностики при бессимптомной форме НМЛЖ должен решаться индивидуально для каждого пациента с учетом данных семейного анамнеза сердечно-сосудистых событий.

На основании анализа эффективности ДНК-диагностики для пациентов с различными вариантами ремоделирования миокарда мы предлагаем алгоритм молекулярно-генетического исследования (Рисунок 25).

### ***3.5.2. Анализ корреляций «фенотип-генотип» для различных групп пациентов***

Мы проанализировали клинические проявления заболевания в группах пациентов с генетическими вариантами различных классов патогенности независимо от типа ремоделирования миокарда. В первую группу были включены пациенты с генетическими вариантами IV-V классов патогенности, во вторую – пациенты-носители генетических вариантов с неустановленным клиническим значением, в третью группу – пациенты, у которых не было выявлено генетических вариантов III-V классов патогенности.



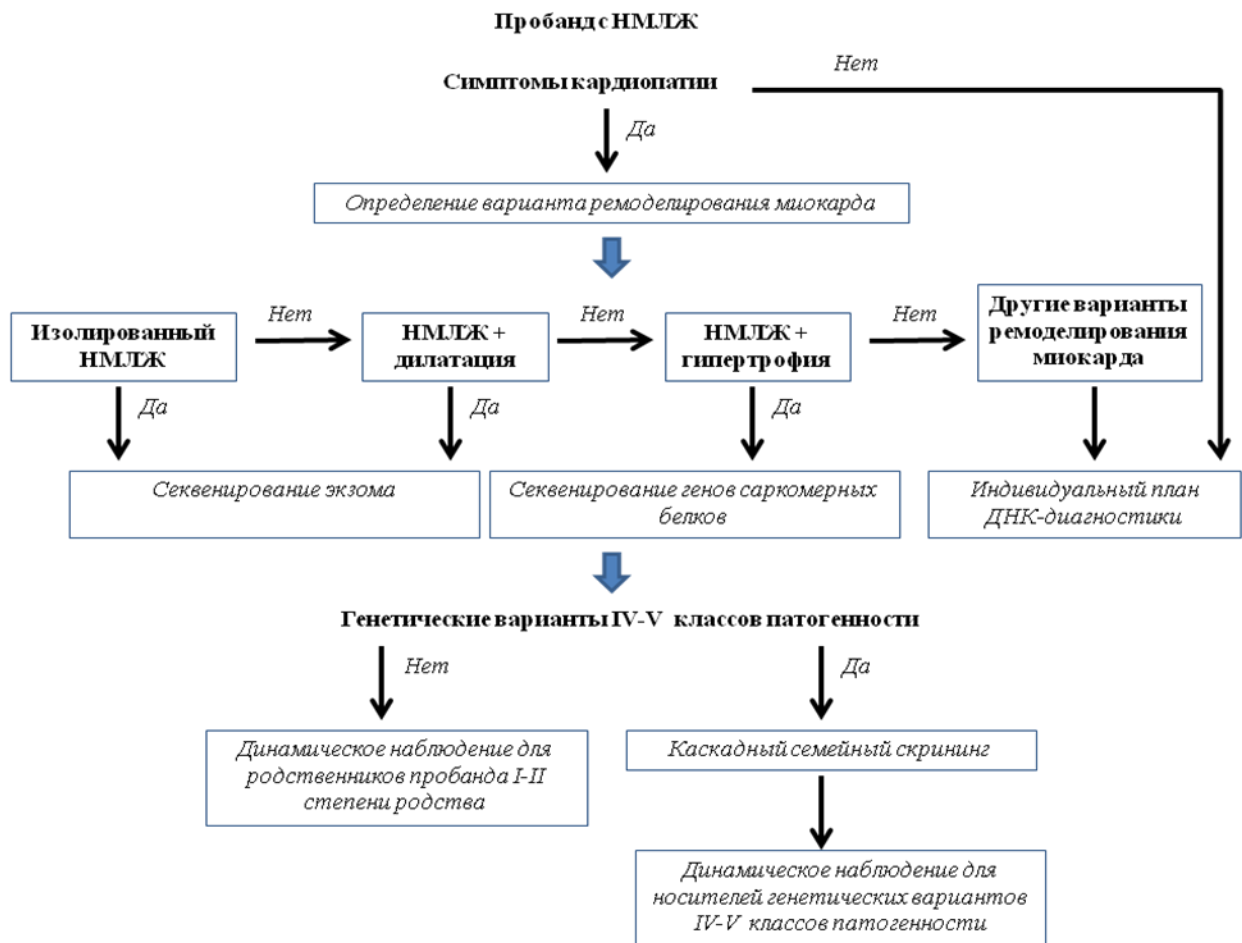


Рисунок 25. Предлагаемый алгоритм ДНК-диагностики для пациента с направляющим диагнозом "НМЛЖ".

Средний возраст манифестации был достоверно ниже в группе пациентов с генетическими вариантами IV-V классов патогенности, чем в группе пациентов без обнаруженных генетических вариантов ( $p=0,0017$ ). Статистически значимой разницы между возрастом манифестации заболевания между другими группами обнаружено не было.

Мы также проанализировали фракцию сердечного выброса (по Симпсону) на момент включения пациентов в исследование во всех группах. Статистически значимых различий обнаружено не было. Методом линейной регрессии мы оценили возможное влияние возраста пациента на момент включения в исследование на фракцию сердечного выброса. Статистически значимых

результатов получено не было. Таким образом, в нашей группе пациентов не было обнаружено взаимосвязи между фракцией сердечного выброса и наличием/отсутствием генетического варианта III-V классов патогенности.

Достоверных различий в частоте миокардита в различных группах обнаружено не было.

Мы оценили соотношение некомпактного и компактного слоев миокарда (NC/C) во всех группах пациентов. Достоверные различия были обнаружены между группами пациентов с генетическими вариантами IV-V классов патогенности и пациентов, у которых патогенных/вероятно патогенных вариантов выявлено не было. В группе пациентов без патогенных/вероятно патогенных генетических вариантов соотношение некомпактного и компактного слоев миокарда (NC/C) оказалось достоверно больше ( $p=0,03$ ). Методом линейной регрессии мы также оценили возможное влияние возраста пациентов на момент включения в исследование на соотношение NC/C; статистически значимого влияния выявлено не было. Необходимо отметить, что в определении соотношения NC/C имелись ограничения. Так, для некоторых пациентов определение соотношения слоев проводили методом эхокардиографии, а не МРТ. У двоих пациентов имелись указания на неравномерность некомпактного слоя миокарда, в этом случае при вычислении NC/C использовали среднее значение толщины слоев. Возможно, определение отношения массы некомпактного слоя к общей массе миокарда (МРТ-критерии Grothoff 2012,[98]) более корректно, однако такой подход требует выполнения МРТ, что невозможно для пациентов с ИКД.

Статистически значимых различий в соотношении NC/C между другими группами обнаружено не было.

Возможные корреляции между соотношением NC/C и клиническими проявлениями заболевания у пациентов с НМЛЖ и дилатационной кардиомиопатией исследовались в работе [26]. Несмотря на то, что соотношение

NC/C и масса некомпактного слоя были достоверно выше у пациентов с ДКМП (по сравнению со здоровыми контролями), корреляций между выраженностью некомпактного слоя и тяжестью клинических проявлений в группе пациентов обнаружено не было.

Мы проанализировали семейный анамнез внезапной сердечной смерти во всех группах. В группе пациентов с генетическими вариантами IV-V классов патогенности семейный анамнез ВСС встречался достоверно чаще, чем в группе пациентов, у которых патогенных/потенциально патогенных генетических вариантов выявлено не было ( $p=0,03$ ). Статистически значимых различий в частоте ВСС в семейном анамнезе между другими группами обнаружено не было. Учитывая, что в семьях пациентов с генетическими вариантами IV-V классов патогенности частота ВСС была достоверно выше, чем в других группах, в семьях необходимо проводить каскадный скрининг с целью организации динамического наблюдения для всех носителей вероятно патогенных/патогенных генетических вариантов.

Также мы проанализировали частоту воспалительных заболеваний миокарда во всех группах пациентов. Статистически значимых различий обнаружено не было.

Таким образом, статистически достоверные различия были обнаружены только между группами пациентов-носителей патогенных/потенциально патогенных генетических вариантов и пациентов, у которых генетических вариантов III-V классов патогенности обнаружено не было.

Можно предположить, что наличие патогенного генетического варианта коррелирует с тяжестью клинических проявлений заболевания. Нами были получены противоречивые данные в пользу этой гипотезы – корреляции с фракцией выброса выявлено не было, но возраст манифестации заболевания был достоверно ниже у пациентов с патогенными генетическими вариантами, также наблюдалось значимо большее число ВСС в семейном анамнезе. Можно также

предположить, что у носителей патогенных генетических вариантов выраженность некомпактного слоя миокарда (соотношение NC/C) будет выше, чем у пациентов, у которых патогенных/потенциально патогенных генетических вариантов выявлено не было, однако доказать эту гипотезу нам не удалось ( $p > 0,05$ ).

Количество пациентов в каждой группе, средний возраст манифестации заболевания, соотношение по полу и результаты статистического анализа представлены в таблице 28.

На основании наших данных и исследования [26] можно предположить взаимосвязь между наличием генетического варианта и тяжестью клинических проявлений и поставить под сомнение наличие взаимосвязи между клиническими проявлениями и выраженностью некомпактного слоя. В таком случае, тяжесть клинических проявлений будет скорее определяться не выраженностью некомпактного слоя, а генетическим контекстом заболевания. Мы также оценили корреляцию между соотношением NC/C и возрастом манифестации заболевания с помощью линейной регрессии (с учетом возраста включения в исследование); корреляции получено не было.

Полученные результаты нуждаются в проверке на большей группе пациентов. Для оценки тяжести течения заболевания, возможно, уместно будет использовать класс сердечной недостаточности по NYHA. Кроме того, в нашей работе мы не исследовали полиморфизм генов, продукты экспрессии которых вовлечены в эмбриогенез сердца. В ходе исследования генов, контролирующих эмбриогенез сердца, в нашей группе пациентов с изолированной формой НМЛЖ могут быть получены важные данные для оценки «эмбриональной» гипотезы развития НМЛЖ.

Таблица 28. Клинические и анамнестические особенности пациентов, в зависимости от наличия генетических вариантов IV/V классов патогенности.

	Var + (IV/V классы патогенности)	Var –	p-value	Статистическая достоверность
Число пробандов	15	37		
Соотношение по полу, М:Ж	6:9	18:19	p>0,05	Недостоверно
Возраст манифестации заболевания, лет	19 (0-47)	35(12-60)	p=0,0017	Достоверно
Семейный анамнез ВСС	8/15	6/37	p=0,03	Достоверно
ФВ на момент включения в исследование, %	42,4	38,8	p>0,05	Недостоверно
Соотношение NC/C	1,76	2,5	p=0,03	Достоверно
Воспалительное заболевание миокарда, чел	5/15	8/38	p>0,05	Недостоверно

## Заключение

В последние два десятилетия феномен некомпактного миокарда перестал быть редкой диагностической находкой. Обнаружение высокой доли семейных случаев повлекло за собой запрос на разработку ДНК-диагностики для пациентов с СНМЛЖ. Однако при отсутствии единой концепции этиологии и патогенеза синдрома некомпактного миокарда тактика ДНК-диагностики остается неопределенной.

В нашей работе мы проанализировали результаты ДНК-диагностики, выполненной с помощью панели из 13 генов, у пациентов с СНМЛЖ и различными вариантами ремоделирования миокарда. Была показана различная эффективность предложенной схемы ДНК-диагностики в разных группах пациентов; нами также был предложен алгоритм ДНК-диагностики, в котором учитывается вариант ремоделирования миокарда у пациента.

Общая эффективность предложенной схемы ДНК-диагностики составила 22%. Наибольшее число патогенных/вероятно патогенных генетических вариантов было обнаружено в генах *MYH7* и *MYBPC3*. Однако, учитывая невысокую общую эффективность диагностики, эти гены нельзя называть мажорными для СНМЛЖ. У пациентов с генетическими вариантами IV-V классов патогенности наблюдался более ранний возраст манифестации кардиопатии и более высокая частота случаев ВСС в семье. В то же время не было обнаружено корреляции между наличием патогенного/вероятно патогенного генетического варианта и выраженностью некомпактного слоя.

Обнаруженные корреляции позволяют предположить, что тяжесть клинических проявлений кардиопатии (а именно – ранняя манифестация заболевания и больший риск ВСС) может быть обусловлена полиморфизмом генов саркомерных и структурных белков, а не выраженностью некомпактного слоя миокарда. В этой связи с целью дальнейшего изучения природы

некомпактного миокарда у пациентов с СНМЛЖ представляется перспективным исследование генов, вовлеченных в эмбриогенез сердца.

## Глава 4. Выводы

1. Доля спорадических случаев некомпактности миокарда левого желудочка составила 32% пробандов. Таким образом, в трети случаев анатомический феномен НМЛЖ был спорадическим, в трети случаев – в рамках семейного анамнеза доминантно наследуемых разных кардиомиопатий; в трети случаев анализ родословной был недоступен.

2. Синдром некомпактного миокарда левого желудочка характерен для различных анатомических и генетических контекстов. Изолированный НМЖ наблюдался только у 23% больных. В остальных случаях (77%) наблюдались ассоциации со всеми известными типами ремоделирования сердца. Наиболее частым является сочетание НМЛЖ с ДКМП (52% пробандов). Сочетание некомпактного миокарда с ГКМП выявлено у 22% больных. Сочетание с АКПЖ было казуистически редким (2 неродственных больных).

3. Было выявлено 13 генетических вариантов IV-V классов патогенности. Большая часть (76,9%) была выявлена в генах *MYH7* и *MYBPC3*. Соотношение «сигнал:шум» (mutation:VUCS) составило 13:20 (0,65:1). Миссенс-мутации составили 72,7% от числа всех обнаруженных генетических вариантов, что соответствует результатам исследований других групп авторов.

4. Средняя диагностическая эффективность разработанной панели генов «Синдром некомпактного миокарда левого желудочка» (13 генов, 30 kb) составила 22%. Частых мутаций, которые могли бы стать основой эффективной и экономичной тест-системы, в российской выборке больных не выявлено. Эффективность предложенного протокола ДНК-диагностики различна при различных вариантах ремоделирования миокарда. Наибольшая выявляемость мутаций наблюдалась при сочетании НМЛЖ с гипертрофией миокарда (33%), наименьшая - при изолированной некомпактности левого желудочка (0, вариантов IV-V классов патогенности не выявлено). Изолированный НМЛЖ является негативным прогностическим фактором для выявления патогенных генетических



вариантов в сформированной таргетной группе пациентов. На основании различий в эффективности предложенного протокола ДНК-диагностики для разных групп пациентов был предложен дифференциальный алгоритм, учитывающий анатомический вариант ремоделирования миокарда и наличие симптомов сердечно-сосудистого заболевания.

5. Пациенты с СНМЛЖ и выявленными генетическими вариантами IV-V классов патогенности имели достоверно более ранний возраст манифестации заболевания и наибольшую частоту ВСС в семье. В то же время соотношение толщины некомпактного и компактного (NC/C) слоев миокарда у этих пациентов было достоверно ниже, чем у пациентов без выявленных генетических вариантов. Можно предположить, что ранняя манифестация заболевания не определяется выраженностью некомпактного слоя миокарда, а скорее – генетическим контекстом заболевания.

## Практические рекомендации

1. Медико-генетическое консультирование и ДНК-диагностика показаны пробанду и членам семьи, у которых выполняются диагностические критерии некомпактного миокарда левого желудочка. Для диагностики некомпактного миокарда левого желудочка у родственников пробанда в качестве первого этапа семейного скрининга рекомендуется выполнять трансторакальное УЗИ сердца.
2. Пациентам с изолированной формой некомпактного миокарда левого желудочка и симптомами кардиопатии ДНК-диагностику оптимально проводить методом полноэкзомного секвенирования.
3. Пациентам с сочетанием СНМЛЖ и гипертрофии миокарда первым этапом ДНК-диагностики целесообразно первым этапом выполнять поиск мутаций в ограниченной панели генов: *MYH7*, *MYBPC3*, *TPM1*, *ACTC1*, *LMNA*, *DES*, *TNNT2*, *DTNA*, *LDB3*, *TNNI3*, *TAZ*, *MYL2*, *MYL3*.
4. Пациентам с сочетанием СНМЛЖ и дилатацией камер сердца ДНК-диагностику оптимально проводить методом полноэкзомного секвенирования.
5. Обнаружение генетического варианта III класса патогенности не может служить основанием для утяжеления прогноза заболевания и/или для проведения пренатальной ДНК-диагностики.
6. При обнаружении у пробанда генетического варианта IV-V классов патогенности показано проведение каскадного семейного скрининга родственникам I-II степени родства.

## **Перспективы дальнейшей разработки темы**

1. Изучение и описание новых генетических вариантов наряду с детальным фенотипированием позволит уточнить типы наследования СНМЛЖ и проанализировать возможные корреляции между генотипом и фенотипом. Следовательно, это позволит повысить эффективность медико-генетического консультирования и, в случае обнаружения корреляций «генотип-фенотип», даст возможность оценивать риски жизнеугрожающих событий.

2. В ходе анализа спектра генетических вариантов у пациентов с изолированной формой СНМЛЖ и с сочетанием некомпактного миокарда левого желудочка и других типов ремоделирования миокарда могут быть получены новые данные о взаимосвязи различных типов кардиомиопатий.

3. Особый интерес представляет анализ генов, вовлеченных в процесс эмбриогенеза сердца, у пациентов с синдромом некомпактного миокарда левого желудочка и различными формами ремоделирования миокарда.

## Список сокращений

- ACMG – American College of Medical Genetics
- CPVT – катехоламинэргическая полиморфная желудочковая тахикардия
- CRT-D – Cardiac resynchronization therapy-defibrillator (бивентрикулярный электрокардиостимулятор с функцией кардиоверсии-дефибрилляции)
- ESP – Exome Sequencing Project
- ExAC – Exome Aggregation Consortium
- HGMD – Human Gene Mutation Database
- LGE – late gadolinium enhancement (отсроченное контрастное усиление препаратами гадолиния)
- LVNC – left ventricular noncompaction
- MAF – minor allele frequency
- MPS – mass parallel sequencing
- NYHA – New York Heart Association
- PROVEAN – Protein Variation Effect Analyzer
- VUCS – variant of unknown clinical significance
- AB – атрио-вентрикулярный
- АДПЖ – аритмогенная дисплазия левого желудочка
- АПФ – ангиотензин-превращающий фермент
- Б/Д – база данных
- ВСС – внезапная сердечная смерть
- ГКМП – гипертрофическая кардиомиопатия
- ДКМП – дилатационная кардиомиопатия
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

- ИКД – имплантируемый кардиовертер-дефибриллятор
- ЖТ – желудочковая тахикардия
- ЖЭС – желудочковая экстрасистолия
- кДНК – кодирующая дезоксирибонуклеиновая кислота
- КМП – кардиомиопатия
- МРТ – магнитно-резонансная томография
- МСКТ – мультиспиральная компьютерная томография
- Н/Д – нет данных
- НМЛЖ – некомпактный миокард левого желудочка
- ОТ-ПЦР – ПЦР с обратной транскрипцией
- п.н. – пары нуклеотидов
- ПНПГ – правая ножка пучка Гиса
- ПЦР – полимеразно-цепная реакция
- РКМП – рестриктивная кардиомиопатия
- РНК – рибонуклеиновая кислота
- Синдром WPW – Синдром Вольфа-Паркинсона-Уайта
- СНМЛЖ – синдром некомпактного миокарда левого желудочка
- ЛЖ – левый желудочек
- ФВ – фракция выброса
- ХСН – хроническая сердечная недостаточность
- УЗИ – ультразвуковое исследование
- ЭКС – электрокардиостимулятор
- ЭКГ – Электрокардиограмма
- ЭФИ – Электрофизиологическое исследование

**Список литературы**

1. Feldt, R. H. Anomalous ventricular myocardial patterns in a child with complex congenital heart disease / R. H. Feldt, S. H. Rahimtoola, G. D. Davis, H. J. Swan, J. L. Titus // *American Journal of Cardiology*. – 1969. – Vol. 23, № 5. – P. 732–734.
2. Finsterer, J. Left ventricular noncompaction cardiomyopathy: cardiac, neuromuscular and genetic factors / J. Finsterer, C. Stöllberger, J. A. Towbin // *Nature Reviews Cardiology*. – 2017 – Vol. 14, № 4. – P. 224–237.
3. Ichida, F. Clinical features of isolated noncompaction of the ventricular myocardium: long-term clinical course, hemodynamic properties, and genetic background / Fukiko Ichida, Yuji Hamamichi, Toshio Miyawaki, Yasuo Ono, Tetsuro Kamiya et al. // *Journal of the American College of Cardiology* – 1999 – Vol. 34, № 1. – P. 233–240.
4. Oechslin, E. N. Long-term follow-up of 34 adults with isolated left ventricular noncompaction: a distinct cardiomyopathy with poor prognosis / E. N. Oechslin, C. H. Attenhofer Jost, J. R. Rojas, P. A. Kaufmann, R. Jenni // *Journal of the American College of Cardiology* – 2000 – Vol. 36, № 2. – P. 493–500.
5. Bowles, N. E. The „final common pathway“ hypothesis and inherited cardiovascular disease. The role of cytoskeletal proteins in dilated cardiomyopathy / N. E. Bowles, K. R. Bowles, и J. A. Towbin // *Herz* – 2000 – Vol.25, № 3. – P. 168–175.
6. Gati, S. Adult Left Ventricular Noncompaction / S. Gati, R. Rajani, G. S. Carr-White, J. B. Chambers // *JACC: Cardiovascular Imaging* –2014 – Vol. 7, № 12. – P. 1266–1275.
7. Nugent, A. W. The Epidemiology of Childhood Cardiomyopathy in Australia / A. Nugent, P. Daubeney, P. Chondros, J. B. Carlin, M. Cheung et al. // *New England Journal of Medicine* – 2003 – Vol. 348, №. 17 – P. 1639–1646.

8. Kovacevic-Preradovic, T. Isolated Left Ventricular Noncompaction as a Cause for Heart Failure and Heart Transplantation: A Single Center Experience / T. Kovacevic-Preradovic, R. Jenni, E. N. Oechslin, G. Noll, B. Seifert, C. H. Attenhofer Jost // *Cardiology* – 2009 – Vol. 112, №. 2. – P. 158–164.
9. Kirby, M. L. *Cardiac development*. New York: Oxford University Press, 2007. 288 p.
10. McNally, E. Sarcomere mutations in cardiogenesis and ventricular noncompaction / E. McNally and L. Dellefave // *Trends in Cardiovascular Medicine* – 2009 – Vol. 19, №. 1. – P. 17–21.
11. Finsterer, J. Cardiogenetics, Neurogenetics, and Pathogenetics of Left Ventricular Hypertrabeculation/Noncompaction / J. Finsterer // *Pediatric Cardiology* – 2009 – Vol. 30, № 5. – P. 659–681.
12. Captur, G. Left ventricular non-compaction: Genetic heterogeneity, diagnosis and clinical course / G. Captur and P. Nihoyannopoulos // *International Journal of Cardiology* – 2010 – Vol. 140, № 2. – P. 145–153.
13. Arbustini, E. Left Ventricular Noncompaction / E. Arbustini, F. Weidemann, J. L. Hall // *Journal of the American College of Cardiology* – 2014 – Vol. 64, № 17 – P. 1840–1850.
14. Bertini, M. Effects of cardiac resynchronisation therapy on dilated cardiomyopathy with isolated ventricular non-compaction / Bertini M., Ziacchi M., Biffi M., et al // *Heart* – 2011 – Vol. 97, № 4 – P. 295–300.
15. Towbin, J. A. Left ventricular non-compaction cardiomyopathy / J. A. Towbin, A. Lorts, J. L. Jefferies // *The Lancet* – 2015 – Vol. 386, №. 9995 – P. 813–825.
16. Chin, T. K. Isolated noncompaction of left ventricular myocardium. A study of eight cases / T. K. Chin, J. K. Perloff, R. G. Williams, K. Jue, R. Mohrmann // *Circulation* – 1990 – Vol. 82, № 2 – P. 507–513.

17. Jenni, R. Echocardiographic and pathoanatomical characteristics of isolated left ventricular non-compaction: a step towards classification as a distinct cardiomyopathy / R. Jenni, E. Oechslin, J. Schneider, C. Attenhofer Jost, P. A. Kaufmann // *Heart* – 2001 – Vol. 86, № 6 – P. 666–671.
18. Stöllberger, C. Left ventricular hypertrabeculation/noncompaction and association with additional cardiac abnormalities and neuromuscular disorders / C. Stöllberger, J. Finsterer, G. Blazek // *American Journal of Cardiology* – 2002 – Vol. 90, № 8 – P. 899–902.
19. Ikeda, U. Isolated left ventricular non-compaction cardiomyopathy in adults / U. Ikeda, M. Minamisawa, J. Koyama // *Journal of Cardiology* – 2015 – Vol. 65, № 2 – P. 91–97.
20. Petersen, S. E. Left ventricular non-compaction: insights from cardiovascular magnetic resonance imaging / S. E. Petersen, J. B. Selvanayagam, F. Wiesmann, M. D. Robson, J. M. Francis et al. // *Journal of the American College of Cardiology* – 2005 – Vol. 46, №1 – P. 101–105.
21. Jacquier, A. Measurement of trabeculated left ventricular mass using cardiac magnetic resonance imaging in the diagnosis of left ventricular non-compaction / A. Jacquier, F. Thuny, B. Jop, R. Giorgi, F. Cohen et al. // *European Heart Journal* – 2010 – Vol. 31, № 9 – P. 1098–1104.
22. Benjamin, M. M. Diagnosis of left ventricular noncompaction by computed tomography / M. M. Benjamin, R. A. Khetan, R. C. Kowal, и J. M. Schussler // *Proceedings (Baylor University. Medical Center)* – 2010 – Vol. 25, №. 4 – P. 354–356.
23. Поляк, М. Е. Некомпактный миокард левого желудочка: симптом, синдром или вариант развития? / М. Е. Поляк, Е. А. Мершина, и Е. В. Заклязьминская // *Российский кардиологический журнал* – 2017 – № 2 – P. 106–113.
24. Благова, О. В. Стратификация риска внезапной смерти и критерии отбора на имплантацию дефибрилляторов у больных с кардиомиопатиями



(дилатационной, аритмогенной правожелудочковой, некомпактным миокардом) // Благова О.В., Н.В. Вариончик, Е.А. Соловьева, А.А. Букаева, А.Г. Шестак, Поляк М.Е., А.В. Недоступ // *Клиническая и экспериментальная хирургия Журн. им. акад. Б.В. Петровского.* – 2018 – № 3 – С. 34-49.

25. Maron, B. J. Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies: an American Heart Association Scientific Statement from the Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; and Council on Epidemiology and Prevention / B. J. Maron, J. A. Towbin, G. Thiene, C. Antzelevitch, D. Corrado et al. // *Circulation*, – 2006 – Vol.113, № 14 – P. 1807–1816.

26. Amzulescu, M.-S. Prognostic Impact of Hypertrabeculation and Noncompaction Phenotype in Dilated Cardiomyopathy: A CMR Study / M.-S. Amzulescu, M. F. Rousseau, S. A. Ahn, L. Boileau, C. de Meester de Ravenstein et al. // *JACC Cardiovasc Imaging* – 2015 – №. 8 – P. 934–946.

27. Hoedemaekers, Y. M. The importance of genetic counseling, DNA diagnostics, and cardiologic family screening in left ventricular noncompaction cardiomyopathy / Y. M. Hoedemaekers, K. Caliskan, M. Michels, I. Frohn-Mulder, J. J. van der Smagt et al. // *Circulation: Cardiovascular Genetics* – 2010 – Vol. 3, №. 3 – P. 232–239.

28. Li, J. Effects of  $\beta$ -blocker therapy on electrocardiographic and echocardiographic characteristics of left ventricular noncompaction / J. Li, J. Franke, R. Pribe-Wolferts et al. // *Clinical Research in Cardiology* – 2015 – Vol. 104, № 3 – P. 241–249.

29. Tian, T. Isolated left ventricular noncompaction: clinical profile and prognosis in 106 adult patients / T. Tian, Y. Liu, L. Gao et al. // *Heart and Vessels* – 2014 – № 5 – P. 645–652.

30. Arunamata, A. Echocardiographic diagnosis and prognosis of fetal left ventricular noncompaction / A. Arunamata, R. Punn, B. Cuneo, S. Bharati, N. H. Silverman // *Journal of the American Society of Echocardiography* – 2012 – Vol. 25, № 1 – P. 112–120.
31. Probst, S. Sarcomere gene mutations in isolated left ventricular noncompaction cardiomyopathy do not predict clinical phenotype / S. Probst, E. Oechslin, P. Schuler, M. Greutmann, P. Boyé et al. // *Circulation: Cardiovascular Genetics* – 2011 – Vol. 4, № 4 – P. 367–374.
32. Ichida, F. Clinical features of isolated noncompaction of the ventricular myocardium: long-term clinical course, hemodynamic properties, and genetic background / F. Ichida, Y. Hamamichi, T. Miyawaki, Y. Ono, T. Kamiya // *Journal of the American College of Cardiology* – 1999 – Vol. 34, № 1 – P. 233–240.
33. Towbin, J. A. Left ventricular noncompaction: a new form of heart failure / J. A. Towbin // *Heart Failure Clinics* – 2010 – Vol.6, № 4 – P. 453–469, viii.
34. Vinograd, C. A. Fetal diagnosis of left-ventricular noncompaction cardiomyopathy in identical twins with discordant congenital heart disease / C. A. Vinograd, S. Srivastava, L. E. Panesar // *Pediatric Cardiology* – 2013 – Vol. 34, № 6 – P. 1503–1507.
35. Barth, P. G. X-linked cardioskeletal myopathy and neutropenia (Barth syndrome): an update / P. G. Barth, F. Valianpour, V. M. Bowen, J. Lam, M. Duran et al. // *American Journal of Medical Genetics* – 2004 – Vol. 126A, №. 4 – P. 349–354.
36. Ackerman, M. J. HRS/EHRA expert consensus statement on the state of genetic testing for the channelopathies and cardiomyopathies this document was developed as a partnership between the Heart Rhythm Society (HRS) and the European Heart Rhythm Association (EHRA) / M. J. Ackerman, S. G. Priori, St. Willems, C. Berul, R. Brugada et al. // *Heart Rhythm* – 2011 – Vol. 8, № 8 – P. 1308–1339.
37. Towbin, J. A. Inherited cardiomyopathies / J. A. Towbin // *Circulation Journal* – 2014 – Vol.78, № 10 – P.2347–2356.

38. Schweizer, P. A. The symptom complex of familial sinus node dysfunction and myocardial noncompaction is associated with mutations in the HCN4 channel / P. A. Schweizer, J. Schröter, S. Greiner, J. Haas, P. Yampolsky et al. // *Journal of the American College of Cardiology* – 2014 – Vol.64, № 8 – P.757–767.
39. Liu, Z. A novel lamin A/C gene missense mutation (445 V > E) in immunoglobulin-like fold associated with left ventricular non-compaction / Z. Liu, H. Shan, J. Huang, N. Li, C. Hou, J. Pu // *Europace* – 2016 – Vol.18, № 4 – P.617–622.
40. Wang, C. A Wide and Specific Spectrum of Genetic Variants and Genotype-Phenotype Correlations Revealed by Next-Generation Sequencing in Patients with Left Ventricular Noncompaction / C. Wang, Y. Hata, K.Hirono, A. Takasaki, S. W. Ozawa // *Journal of the American Heart Association* – 2016 – Vol.6, № 9.
41. Abbasi, Y. The pathogenicity of genetic variants previously associated with left ventricular non-compaction / Y. Abbasi, J. Jabbari, R.Jabbari, R.-Q. Yang, B. Risgaard et al. // *Molecular Genetics & Genomic Medicine* – 2016 – Vol.4, № 2 – P.135–142.
42. Fedida, J. Contribution of exome sequencing for genetic diagnostic in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia / J. Fedida, V. Fressart, P. Charron, E. Surget, T. Hery et al. // *PLOS ONE* – 2017 – Vol.12, № 8, – P. e0181840.
43. Campbell, M. J. Exon 3 deletion of ryanodine receptor causes left ventricular noncompaction, worsening catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia, and sudden cardiac arrest / M. J. Campbell, R. J. Czosek, R. B. Hinton, E. M. Miller // *American Journal of Medical Genetics Part A* – 2015 – Vol. 167, № 9 – P. 2197–2200.
44. Ohno, S. Exon 3 deletion of RYR2 encoding cardiac ryanodine receptor is associated with left ventricular non-compaction / S. Ohno, M. Omura, M. Kawamura, H. Kimura, H. Itoh et al. // *Europace* – 2015 – Vol. 16, № 11 – P. 1646–1654.
45. Bhuiyan, Z. A. Expanding spectrum of human RYR2-related disease: new electrocardiographic, structural, and genetic features / Z. A. Bhuiyan, M. P. van den

Berg, J. Peter van Tintelen, M. T.E. Bink-Boelkens, A. C.P. Wiesfeld // *Circulation* – 2007 – Vol. 116, № 14 – P.1569–1576.

46. Sinagra, G. *Genetic Cardiomyopathies* / G. Sinagra, L. Mestroni, F. Camerini – Milano: Springer Milan, 2013.

47. Walsh, R. Reassessment of Mendelian gene pathogenicity using 7,855 cardiomyopathy cases and 60,706 reference samples / R. Walsh, K. L. Thomson, J. S. Ware, B. H. Funke, J. Woodley et al. // *Genetics in Medicine* – 2007 – Vol. 19, № 2 – P.192–203.

48. Благова, О. В. Миокардит как закономерный феномен у больных с первичным некомпактным миокардом: диагностика, лечение и влияние на исходы. / О. В. Благова, Е.В. Павленко, Н.В. Вариончик, А.В. Недоступ, В.П. Седов и др. // *Российский кардиологический журнал* – 2018 – № 2 – P. 44–52.

49. Yancy, C. W. 2013 ACCF/AHA Guideline for the Management of Heart Failure: A Report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines / C. W. Yancy, M. Jessup, B. Bozkurt, J. Butler, D. E. Casey Jr. et al. // *Circulation* – 2013 – Vol.128, № 16.

50. Kirk, R. The International Society for Heart and Lung Transplantation Guidelines for the management of pediatric heart failure: Executive summary / R. Kirk, A. I. Dipchand, D. N. Rosenthal, L. Addonizio, M. Burch et al. // *The Journal of Heart and Lung Transplantation* – 2014 – Vol.33, № 9 – P.888–909.

51. Stöllberger, C. CHADS2- and CHA2DS2VASc scores and embolic risk in left ventricular hypertrabeculation/noncompaction / C. Stöllberger, C. Wegner, J. Finsterer // *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases* – 2013 – Vol.22, № 6 – P.709–712.

52. Stöllberger, C. A Probable Life-Saving Switch from Apixaban to Phenprocoumon / C. Stöllberger, J. Finsterer // *The Heart Surgery Forum* – 2015 – Vol.18, № 5 – P.E186-187.

53. Goud, A. A rare form of cardiomyopathy: left ventricular non-compaction cardiomyopathy / A. Goud, S. Padmanabhan // *Journal of Community Hospital Internal Medicine Perspectives* – 2016 – Vol. 6, №1 – P.29888.
54. Weiford, B. C. Noncompaction of the ventricular myocardium / B. C. Weiford, V. D. Subbarao, K. M. Mulhern // *Circulation* – 2004 – Vol. 109, № 24 – P. 2965–2971.
55. Priori, S. G. 2015 ESC Guidelines for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death: The Task Force for the Management of Patients with Ventricular Arrhythmias and the Prevention of Sudden Cardiac Death of the European Society of Cardiology (ESC). Endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC) / S. G. Priori, C. Blomström-Lundqvist, A. Mazzanti, N. Blom, M. Borggrefe et al. // *European Heart Journal, Volume* – 2015 – Vol.36, №41 – P. 2793–2867.
56. Alper, A. T. Catheter ablation of ventricular arrhythmia originating in the tricuspid annulus in a patient with biventricular noncompaction: a case report / A. T. Alper, B. Güngör, A. İ. Tekkeşin, C. Türkkkan // *Archives of the Turkish Society of Cardiology* – 2015 – Vol.43, № 6 – P. 568–571.
57. Kumar, N. Left Ventricular Assist Device Insertion in a Patient With Biventricular Noncompaction Cardiomyopathy, Ebstein Anomaly, and a Left Atrial Mass: A Case Report / N. Kumar, C. A. Troianos, J. S. Baisden // *A&A Case Reports*, – 2016 – Vol.7, №12 – P. 251–255.
58. Kornberger, A. Left ventricular non-compaction cardiomyopathy and left ventricular assist device: a word of caution / A. Kornberger, U. A. Stock, P. Risteski, A. Beiras Fernandez // *Journal of Cardiothoracic Surgery* – 2016 – Vol.11, № 1 – P.108.
59. Al-Kindi, S. G. Heart transplant outcomes in patients with left ventricular non-compaction cardiomyopathy / S. G. Al-Kindi, C. El-Amm, M. Ginwalla, B. D. Hoit, S. J. Park, G. H. Oliveira // *The Journal of Heart and Lung Transplantation* – 2015 – Vol.34, № 6 – P.761–765.

60. Gan, C. Surgical restoration of left ventricular diastolic function: possible treatment for noncompaction cardiomyopathy / C. Gan, J. Hu, S. Luo, Q. An, K. Lin // *Journal of Cardiac Surgery* – 2014 – Vol.29, № 6 – P. 827–828.

61. Grothoff, M. Value of cardiovascular MR in diagnosing left ventricular non-compaction cardiomyopathy and in discriminating between other cardiomyopathies / M. Grothoff, M. Pachowsky, J. Hoffmann, M. Posch, S. Klaassen et al. // *European Radiology* – 2012 – Vol. 22, № 12 – P. 2699–2709

62. Elliott, P.M. 2014 ESC Guidelines on diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy: The Task Force for the Diagnosis and Management of Hypertrophic Cardiomyopathy of the European Society of Cardiology (ESC) / P. M. Elliott, A. Anastasakis, M. A. Borger, M. Borggrefe, F. Cecchi et al. // *European Heart Journal* – 2014 – Vol. 35, № 39 – P. 2733–2779.

63. Wilkenshoff, U. *Spravočnik po éhokardiografii 82 tablicy* / U. Wilkenshoff, I. Kruck // 2014.

64. Mathew, T. Diagnosis and assessment of dilated cardiomyopathy: a guideline protocol from the British Society of Echocardiography / T. Mathew, L. Williams, G. Navaratnam, B. Rana, R. Wheeler et al. // *Echo Research and Practice* – 2017 – Vol.4, № 2 – P.G1–G13.

65. Sambrook, J. Isolation of High-molecular-weight DNA from Mammalian Cells Using Proteinase K and Phenol J. Sambrook, D. W. Russell // *Cold Spring Harbor Protocols* – 2017 – Vol. 2006, № 1.

66. Hershberger, R. E. Genetic Evaluation of Cardiomyopathy-A Heart Failure Society of America Practice Guideline / R. E. Hershberger, M. M. Givertz, C. Y. Ho, D. P. Judge, P. F. Kantor et al. // *Journal of Cardiac Failure* – 2018 – Vol. 24, № 5 – P. 281–302.

67. Chang B., Identification of a novel TPM1 mutation in a family with left ventricular noncompaction and sudden death / B. Chang, T. Nishizawa, M. Furutani, A.

Fujiki, M. Tani et al. // *Molecular Genetics and Metabolism* – 2011 – Vol. 102, № 2 – P. 200–206.

68. van den Wijngaard, A. Recurrent and founder mutations in the Netherlands: cardiac Troponin I (TNNI3) gene mutations as a cause of severe forms of hypertrophic and restrictive cardiomyopathy / A. van den Wijngaard, P. Volders, J. P. Van Tintelen, J. D. H. Jongbloed, M. P. van den Berg et al. // *Netherlands Heart Journal* – 2011 – Vol. 19, № 7–8 – P.344–351.

69. Huang, W. Novel familial dilated cardiomyopathy mutation in *MYL2* affects the structure and function of myosin regulatory light chain / W. Huang, J. Liang, C.-C. Yuan, K. Kazmierczak, Z. Zhou et al. // *FEBS Journal* – 2015 – Vol. 282, № 12 – P.2379–2393.

70. Dellefave, L. Sarcomere Mutations in Cardiomyopathy, Noncompaction, and the Developing Heart / L. Dellefave, E. M. McNally // *Circulation* – 2008 – Vol. 117, № 22 – P. 2847–2849.

71. Hermida-Prieto, M. Familial dilated cardiomyopathy and isolated left ventricular noncompaction associated with lamin A/C gene mutations / M. Hermida-Prieto, L. Monserrat, A. Castro-Beiras, R. Laredo, R. Soler // *The American Journal of Cardiology* – 2004 – Vol.94, № 1 – P. 50–54.

72. Olivotto, I. Gender-Related Differences in the Clinical Presentation and Outcome of Hypertrophic Cardiomyopathy / I. Olivotto, M. S. Maron, A. S. Adabag, S. A. Casey, D. Vargiu et al. // *Journal of the American College of Cardiology* – 2005 – Vol.46, № 3 – P. 480–487.

73. Terauchi, Y. Gender differences in the clinical features of hypertrophic cardiomyopathy caused by cardiac myosin-binding protein C gene mutations / Y. Terauchi, T. Kubo, Y. Baba, T. Hirota, K. Tanioka et al. // *Journal of Cardiology* – 2015 – Vol.65, № 5 – P. 423–428.

74. Рыжкова, О. П. «Руководство по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) / О. П. Рыжкова, О. Л.

Кардымон, Е. Б. Прохорчук, Ф. А. Коновалов, А. Б. Масленников и др. // *Медицинская генетика* – 2017 – Vol. 16, №7 – P. 4–17.

75. Nykamp, K. Sherlock: a comprehensive refinement of the ACMG–AMP variant classification criteria / K. Nykamp, M. Anderson, M. Powers, J. Garcia, B. Herrera et al. // *Genetics in Medicine* – 2017 – Vol. 19, №10 – P. 1105–1117.

76. Harrison, S. M. Clinical laboratories collaborate to resolve differences in variant interpretations submitted to ClinVar / S. M. Harrison, J. S. Dolinsky, A. E. Knight Johnson, T. Pesaran, D. R. Azzariti et al. // *Genetics in Medicine* – 2017 – Vol. 19, №10 – P. 1096–1104.

77. Whiffin, N. CardioClassifier: disease- and gene-specific computational decision support for clinical genome interpretation / N. Whiffin, R. Walsh, R. Govind, M. Edwards, M. Ahmad et al. // *Genetics in Medicine* – 2018 – Vol. 20, №10 – P. 1246–1254.

78. Li, S. Genotype-Positive Status Is Associated With Poor Prognoses in Patients With Left Ventricular Noncompaction Cardiomyopathy / S. Li, C. Zhang, N. Liu, H. Bai, C. Hou et al. // *Journal of the American Heart Association* – 2018 – Vol. 7, №20.

79. Richard, P. Targeted panel sequencing in adult patients with left ventricular non-compaction reveals a large genetic heterogeneity / P. Richard, F. Ader Maguelonne Roux, E. Donal, J.-C. Eicher et al. // *Clinical Genetics* – 2019 – Vol. 95, №3 – P. 356–367.

80. Hershberger, R. E. Coding Sequence Mutations Identified in *MYH7*, *TNNT2*, *SCN5A*, *CSRP3*, *LBD3*, and *TCAP* from 313 Patients with Familial or Idiopathic Dilated Cardiomyopathy / R. E. Hershberger, S. B. Parks, J. D. Kushner, D. Li, S. Ludwigsen et al. // *Clinical and Translational Science* – 2008 – Vol. 1, №1 – P. 21–26.

81. Jordan, D. M. Development and Validation of a Computational Method for Assessment of Missense Variants in Hypertrophic Cardiomyopathy / D. M. Jordan, A.



Kiezun, S. M. Baxter, V. Agarwala, R. C. Green et al. // *The American Journal of Human Genetics* – 2011 – Vol. 88, №2 – P.183–192.

82. Helms, A. S. Sarcomere Mutation-Specific Expression Patterns in Human Hypertrophic Cardiomyopathy / A. S. Helms, F. Davis, D. Coleman, S. Bartolone, A. A. Glazier et al. // *Circulation: Cardiovascular Genetics* – 2014 – Vol. 7, № 4 – P. 434–443.

83. Homburger, J. R. Multidimensional structure-function relationships in human  $\beta$ -cardiac myosin from population-scale genetic variation / J. R. Homburger, E. M. Greenb, C. Caleshuc, M. S. Sunithad, R. E. Taylor et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences* – 2016 – Vol. 113, № 24 – P. 6701–6706.

84. Kelly, M. A. Adaptation and validation of the ACMG/AMP variant classification framework for MYH7-associated inherited cardiomyopathies: recommendations by ClinGen's Inherited Cardiomyopathy Expert Panel / M. A. Kelly, C. Caleshu, A. Morales, J. Buchan, Z. Wolf et al., for the ClinGen Cardiovascular Clinical Domain Working Group // *Genetics in Medicine* – 2018 – Vol. 20, №3 – P. 351–359.

85. Semsarian, C. New Perspectives on the Prevalence of Hypertrophic Cardiomyopathy / C. Semsarian, J. Ingles, M. S. Maron, B. J. Maron // *Journal of the American College of Cardiology* – 2015 – Vol. 65, № 12 – P. 1249–1254.

86. Hershberger, R. E. Dilated cardiomyopathy: the complexity of a diverse genetic architecture / R. E. Hershberger, D. J. Hedges, A. Morales // *Nature Reviews Cardiology* – 2013 – Vol. 10, №9 – P. 531–547.

87.; Richards, S. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology / S. Richards, N. Aziz, S. Bale, D. Bick, S. Das et al., on behalf of the ACMG Laboratory Quality Assurance Committee // *Genetics in Medicine* – 2015 – Vol.17, №5 – P. 405–423.

88. Pugh, T. J. The landscape of genetic variation in dilated cardiomyopathy as surveyed by clinical DNA sequencing / T. J. Pugh, M. A. Kelly, S. Gowrisankar, E. Hynes, M. A. Seidman et al. // *Genetics in Medicine* – 2015 – Vol. 16, №8 – P. 601–608.
89. Ehlermann, P. Adverse events in families with hypertrophic or dilated cardiomyopathy and mutations in the *MYBPC3* gene / P. Ehlermann, D. Weichenhan, J. Zehelein, H. Steen, R. Pribe et al. // *BMC Medical Genetics* – 2008 – Vol.9 – P. 95.
90. Erdmann, J. Spectrum of clinical phenotypes and gene variants in cardiac myosin-binding protein C mutation carriers with hypertrophic cardiomyopathy / J. Erdmann, J. Raible, J. Maki-Abadi, J. Hammann, B. Wollnik et al. // *Journal of the American College of Cardiology* – 2001 – Vol. 38, №2 – P. 322–330.
91. van Velzen, H. G. Clinical Characteristics and Long-Term Outcome of Hypertrophic Cardiomyopathy in Individuals With a *MYBPC3* (Myosin-Binding Protein C) Founder Mutation / H. G. van Velzen, A. F.L. Schinkel, R. A. Oldenburg, M. A. van Slegtenhorst, I. M.E. Frohn-Mulder et al. // *Circulation: Cardiovascular Genetic* – 2017 – Vol.10, №4.
92. Barefield, D. Haploinsufficiency of Cardiac Myosin Binding Protein-C in the Development of Hypertrophic Cardiomyopathy / D. Barefield // *Dissertations*– 2014 – №1249.
93. Hershberger, R. E. Progress with genetic cardiomyopathies: screening, counseling, and testing in dilated, hypertrophic, and arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy / R. E. Hershberger, J. Cowan, A. Morales, J. D. Siegfried // *Circulation: Heart Failure* – 2009 – Vol.2, №3 – P. 253–261
94. Monserrat, L. Mutation in the alpha-cardiac actin gene associated with apical hypertrophic cardiomyopathy, left ventricular non-compaction, and septal defects / L. Monserrat, M. Hermida-Prieto, X. Fernandez Isabel Rodríguez, C. Dumont et al. // *European Heart Journal* – 2007 – Vol. 28, №16 – P.1953–1961.

95. Yoshida, Y. A novel *ACTC1* mutation in a young boy with left ventricular noncompaction and arrhythmias / Y. Yoshida, K. Hirono, K. Nakamura, T. Suzuki, Y. Hata, N. Nishida // *HeartRhythm Case Reports* – 2016 – Vol.2, №1 – P.92–97.

96. Rodríguez-Serrano, M. Familial Left Ventricular Noncompaction Associated With a Novel Mutation in the Alpha-cardiac Actin Gene / M. Rodríguez-Serrano, D. Domingo, B. Igual, A. Cano, P. Medina, E. Zorio // *Revista Española de Cardiología (English Edition)* – 2014– Vol.67, №10 – P. 857–859.

97. Ichida, F. Novel gene mutations in patients with left ventricular noncompaction or Barth syndrome / F. Ichida, S. Tsubata, K.R. Bowles, N. Haneda, K. Uese et al. // *Circulation* – 2001 – Vol. 103, №9 – P. 1256–1263.

98. Cao, Q. Phenotype and Functional Analyses in a Transgenic Mouse Model of Left Ventricular Noncompaction Caused by a *DTNA* Mutation / Q. Cao, Y. Shen, X. Liu, X. Yu, P. Yuan et al. // *International Heart Journal* – 2017 – Vol. 58, №6 – P. 939–947.

99. Brayson, D. Current insights into *LMNA* cardiomyopathies: Existing models and missing LINC's / D. Brayson, C. M. Shanahan // *Nucleus* – 2017 – Vol. 8, № 1 – P. 17–33.

100. Благова, О.В. Трансплантация сердца как метод лечения прогрессирующей кардиомиопатии у больных с первичными миодистрофиями / О.В. Благова, А.В. Недоступ, В.П. Седов, Е.А. Коган, А.Г. Шестак, М.Е. Поляк, Е.В. Заключьминская // *Клиническая и экспериментальная хирургия* – 2017 – №3 (17) – С. 34-48.

101. Goldfarb, L. G. Missense mutations in desmin associated with familial cardiac and skeletal myopathy / L. G. Goldfarb, K.-Y. Park, L. Cervenáková, S. Gorokhova, H.-S. Lee et al. // *Nature Genetics* – 1998 – Vol. 19, №4 – P. 402–403.

102. van Acker, H. Dilated cardiomyopathy caused by a novel *TNNT2* mutation-added value of genetic testing in the correct identification of affected subjects / H. Van

Acker, J. De Sutter, K. Vandekerckhove, T. J. L. de Ravel, H. Verhaaren, J. De Backer // *International Journal of Cardiology* – 2010 – Vol. 144, №2 – P. 307–309.

103. Sommese, R. F. Effects of troponin T cardiomyopathy mutations on the calcium sensitivity of the regulated thin filament and the actomyosin cross-bridge kinetics of human  $\beta$ -cardiac myosin / R. F. Sommese, S. Nag, S. Sutton, S. M. Miller, J. A. Spudich, K. M. Ruppel // *PLoS ONE* – 2013 – Vol. 8, №12 – P.e83403.

104. Kassem, H. S. A comparative study of mutation screening of sarcomeric genes (*MYBPC3* , *MYH7* , *TNNT2*) using single gene approach versus targeted gene panel next generation sequencing in a cohort of HCM patients in Egypt / H. Sh. Kassem, R. Walsh, P. J. Barton, B. S. Abdelghany, R. S. Azer et. al. // *Egyptian Journal of Medical Human Genetics* – 2017 – Vol.18, №4 – P.381–387.

105. Maron, B. J. Double or compound sarcomere mutations in hypertrophic cardiomyopathy: A potential link to sudden death in the absence of conventional risk factors / B. J. Maron, M. S. Maron, C. Semsarian // *Heart Rhythm* – 2012 – Vol. 9, №1 – P.57–63.

106. Fatkin, D. Neonatal cardiomyopathy in mice homozygous for the Arg403Gln mutation in the  $\alpha$  cardiac myosin heavy chain gene / D. Fatkin, M. E. Christe, O. Aristizabal, B. K. McConnell, S. Srinivasan et al. // *Journal of Clinical Investigation* – 1999 – Vol.103, №1 – P.147–153.