

Генетические факторы риска дилатационной кардиомиопатии

Вайханская Т. Г.¹, Сивицкая Л. Н.², Левданский О. Д.², Курушко Т. В.¹, Даниленко Н. Г.²

Цель. Изучение диагностической значимости генетического тестирования у пациентов с дилатационной кардиомиопатией (ДКМП), выявление предикторов жизнеопасных желудочковых тахикардий (ЖТА) и оценка неблагоприятных клинических исходов в разных генетических группах.

Материал и методы. В исследование включили 126 неродственных пациентов с верифицированной ДКМП: 70 (55,6%) пробандов с критериями семейной формы заболевания и 56 (44,4%) лиц с вероятным наследственным компонентом. Всем пациентам (возраст 43,1±11,3 лет; 92/73% муж.; фракция выброса левого желудочка 30,6±8,43%; конечно-диастолический диаметр левого желудочка 68,3±8,36 мм; период наблюдения — медиана 49 мес.) проведен комплекс клинико-инструментальных исследований и генетический скрининг методом секвенирования нового поколения с последующей верификацией вариантов по методу Sanger.

Результаты. Патогенные и вероятно патогенные генетические варианты обнаружены у 61 (48,4%) из 126 пациентов с ДКМП. Доминирующими мутациями были укорачивающие варианты в гене титина (*TTNtv*), идентифицированные у 16 лиц (12,7%), и варианты ламина А/С (*LMNA*), выявленные у 13 пробандов (10,3%); мутации в других 19 генах обнаружены у 32 (25,4%) пациентов. Для анализа в качестве первичной конечной точки были приняты: внезапная сердечная смерть (ВСС), эпизоды ЖТА (устойчивой желудочковой тахикардии/фибрилляции желудочков) и обоснованные разряды имплантированных сердечной ресинхронизирующей терапии (СРТ)-Д/кардиовертер-дефибрилляторов (КВД) устройств. В результате ROC анализа определены независимые факторы риска ВСС: мутации в гене *LMNA* (AUC 0,760; $p=0,0001$) и неустойчивая быстрая желудочковая тахикардия (пороговое значение частоты сердечных сокращений ≥ 161 уд./мин: AUC 0,788; $p=0,0001$). При сравнении фенотипов ДКМП выявлены ассоциации *TTNtv* генотипа с меньшей частотой развития полной блокады левой ножки пучка Гиса ($\chi^2=7,46$; $p=0,024$), меньшей потребностью в имплантации СРТ/КВД ($\chi^2=5,70$; $p=0,017$) и более редкими эпизодами устойчивой желудочковой тахикардии/фибрилляции желудочков ($\chi^2=30,1$; $p=0,0001$) по сравнению с *LMNA* носителями.

Результаты анализа Каплан-Мейера продемонстрировали худший прогноз у носителей *LMNA* мутаций как в отношении жизнеопасных ЖТА (log rank $\chi^2=88,5$; $p=0,0001$), так и в достижении всех неблагоприятных исходов ($\chi^2=27,8$; $p=0,0001$) по сравнению с группами ген-негативных лиц, носителей *TTNtv* и других генотипов.

Заключение. Фенотипы ДКМП с *TTNtv* значимо не отличались по частоте развития ЖТА и неблагоприятных исходов по сравнению с ген-негативной группой и другими генотипами (за исключением *LMNA*). Ассоциации *LMNA* мутаций с ЖТА определены на уровне прогностической значимости, что подтверждает важную роль молекулярной диагностики *LMNA* генотипа как неотъемлемой части интегральной клинической оценки ДКМП для стратификации риска ВСС.

Ключевые слова: внезапная сердечная смерть, генетический скрининг, дилатационная кардиомиопатия, ген ламина А/С (*LMNA*), ген титина (*TTN*), предикторы риска.

Отношения и деятельность. Научно-техническая программа Союзного государства “ДНК-идентификация” № ДНК/2017-6.6а.

ID исследования: № НИОКТР 20171973.

¹ГУ Республиканский научно-практический центр “Кардиология”, Минск; ²ГНУ Институт генетики и цитологии Национальной Академии наук Беларуси, Минск, Беларусь.

Вайханская Т. Г.* — к.м.н., в.н.с. лаборатории медицинских информационных технологий, ORCID: 0000-0002-2127-8525, Сивицкая Л. Н. — к.б.н., в.н.с. лаборатории нехромосомной наследственности, ORCID: 0000-0001-6359-4967, Левданский О. Д. — к.б.н., с.н.с. лаборатории нехромосомной наследственности, ORCID: 0000-0002-3325-0917, Курушко Т. В. — врач отделения функциональной диагностики, ORCID: 0000-0001-5727-3219, Даниленко Н. Г. — к.б.н., в.н.с. лаборатории нехромосомной наследственности, ORCID: 0000-0002-3270-3080.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

tat_vaikh@mail.ru

АВБ — атриовентрикулярная блокада, ВСС — внезапная сердечная смерть, ГКМП — гипертрофическая кардиомиопатия, ДИ — доверительный интервал, ДКМП — дилатационная кардиомиопатия, ЖТА — желудочковые тахикардии, КВД — кардиовертер-дефибриллятор, КМП — кардиомиопатия, КДД — конечно-диастолический диаметр, КДО — конечно-диастолический объем, ЛЖ — левый желудочек, МЖП — межжелудочковая перегородка, ПБЛНПГ — полная блокада левой ножки пучка Гиса, СЛР — сердечно-легочная реанимация, нЖТ — неустойчивая желудочковая тахикардия, СРТ — сердечная ресинхронизирующая терапия, СН — сердечная недостаточность, ТС — трансплантация сердца, Т6МХ — тест 6-минутной ходьбы, уЖТ — устойчивая желудочковая тахикардия, ФВ — фракция выброса, ФЖ — фибрилляция желудочков, ФП — фибрилляция предсердий, ХМ — холтеровское мониторирование, ЧСС — частота сердечных сокращений, ЭКГ — электрокардиограмма, *LMNA* — ген ламина А/С, *TTN* — ген титина.

Рукопись получена 06.08.2021

Рецензия получена 24.09.2021

Принята к публикации 29.09.2021



Для цитирования: Вайханская Т. Г., Сивицкая Л. Н., Левданский О. Д., Курушко Т. В., Даниленко Н. Г. Генетические факторы риска дилатационной кардиомиопатии. *Российский кардиологический журнал*. 2021;26(10):4628. doi:10.15829/1560-4071-2021-4628

Genetic risk factors for dilated cardiomyopathy

Vaikhanskaya T. G.¹, Sivitskaya L. N.², Levdansky O. D.², Kurushko T. V.¹, Danilenko N. G.²

Aim. To study the diagnostic significance of genetic testing in patients with dilated cardiomyopathy (DCM), identify predictors of life-threatening ventricular tachyarrhythmias (VTAs) and assess adverse clinical outcomes in different genetic groups.

Material and methods. The study included 126 unrelated patients with verified DCM as follows: 70 (55,6%) probands with criteria for familial DCM and 56 (44,4%) individuals with a probable hereditary component. All patients (age, 43,1±11,3 years;

men, 92 (73%); left ventricular ejection fraction, 30,6±8,43%; left ventricular end-diastolic diameter, 68,3±8,36 mm; follow-up period — median, 49 months) receive a complex of diagnostic investigations, including genetic screening using next-generation sequencing, followed by verification of variants by the Sanger method.

Results. Pathogenic and likely pathogenic genetic variants were found in 61 (48,4%) of 126 patients with DCM. The dominant mutations were titin-truncating variants (*TTNtv*s), identified in 16 individuals (12,7%), and variants of lamin A/C (*LMNA*),

identified in 13 probands (10,3%). Mutations in the other 19 genes were found in 32 (25,4%) patients. The following primary endpoints were assessed: sudden cardiac death (SCD), episodes of VTA (sustained ventricular tachycardia/ventricular fibrillation) and appropriate shocks of implanted cardiac resynchronization therapy (CRT)/cardioverter defibrillators (CVD) devices. As a result of ROC analysis, the following independent risk factors for SCD were identified: mutations in the *LMNA* gene (AUC, 0,760; $p=0,0001$) and non-sustained ventricular tachycardia (cut-off heart rate ≥ 161 bpm: AUC, 0,788; $p=0,0001$). When comparing the phenotypes and genotypes of DCM, *TTNtv* genotype was associated with a lower prevalence of complete left bundle branch block ($\chi^2=7,46$; $p=0,024$), a lower need for CRT/CVD implantation ($\chi^2=5,70$; $p=0,017$) and more rare episodes of sustained ventricular tachycardia/ventricular fibrillation ($\chi^2=30,1$; $p=0,0001$) compared with *LMNA* carriers. Kaplan-Meier analysis showed the worst prognosis in carriers of *LMNA* mutations both in relation to life-threatening VTA (log rang $\chi^2=88,5$; $p=0,0001$) and in achieving all unfavorable outcomes ($\chi^2=27,8$; $p=0,0001$) compared with groups of gene-negative individuals, carriers of *TTNtv* and other genotypes.

Conclusion. The phenotypes of DCM with *TTNtv* did not significantly differ in the incidence of VTAs and adverse outcomes compared with the gene-negative group and other genotypes (with the exception of *LMNA*). The contribution of the associations of *LMNA* mutations with VTAs on prognosis was confirmed, which shows the important role of *LMNA* genotype diagnosis for SCD risk stratification in patients with DCM.

Дилатационная кардиомиопатия (ДКМП) является второй (после ишемической болезни сердца) причиной сердечной недостаточности (СН) и внезапной сердечной смерти (ВСС), а также ведущей причиной трансплантации сердца (ТС). Распространенность ДКМП составляет $>0,4\%$ в общей популяции [1, 2]. Заболевание отличается прогрессирующим течением СН — в течение 5 лет после установления диагноза без ТС умирают до 50% пациентов [3]. Семейная форма ДКМП встречается в 25-30% случаев. Генетическое тестирование в настоящее время позволяет идентифицировать патогенные варианты примерно у 15-25% пациентов с идиопатической ДКМП и у 20-50% пациентов с семейной ДКМП [4].

В отличие от генетических причин гипертрофической кардиомиопатии (ГКМП) (в основном мутации в генах саркомерных белков) и аритмогенной кардиомиопатии (КМП) (преимущественные варианты в генах десмосом), генетическая природа ДКМП имеет значительное разнообразие. В настоящее время количество генов-кандидатов, которые, как предполагается, могут детерминировать развитие ДКМП, превысило сотню [5], однако причина столь выраженной генетической гетерогенности остается не до конца изученной. Следует отметить также значительное совпадение генов, участвующих в патогенезе ДКМП, других КМП и каналопатий, феномен смешанных и перекрывающихся фенотипов. Предложенная гипотеза “общего финального пути” (final common pathway), согласно которой ДКМП является конечным фенотипом прогрессирования любой КМП и финальной точкой огромного множества возможных клеточных физиологических или метаболических путей в результате сетевого взаимодействия сотен генов, кодирующих разные ключевые белки, не может в полной мере объяснить этот феномен [5].

Keywords: sudden cardiac death, genetic screening, dilated cardiomyopathy, lamin A/C gene (*LMNA*), titin gene (*TTN*), risk predictors.

Relationships and Activities. Scientific and technical program of the Union State “DNA identification” № DNA/2017-6.6a.

Trial ID: № R&D 20171973.

¹Republican Scientific and Practical Center “Cardiology”, Minsk; ²Institute of Genetics and Cytology, Minsk, Belarus.

Vaikhanskaya T.G.* ORCID: 0000-0002-2127-8525, Sivitskaya L.N. ORCID: 0000-0001-6359-4967, Levдansky O.D. ORCID: 0000-0002-3325-0917, Kurushko T.V. ORCID: 0000-0001-5727-3219, Danilenko N.G. ORCID: 0000-0002-3270-3080.

*Corresponding author: tat_vaikh@mail.ru

Received: 06.08.2021 **Revision Received:** 24.09.2021 **Accepted:** 29.09.2021

For citation: Vaikhanskaya T.G., Sivitskaya L.N., Levдansky O.D., Kurushko T.V., Danilenko N.G. Genetic risk factors for dilated cardiomyopathy. *Russian Journal of Cardiology*. 2021;26(10):4628. doi:10.15829/1560-4071-2021-4628

Высокая гетерогенность генов и мутаций, ассоциированных с ДКМП, сложность интерпретации патогенности вариантов, расширенное понимание генотип-фенотипических корреляций, отражает текущее состояние проблемы и некоторые пробелы в знаниях молекулярного патогенеза КМП, воздействия генов-модификаторов и средовых влияний на базовый генетический профиль человека.

По данным многоцентровых исследований, среди генов, вовлеченных в патогенез ДКМП, по распространенности лидирует ген самого большого белка — титина (*TTN*). Мутации в этом гене, приводящие к укорочению белка — *TTNtv* (от англ. truncating variants of *TTN*), являются наиболее частотой причиной ДКМП. В 19-25% случаев они ассоциированы с семейной формой заболевания и в 11-18% связаны с развитием спорадических форм [6]. Согласно последним данным, *TTNtv* ассоциируются с перипаретальной [7] и алкогольной [8] КМП, а также с антрациклин-опосредованной КМП, индуцированной химиотерапией [9].

Другой наиболее распространенный ген, кодирующий белки ядерной пластинки — ламины А/С (*LMNA*), встречается в 4-11% случаев ДКМП, в т.ч. в 35-40% случаев аритмических фенотипов с нарушениями проводимости [10]. Изучение генотип-фенотипических корреляций и сравнение долгосрочных результатов в многоцентровых исследованиях больших когорт ДКМП показало, что мутации в определенных генах (например, варианты *LMNA*, *DES*, *PLN* и *FLNC*) связаны с высоким риском фатальных аритмий [5, 10, 11]. Некоторые исследования продемонстрировали хорошую эффективность оптимальной медикаментозной терапии у носителей *TTNtv* на ранней стадии болезни с обратимостью дилатационного ремоделирования миокарда [12, 13]. Однако

Таблица 1

Клиническая характеристика 126 пациентов, включенных в исследование

Клиническая оценка пациентов с ДКМП, n=126	Количество, n (%)
Семейный анамнез ранней ВСС или кардиомиопатии, n (случаи)	70 (55,6)
Сопутствующие нейромышечные болезни, n (случаи)	7 (5,56)
Персистирующая или перманентная ФП, n (пациенты)	22 (17,5)
Желудочковые или суправентрикулярные аритмии, n (лица)	108 (85,7)
Полная блокада левой ножки пучка Гиса, n (случаи)	56 (44,4)
Нарушение АВ проводимости (АВБ \geq 1 ст.), n	27 (21,4)
Пароксизмальная уЖТ/ФЖ или нЖТ, n	88 (69,8)
Морфофункциональные признаки	
Дилатация ЛЖ, n	126 (100)
Систолическая дисфункция ЛЖ, n	126 (100)
Гипертрофия ЛЖ или ПЖ, n (случаи)	81 (64,3)
Отсроченное накопление гадолиния (LGE), n	61 (48,4)
Дилатация или дисфункция ПЖ, n	44 (34,9)

Сокращения: АВ — атриовентрикулярная, АВБ — атриовентрикулярная блокада, ВСС — внезапная сердечная смерть, ДКМП — дилатационная кардиомиопатия, ЛЖ — левый желудочек, ПЖ — правый желудочек, уЖТ — устойчивая желудочковая тахикардия, нЖТ — неустойчивая желудочковая тахикардия, ФЖ — фибрилляция желудочков, ФП — фибрилляция предсердий.

аритмический синдром и долгосрочные прогнозы титинопатий при *TTNv*-генотипах менее изучены и представлены в настоящее время спорными и противоречивыми результатами. Так, результаты исследований Roberts A, et al. (2015) показали более выраженную дисфункцию и дилатацию левого желудочка (ЛЖ) у *TTNv* носителей [14], а в работе Corden B, et al. (2019) обнаружены ассоциации *TTNv* с жизнеопасными и клинически значимыми аритмиями у пациентов с ДКМП [15], в то время как в работах Vissing CR, et al. (2020) и Akhtar M, et al. (2020) значимых корреляций *TTN*-генотипа с фенотипом, а также ассоциаций *TTNv* с жизнеопасными желудочковыми аритмиями и более неблагоприятным прогнозом ДКМП не было обнаружено [16, 17].

Цель настоящего исследования — изучение генетического спектра семейной ДКМП, анализ генетических и фенотипических корреляций, выявление предикторов жизнеопасных желудочковых тахиаритмических (ЖТА) событий и оценка неблагоприятных клинических исходов в разных генетических группах.

Материал и методы

В период с 2016г по 2020г в исследование включили 126 неродственных пациентов с верифицированной ДКМП: 70 (55,6%) пациентов с семейной формой заболевания и 56 (44,4%) пациентов с возможным наследственным компонентом — с признаками вероятной генетической детерминанты (критерии Fatkin D, et al. (2020): ранние нарушения ритма и проводимости, предшествующие развитию ДКМП; ранний дебют ДКМП; сопутствующие нейромышечные аномалии; ген-специфические “красные флаги” электрокардиограммы (ЭКГ); имплантированные кардио-устройства или синкопе у близких родственников

пробанда) [18]. Всем пациентам этой группы (средний возраст манифестации ДКМП составил $35,9 \pm 10,5$ лет; 92/73% мужчин; 26 пробандов с семейной историей необъяснимых ВСС; фракция выброса (ФВ) ЛЖ на момент генетического скрининга составила $30,6 \pm 8,43\%$, конечно-диастолический диаметр (КДД) ЛЖ — $68,3 \pm 8,36$ мм) проведен комплекс клинических исследований, включающих: физикальное обследование с детальным изучением семейного анамнеза и построением генеалогических схем в трёх поколениях; нейромышечное исследование с определением уровня сывороточной креатинфосфокиназы; эхокардиография с оценкой продольной деформации (GLS); 24-48ч холтеровское мониторирование (ХМ); тест 6-минутной ходьбы (Т6МХ); МРТ сердца с контрастированием; ЭКГ-12 (Интекард-7.3) с оценкой турбулентности сердечного ритма, индекса асимметрии зубца R (AsR), дисперсии интервала QT, теста микровольтной альтернации T-волны, пространственного угла QRS-T. Длительность интервала QT, амплитуду зубцов P и R, ширину QRS, фрагментацию комплекса QRS в 12 отведениях ЭКГ оценивали 2 независимых врача функциональной диагностики. У пациентов старше 35 лет интактность коронарных артерий была верифицирована с помощью R-контрастной селективной коронароангиографии или компьютерной томографии-ангиографии. Период наблюдения пациентов составил $50,2 \pm 16,6$ мес. Клиническая характеристика пациентов с ДКМП представлена в таблице 1.

Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом. При включении в исследование у всех участников (в т.ч. у родственников пробандов) было получено письменное информированное согласие. Исследование выполнялось в соответствии с принципами Хельсинкской декларации.

Таблица 2

Клинико-инструментальная характеристика пациентов с ДКМП

Клинико-инструментальные параметры	M±sd/n (%)	Me [Q1; Q3]
Возраст генетического скрининга, лет	43,1±11,3	43,5 [34; 53]
Возраст манифестации фенотипа ДКМП, лет	35,9±10,5	36 [26; 45]
Возраст дебюта ФП, лет	39,9±9,71	38 [20; 49]
Возраст дебюта АВБ ≥1ст., лет	34,6±11,9	33,5 [23; 44]
Период наблюдения, мес.	50,2±16,7	49 [37; 68]
Тест 6-минутной ходьбы, м	-	380 [276; 483]
Пол (мужской), n (%)	92 (73)	-
Желудочковая экстрасистолия в период 24 ч ХМ, n	-	809 [166; 2945]
Фрагментация QRS, случаи n (%)	75 (59,5)	-
Длительность QRS комплекса, мс	139±31,6	130 [105; 160]
Амплитуда Р-волны средняя, мм	-	1,8 [1; 2]
Амплитуда R-зубца средняя, мм	-	11 [7; 14]
Интервал PQ, мс	-	180 [145; 210]
Количество отведений ЭКГ-12 с фрагментацией QRS, n	-	3 [0; 5]
Пространственный угол QRS-T, градусы	-	126 [96; 147]
Микровольтная альтернация Т волны, мкВ	-	47 [20; 73]
Продольная деформация ЛЖ (GLS avg), " - " %	-	8,8 [5,7; 13]
Фракция выброса ЛЖ в В-режиме, %	30,6±8,43	29 [23; 36]
Конечно-диастолический объем ЛЖ, мл	-	234 [188; 286]
Конечно-систолический объем ЛЖ, мл	-	173 [110; 219]
Конечно-диастолический диаметр ЛЖ, мм	68,3±8,37	67,7 [61; 74]
Трансмитральный кровоток, соотношение E/A	-	2,1 [1,2; 2,95]
Трансмитральный кровоток, соотношение E/e'	-	10,4 [7,4; 15]
Фракция выброса ПЖ, %	44,4±10,1	44,5 [36; 53]
Фракция изменения площади ПЖ, %	-	34 [28; 42]
Конечно-систолический объем ПЖ, мл	-	37 [22; 58]
Конечно-диастолический объем ПЖ, мл	-	64 [48; 96]
Давление в легочной артерии среднее, мм рт.ст.	-	29,5 [25; 40]
Систолическая экскурсия кольца трикуспидального клапана — TAPSE, мм	-	15,5 [12; 19]
Уровень сывороточной креатинфосфокиназы, ед/мл	-	87,5 [55,5; 162]
Уровень сывороточного N-концевого натрийуретического пропептида В-типа, пг/мл	-	3456 [1356; 6890]

Сокращения: АВБ — атриовентрикулярная блокада, ДКМП — дилатационная кардиомиопатия, ЛЖ — левый желудочек, ПЖ — правый желудочек, ФП — фибрилляция предсердий, ХМ — холтеровское мониторирование, ЭКГ — электрокардиограмма.

Клинико-инструментальные данные и морфо-функциональная характеристика пациентов, включенных в исследование, представлены в таблице 2.

Геномная ДНК пациентов была использована для высокопроизводительного секвенирования (NGS, панель 174 генов) на приборе MiSeq System (Illumina Inc., США). Патогенность идентифицированных мутаций определяли согласно рекомендациям Американского Колледжа Медицинской Генетики (ACMG) с классификацией вариантов на пять категорий: патогенные (pathogenic variant, PV), вероятно патогенные (likely pathogenic variant, LPV), варианты неопределённой клинической значимости (variant of unknown significance, VUS), вероятно доброкачественные и доброкачественные [19]. Для оценки клинической значимости генетических вариантов использовались базы популяционных частот

(ESP6500, gnomAD, 1000 Genomes), а также клинико-генетические базы данных CLINVAR, HGMD, LOVD и литературные данные. Патогенность генетических вариантов с популяционной частотой <0,01%, не зарегистрированных в указанных базах данных, определяли на основании сегрегационного анализа и с помощью соответствующих программ *in silico* (Revel, Polyphen2, SIFT, GeneSplicer). Верификацию выявленных мутаций проводили методом прямого автоматического секвенирования по методу Sanger.

Результаты секвенирования и сегрегационного исследования позволили разделить когорту пациентов на группы для статистического анализа. Ген-положительными считали пациентов с патогенными или вероятно патогенными вариантами с доказанной клинической значимостью, а также с новыми мутациями или нонсенс вариантами неизвестной

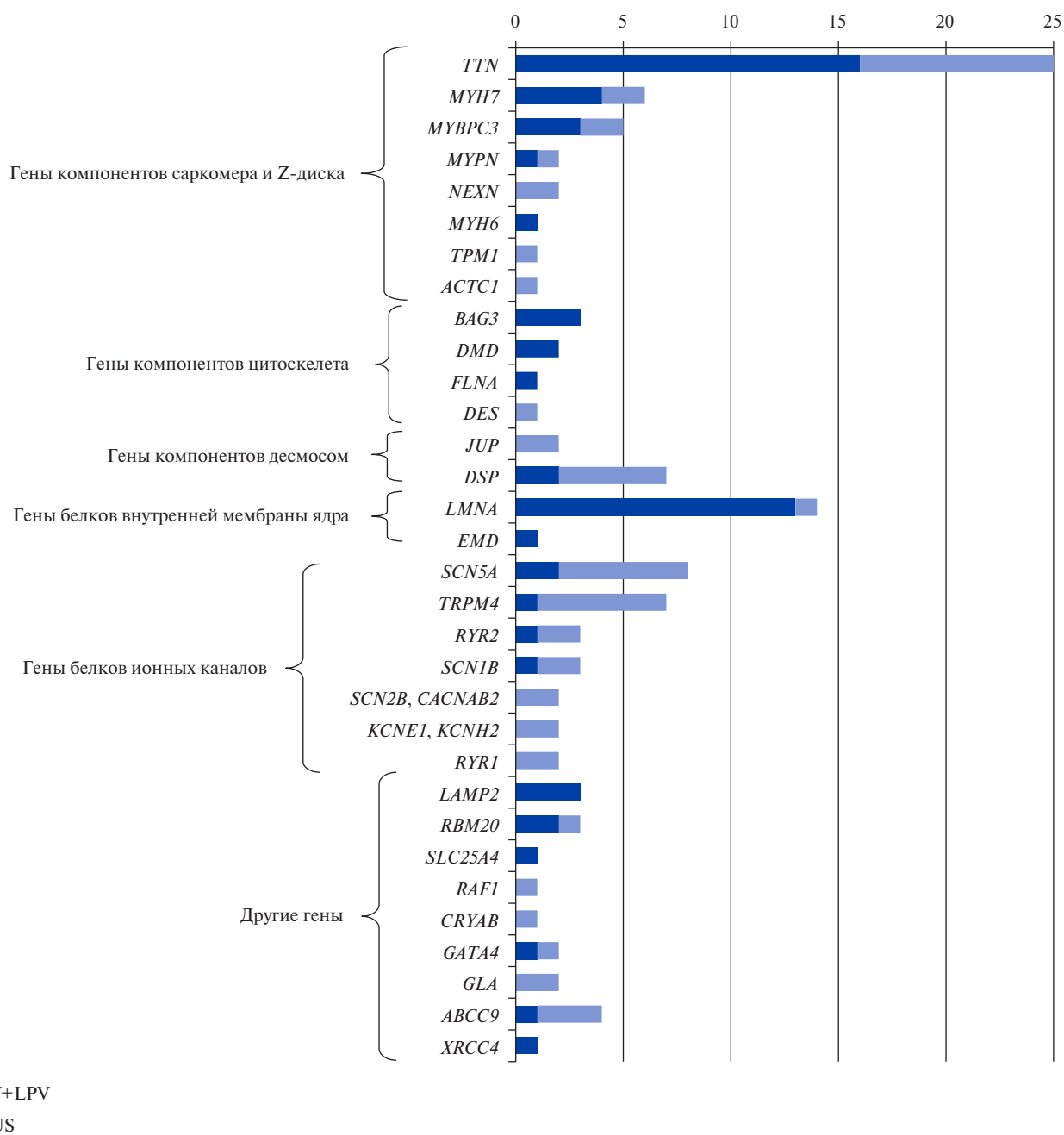


Рис. 1. Спектр генов, ассоциированных с развитием ДКМП, в анализируемой когорте.

значимости с крайне низкой ($<0,01\%$) распространенностью, для которых была установлена косегрегация с болезнью и предсказано патогенное действие *in silico*. В эту группу включили также носителей LOF-вариантов в генах (от “loss of function”: нонсенс, сплайсинг, со сдвигом рамки считывания), для которых известно, что такие мутации являются причиной заболевания. Ген-негативную группу составили пациенты с генетическими вариантами, соответствующими критериям доброкачественного значения или неизвестного значения (VUS) без доказательств предполагаемой патогенности.

Статистический анализ результатов исследования проводили с помощью биостатистических методов с использованием программы SPSS для Windows (версия 23.0) в соответствии с правилами вариационной статистики для парных и непарных величин, многофакторного и однофакторного анализа, непараметрических методов определения доверительных интервалов (ДИ), ROC анализа (с построением характеристических кривых) и анализа выживаемости (с построением кривых Каплан-Мейера).

Количественные параметры представлены в виде среднего арифметического значения (M) \pm средне-

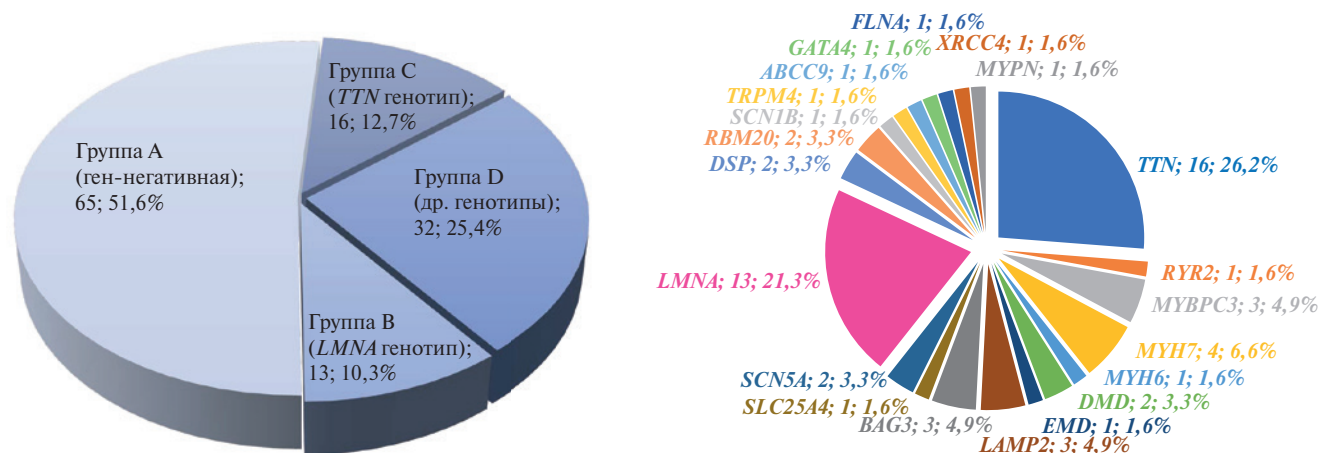


Рис. 2. Генотипическая структура пациентов с ДКМП.

Примечание: цветное изображение доступно в электронной версии журнала.

квадратичное отклонение среднего (sd), а также в виде медианы (Me) и квартилей [нижний Q1; верхний Q3] в случае асимметричного типа распределения переменных. Для проверки статистических гипотез о виде распределения был применен критерий Шапиро-Уилкса. Для анализа зависимости количественных признаков выборочных данных из совокупностей применяли ранговый коэффициент корреляции Спирмена (к). При сравнении независимых групп по одному качественному признаку были использованы методы непараметрической статистики (критерий χ^2 Пирсона и дихотомический χ^2 Мак-Немара). Статистически значимыми считали различия данных и корреляции между данными при $p < 0,05$.

Результаты

В период наблюдения (медиана 49 [37; 68] мес.) желудочковые тахикармические эпизоды — неустойчивые пароксизмы желудочковой тахикардии (нЖТ) и/или устойчивой желудочковой тахикардии (уЖТ) зарегистрированы у 88 (69,8%) пациентов. ТС выполнена 42 (33,3%) пациентам с резистентной к медикаментозной терапии СН (средний возраст при ТС составил $38,9 \pm 12,6$ лет), в 28 (22,2%) случаях (средний возраст $42,5 \pm 8,46$ лет) были имплантированы кардиовертер-дефибрилляторы (КВД) или ресинхронизирующие устройства с функцией КВД (СРТ-Д), и 24 (19,1%) пациентам имплантированы бивентрикулярные пейсмекеры (СРТ-П). Десяти пациентам (19,2%) из 52 лиц с имплантированными девайсами вследствие прогрессирующей СН в период наблюдения потребовалось выполнение ТС.

Аритмический синдром, атриовентрикулярные блокады (АВБ) (≥ 1 ст.) или синкопе/пресинкопе предшествовали клинической манифестации фенотипа в 34,1% ($n=43$) случаев ДКМП (средний возраст

$32,5 \pm 13,6$). Фибрилляция предсердий (ФП) выявлена у 22 (17,5%) пациентов при первом визите (дебют ДКМП) и у 12 (9,45%) — в период наблюдения, пароксизмы уЖТ или фибрилляции желудочков (ФЖ) зарегистрированы у 28 (22,2%) пробандов, в т.ч. синкопе с успешной сердечно-легочной реанимацией (СЛР) — у 14 (11,1%); в 17 (11,7%) случаях документированы летальные исходы: ВСС — 6, декомпенсация СН — 11.

В результате генетического исследования у 84 (66,7%) из 126 пациентов с ДКМП выявлено 119 вариантов, из них (согласно критериям ACMG) у 61 (48,4%) носителя мутации классифицированы как патогенные или вероятно патогенные (PV/LPV), а 58 вариантов соответствовали критериям VUS (в результате каскадного семейного скрининга для этих вариантов не установлена положительная косегрегация с заболеванием). Детальная структура всех идентифицированных генетических вариантов у пациентов с ДКМП и результаты классификации мутаций схематически представлены на рисунке 1.

Таким образом, у 61 (48,4%) пациента установлены генетические причины болезни — патогенные или вероятно патогенные мутации. Дигенные изменения (PV/LPV в сочетании с VUS вариантами) выявлены у 10 носителей, доля таких пациентов составила 7,94% от общей выборки. В спектре обнаруженных генетических вариантов доминировали мутации в генах белков саркомера ($n=24/39,3\%$): *TTN* ($n=16$), *MYH7* ($n=4$), *MYBPC3* ($n=3$), *MYH6* ($n=1$). В гене ламина А/С (*LMNA*), кодирующем белки ядерной мембраны, выявлено 13 патогенных вариантов (у 10,3% лиц общей выборки). В генах структурных белков (цитоскелет/Z-диск, ядро) и десмосом выявлены патогенные варианты у 11 носителей: *BAG3* ($n=3$), *MYPN* ($n=1$), *DMD* ($n=2$), *RBM20* ($n=2$), *EMD* ($n=1$), *DSP* ($n=2$); в генах транспортных белков ионных каналов обнаружено 6 мутаций: *SCN5A* ($n=2$),

Таблица 3

**Сравнительный анализ категориальных клинических и морфофункциональных параметров,
результаты сравнения пропорций**

Категориальные клинико-инструментальные переменные (наличие или отсутствие признака)		Пациенты с семейной формой (n=70) и вероятно семейной ДКМП (n=56)				Критерий Пирсона χ^2 , уровень значимости p, (степень свободы)
		Группа А (n=65)	Группа В (n=13)	Группа С (n=16)	Группа D (n=32)	
		Ген-негативные: n, % (группа*)	LMNA генотип: n, % (группа*)	TTNtv генотип: n, % (группа*)	Другие генотипы: n, % (группа*)	
Фиброз миокарда	нет	41 (B)* 63,1%	1 7,7%	7 43,8%	16 (B)* 50,0%	$\chi^2=13,9$ p=0,003 (3)
	есть	24 36,9%	12 (A, D)* 92,3%	9 56,3%	16 50,0%	
Гипертрабекулярность	нет	26 40,6%	6 46,2%	1 6,3%	11 34,4%	$\chi^2=7,40$ p=0,06 (3)
	есть	38 59,4%	7 53,8%	15 93,8%	21 65,6%	
АВБ	нет	55 (B)* 84,6%	6 46,2%	12 80,0%	25 78,1%	$\chi^2=9,49$ p=0,023 (3)
	есть	10 15,4%	7 (A)* 53,8%	3 20,0%	7 21,9%	
Полная блокада левой ножки пучка Гиса	нет	39 60,0%	5 41,7%	12 75,0%	13 40,6%	$\chi^2=6,78$ p=0,079 (3)
	есть	26 40,0%	7 58,3%	4 25,0%	19 59,4%	
Пол мужской	нет	16 24,6%	6 46,2%	2 12,5%	10 31,3%	$\chi^2=4,61$ p=0,203 (3)
	да	49 75,4%	7 53,8%	14 87,5%	22 68,8%	
Семейный анамнез кардиомиопатии или ВСС	нет	40 (B, D)* 61,5%	2 15,4%	6 37,5%	8 25,0%	$\chi^2=17,4$ p=0,001 (3)
	есть	25 38,5%	11 (A)* 84,6%	10 62,5%	24 (A)* 75,0%	
Трансплантация сердца	нет	44 68,8%	8 61,5%	12 75,0%	19 59,4%	$\chi^2=1,53$ p=0,674 (3)
	есть	20 31,3%	5 38,5%	4 25,0%	13 40,6%	
Фибрилляция предсердий	нет	57 (B)* 87,7%	7 53,8%	14 87,5%	26 81,3%	$\chi^2=8,93$ p=0,030 (3)
	есть	8 12,3%	6 (A)* 46,2%	2 12,5%	6 18,8%	
Все кардио-устройства (СРТ-П, СРТ-Д, КВД)	нет	39 60,0%	4 30,8%	13 (B)* 86,7%	17 54,8%	$\chi^2=9,17$ p=0,027 (3)
	есть	26 41,3%	9 (C)* 69,2%	2 13,3%	15 46,9%	
Устойчивая желудочковая тахикардия	нет	57 (B)* 87,7%	1 7,7%	15 (B)* 93,8%	25 (B)* 78,1%	$\chi^2=43,0$ p=0,0001 (3)
	есть	8 12,3%	12 (A, C, D)* 92,3%	1 6,3%	7 21,9%	
Композитная конечная точка	нет	39 (B)* 60,0%	2 15,4%	9 56,3%	11 34,4%	$\chi^2=12,1$ p=0,007 (3)
	есть	26 40,0%	11 (A)* 84,6%	7 43,8%	21 65,6%	

Примечание: * — А, В, С, D — коды групп генетических категорий по результатам сравнения пропорций на двусторонних критериях с уровнем значимости $p < 0,05$; для каждой значимой пары код категории с меньшей пропорцией столбца указан в категории (в столбце) с большей пропорцией. Критерии скорректированы для всех парных сравнений при помощи поправки Бонферрони.

Сокращения: АВБ — атриовентрикулярная блокада, ВСС — внезапная сердечная смерть, ДКМП — дилатационная кардиомиопатия, КВД — кардиовертер-дефибриллятор, СРТ — сердечная ресинхронизирующая терапия, LMNA — ген ламина А/С, TTN — ген титина.

RYR2 (n=1), *SCN1B* (n=1), *TRPM4* (n=1), *ABCC9* (n=1). Дилатационный фенотип как проявление мультигенного заболевания, выявленного у се- ми пациентов, был связан с мутациями в генах *FLNA* (n=1), *GATA4* (n=1), *XRCC4* (n=1), *SLC25A4* (n=1) и *LAMP2* (n=3).

Критерий Краскала-Уоллиса

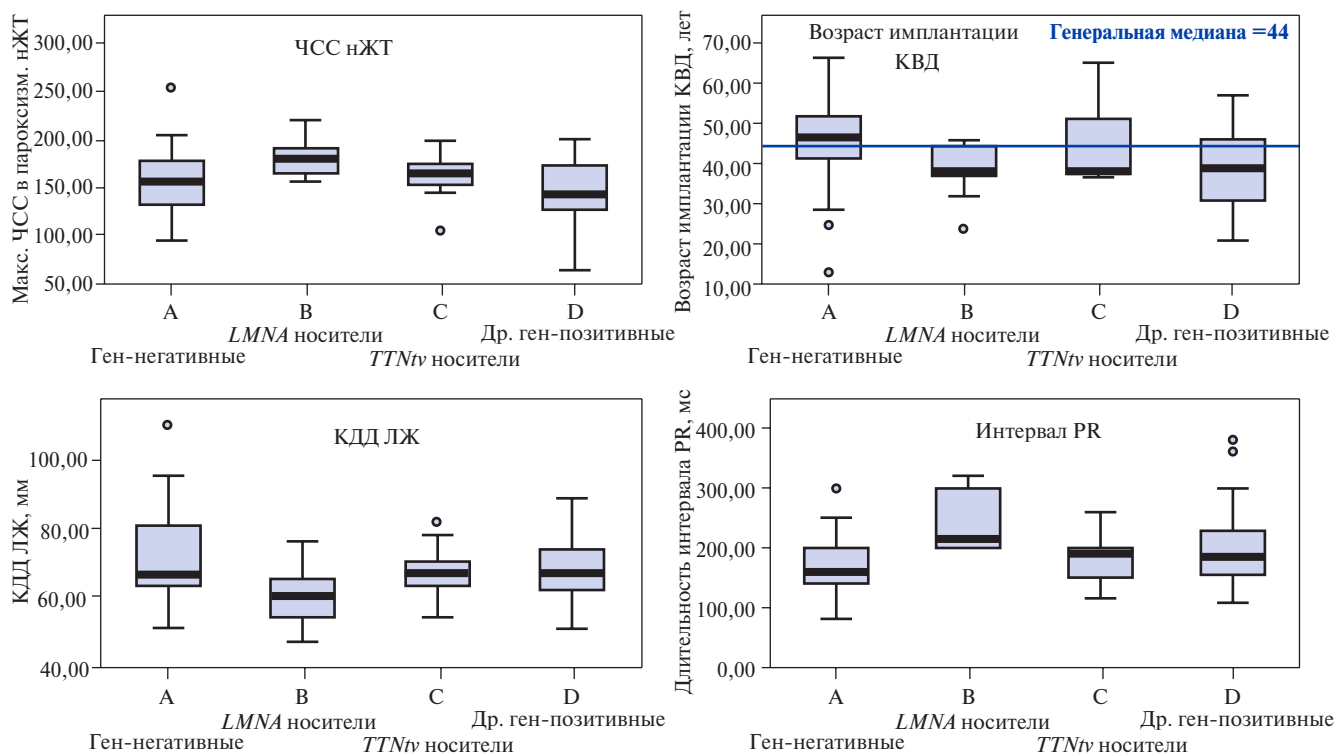


Рис. 3. Графики дисперсий значимых дискриминантных показателей (критерий Краскала-Уоллиса и медианный тест) в ген-негативной (А) группе ДКМП и у ген-позитивных лиц (группы В, С, D).

Сокращения: КВД — кардиовертер-дефибриллятор, КДД — конечно-диастолический диаметр, ЛЖ — левый желудочек, нЖТ — неустойчивая желудочковая тахикардия, ЧСС — частота сердечных сокращений.

В группе с семейной формой заболевания генетическая причина ДКМП определена в 45 (64,3%) случаях из 70, в то время как у пациентов с предположительной наследственной составляющей патогенные мутации выявлены у 16 (28,6%) из 56 лиц. У каждого второго пациента с признаками АВБ >1 ст. выявлены мутации в гене *LMNA*, а *TTNtv* и др. генотипы обнаружены у каждого пятого пациента с нарушением АВ проводимости. Результаты генотипирования и структура идентифицированных патогенных и вероятно патогенных генетических вариантов у пациентов с ДКМП схематически представлены на рисунке 2.

Для анализа фактора ген-позитивности и анализа генотип-фенотипических корреляций совокупную выборку пациентов (с наследственной и предположительно семейной формой ДКМП) разделили на четыре группы, сопоставимые по возрасту и полу: А) ген-негативные лица (n=65/51,6%); В) носители *LMNA* мутаций (n=13/10,3%), или *LMNA* генотип; С) носители *TTNtv* (n=16/12,7%), или *TTNtv* генотип; D) ген-позитивные пациенты с другими патогенными мутациями, или другие генотипы (n=32/25,4%).

В качестве первичной конечной точки для выполнения анализа были приняты аритмические жизнеопасные события: уЖТ или ФЖ (по данным

ХМ или телеметрии имплантированных устройств), ВСС, успешная СЛР, обоснованные шоковые разряды КВД/СРТ-Д. В качестве композитной конечной точки были приняты комбинированные неблагоприятные клинические исходы: смерть вследствие прогрессирования СН, ВСС, уЖТ/ФЖ, СЛР и ТС.

В результате сравнительного анализа (с применением критерия Пирсона χ^2) фенотипических признаков в группах ген-позитивных и ген-негативных лиц, выявлены значимые различия по частоте выявления АВБ (АВБ: $\chi^2=9,49$; p=0,023) и фиброза миокарда ($\chi^2=13,9$; p=0,003), распространенности синкопе или ВСС в анамнезе ($\chi^2=17,4$; p=0,001). Результаты сравнения представлены в таблице 3.

В результате сравнительного анализа выявлены ассоциации *LMNA* генотипа с эпизодами ЖТА (уЖТ, быстрая нЖТ) и с первичной конечной точкой. Связь с аритмическими неблагоприятными исходами (ВСС, уЖТ, СЛР) определена на уровне прогностической значимости (критерий Мак-Немара $\chi^2=50,7$; p=0,0001). И хотя в период наблюдения носители *LMNA* мутаций значимо не отличались от основной когорты ДКМП по частоте развития полной блокады левой ножки пучка Гиса (ПБЛНПГ), тяжести систолической дисфункции, ТС, функциональному классу СН, однако

Критерий Краскала-Уоллиса

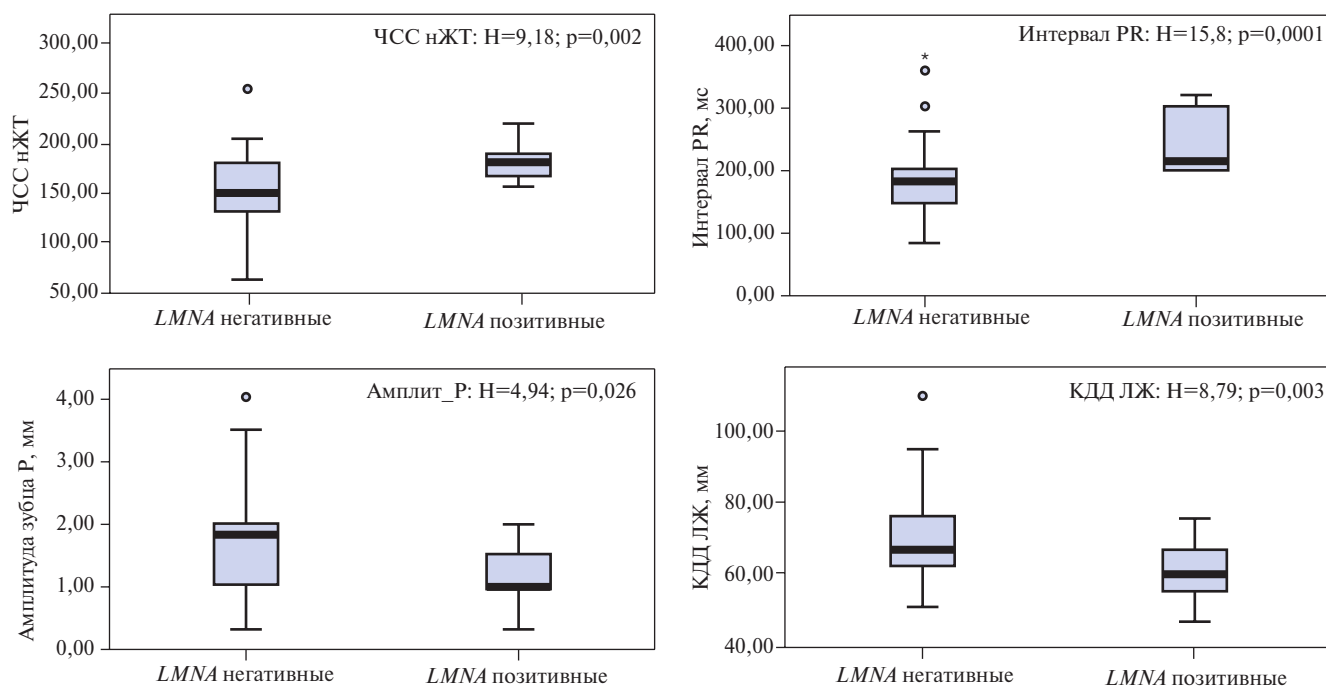


Рис. 4. Графики дисперсий значимых дискриминантных показателей *LMNA* положительной группы (группа В) в сравнении с *LMNA*-негативной группой (группы А+С+D).

Сокращения: КДД — конечно-диастолический диаметр, ЛЖ — левый желудочек, нЖТ — неустойчивая желудочковая тахикардия, ЧСС — частота сердечных сокращений.

по уровням достижения композитной конечной точки (Пирсон $\chi^2=6,33; p=0,012$), частоты имплантации СРТ/КВД устройств ($\chi^2=4,50; p=0,034$), частоты развития ФП ($\chi^2=8,28; p=0,004$) и АВБ ($\chi^2=8,91; p=0,003$), фиброза миокарда ($\chi^2=14,9; p=0,0001$) значительно превосходили по аналогичным показателям группы с ген-негативными пациентами и носителями других генетических мутаций (*TTNtv* и др. генотипы).

Необходимо отметить, что в целом группы ДКМП значимо не отличались по Т6МХ, степени систолической дисфункции, ширине и фрагментации комплекса QRS, количеству желудочковой эктопии и потребностям в ТС или ресинхронизирующей терапии при наличии ПБЛНПГ. Однако группа В (*LMNA* генотип) значимо отличалась от других групп (по H-критерию Краскала-Уоллиса) меньшими параметрами конечно-диастолического объема (КДО) ЛЖ ($H=13,5; p=0,004$) и КДД ЛЖ ($H=9,50; p=0,023$), увеличением интервала PR ($H=16,7; p=0,001$) и более высокой частотой сердечных сокращений (ЧСС) при пароксизмах неустойчивой ЖТ ($H=9,71; p=0,021$), а также младшим возрастом на момент имплантации КВД (Me 38,6; $H=9,62; p=0,022$). Графики сравнения медианных дисперсий, межквартильных, минимальных и максимальных значений для основных дискриминантных показателей представлены на рисунке 3.

В результате ANOVA анализа выявлены специфические ЭКГ признаки *LMNA* генотипа: снижение амплитудно-временных показателей ЭКГ — амплитуды волны P ($F=4,58; p=0,035$) и зубца R ($F=4,26; p=0,041$), увеличение длительности интервала PR ($F=16,5; p=0,0001$). Эти параметры коррелировали с распространенностью фиброза миокарда — обнаружены отрицательные корреляции амплитуды зубцов P и R ($k=-0,66; p<0,001$) и положительные корреляции PR интервала ($k=0,69; p<0,001$) с количеством сегментов миокардиального фиброза. Несмотря на то, что в отличие от других групп, ген-положительная *LMNA* группа отличалась меньшими размерами ЛЖ (КДО: $F=7,042; p=0,009$; конечно-систолический объем: $F=6,22; p=0,014$; КДД: $F=8,99; p=0,003$) при сопоставимой систолической дисфункции (ФВ ЛЖ $33,7\pm 13,1$ vs $30,2\pm 10,3$), степень диастолической дисфункции (Е/А: $F=6,184; p=0,014$) и фиброз миокарда (количество сегментов nLGE: $F=16,8; p=0,0001$) были значительно более выраженными. В результате дисперсионного анализа также определены различия по уровню сывороточной креатинфосфокиназы ($F=4,21; p=0,043$) и дисперсии интервала QT ($F=4,49; p=0,041$). Распределение медианных значений, квартилей и размахов основных дискриминантных параметров при сравнительном анализе *LMNA* положительных и *LMNA* негативных групп пациентов графически представлены на рисунке 4.

Критерий Краскала-Уоллиса

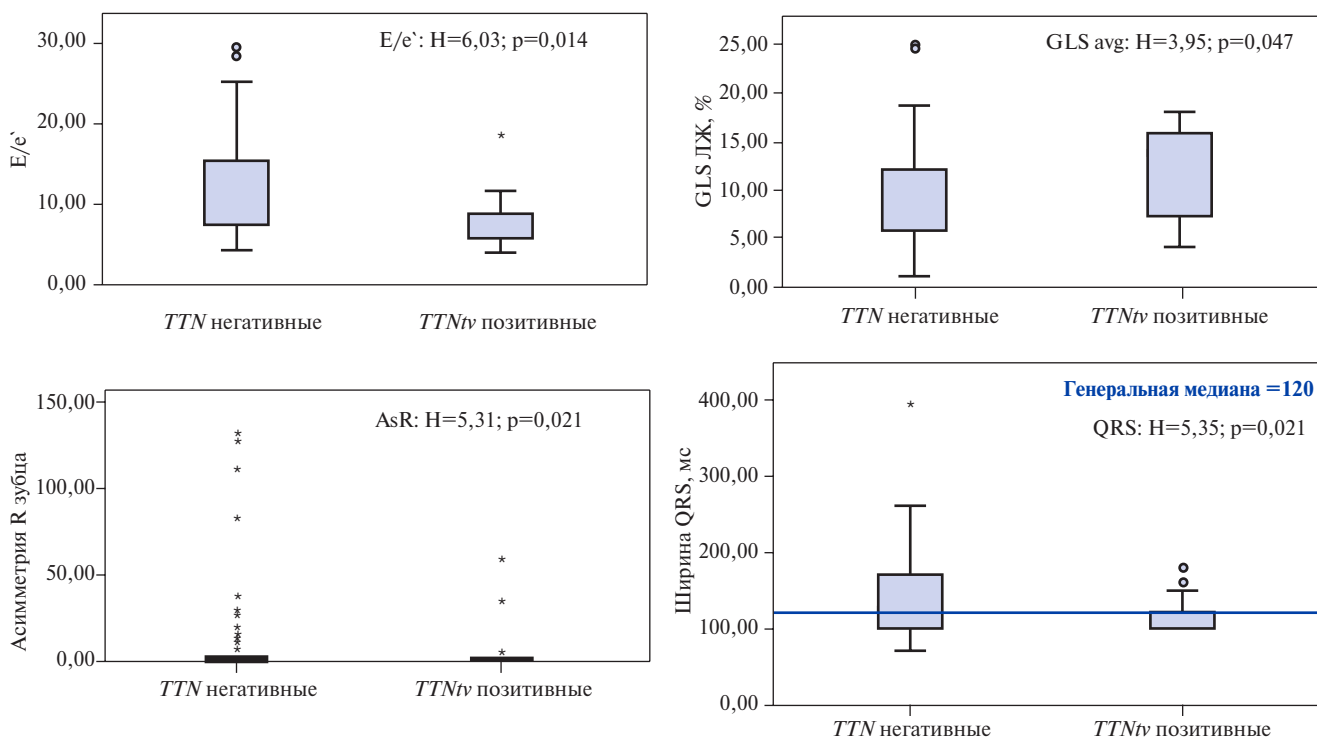


Рис. 5. Графики распределения показателей (критерий Краскала-Уоллиса и медианный тест) в *TTNtv* позитивной С группе по сравнению с *TTN* негативными пациентами (совокупность групп А+В+D).

Сокращение: ЛЖ — левый желудочек.

В результате однофакторного ANOVA анализа определены значимые отличия ЭКГ параметров у носителей *TTNtv* мутаций: выявлена меньшая длительность комплекса QRS ($F=5,35$; $p=0,021$) и увеличение дисперсии QT интервала ($F=4,61$; $p=0,034$). В отличие от других групп (А+В+D), пациенты с *TTNtv* генотипом отличались менее скомпрометированной сократительной функцией миокарда ЛЖ (GLS: $F=8,21$; $p=0,005$) и менее выраженной диастолической дисфункцией (E/e' : $F=4,81$; $p=0,031$); однако по степени негативного ремоделирования и систолической дисфункции ЛЖ (КДО, конечно-систолический объем, КДД, ФВ: $p>0,88$), по уровню биомаркера миокардиального стресса — N концевое натрийуретического пропептида В-типа (NT-proBNP) значимых различий не было обнаружено ($p=0,79$).

В результате проведенного анализа выявлены ассоциации *TTN* генотипа с более низким уровнем имплантаций СРТ/КВД устройств ($\chi^2=5,70$; $p=0,017$), что, вероятно, связано с меньшей частотой развития ПБЛНПГ ($\chi^2=7,46$; $p=0,024$) и эпизодов уЖТ/ФЖ ($\chi^2=30,1$; $p=0,0001$) по сравнению с другими генотипами. Группа (С) носителей *TTNtv* также отличалась гипертрабекулярным строением миокарда ЛЖ/правого желудочка и более высоким уровнем выявления синдрома некомпактного миокарда ($\chi^2=6,74$;

$p=0,009$). Дисперсии медианных и квартильных значений основных дискриминантных параметров (по критерию Краскала-Уоллиса) *TTNtv* позитивных и *TTN* негативных групп ДКМП графически представлены на рисунке 5.

При сравнении аритмических осложнений в группах В и С (*LMNA* и *TTNtv* носители) обнаружены более значимые ассоциации *LMNA* генотипа с эпизодами ЖТА (уЖТ, ФЖ, нЖТ: $\chi^2=8,22$; $p=0,016$) и с первичной конечной точкой ($\chi^2=20,2$; $p=0,0001$). Фенотипы с *TTNtv* отличались гипертрабекулярной структурой миокарда ($\chi^2=6,61$; $p=0,01$), меньшим уровнем заместительного фиброза ($\chi^2=5,56$; $p=0,018$) и более высокой частотой интерстициального фиброза ($\chi^2=7,98$; $p=0,015$) в сравнении с *LMNA* фенотипами ДКМП.

Для оценки первичной конечной точки (ВСС, эпизоды устойчивой ЖТ/ФЖ и обоснованные разряды КВД, зафиксированные в период наблюдения) проведен ROC анализ с построением характеристических ROC кривых. В результате многофакторного анализа определены два независимых фактора риска ВСС: PV/LPV миссенс и нонсенс мутации в гене *LMNA* (AUC 0,760; 95% ДИ: 0,636-0,883; $p=0,0001$; чувствительность 63%, специфичность 78%) и неустойчивая быстрая ЖТ (пороговое значение ЧСС ≥ 161 уд./мин: AUC 0,788; 95% ДИ: 0,693-0,883;

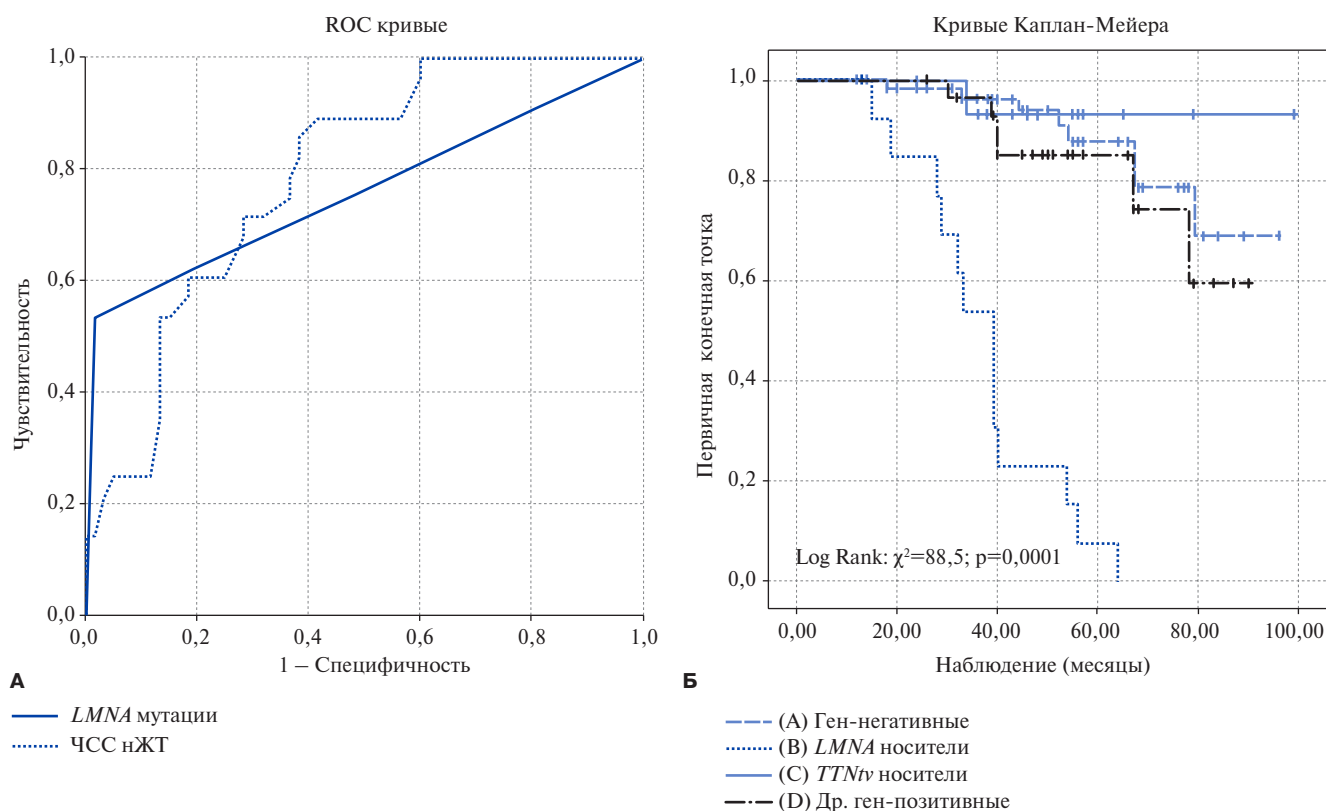


Рис. 6. ROC кривые (А) экспоненциального распределения факторов риска ВСС и кривые Каплан-Мейера (Б) с оценкой достижения аритмической первичной конечной точки носителями анализируемых генотипов.

Сокращения: нЖТ — неустойчивая желудочковая тахикардия, ЧСС — частота сердечных сокращений.

Таблица 4

Оценка предикторов и площади под ROC кривыми

Переменные результата проверки (факторы риска ВСС)	Область под кривой	Стандартная ошибка	Асимптотическая значимость	Асимптотический 95% ДИ	
				Нижняя граница	Верхняя граница
<i>LMNA</i> мутации	0,760	0,063	0,0001	0,636	0,883
ЧСС нЖТ	0,788	0,048	0,0001	0,693	0,883

Сокращения: ВСС — внезапная сердечная смерть, ДИ — доверительный интервал, нЖТ — неустойчивая желудочковая тахикардия, ЧСС — частота сердечных сокращений, *LMNA* — ген ламина А/С.

$p=0,0001$; чувствительность 70%, специфичность 70%). Результаты ROC анализа представлены на рисунке 6 А и в таблице 4.

Неблагоприятные клинические события зарегистрированы у 73 больных ДКМП: первичной конечной точки достигли 28 пациентов, комбинированной конечной точки — 65 пробандов, из них 17 лиц — с летальным исходом, эволюция от первичной до комбинированной конечной точки наблюдалась у 10 пациентов в 4-летнем периоде наблюдения. Для сравнения генотипов и оценки влияния генетической составляющей на функцию жизни и достижение первичной и комбинированной конечных точек (определение доли пациентов с ДКМП, свободных от достижения анализируемой конечной точки в зависимости от генотипа) проведен анализ Каплана-Мейера с постро-

ением кривых выживаемости. Для оценки кривых применили лог-ранговый критерий (Mantel-Cox). В результате анализа лог-функций и долей в достижении первичной конечной точки, выявлено драматически значимое отличие группы *LMNA* генотипа — самая низкая долевая свобода от аритмических ЖТА событий в период наблюдения ($\chi^2=88,5$; $p=0,0001$) по сравнению с другими генетическими группами (рис. 6 Б). При сравнительной оценке лог-функций и долей в достижении комбинированной конечной точки значимые различия в ген-позитивной и ген-негативной группах ($\chi^2=3,54$; $p=0,06$) не выявлены (рис. 7 А). Однако при сравнении отдельных генетических групп ДКМП (рис. 7 Б, табл. 4) выявлена высокая прогностическая значимость *LMNA* генотипа в достижении комбинированной конечной

Таблица 5

Оценка значимости кривых Каплана-Мейера при попарном сравнении основных генотипов

Критерий оценки	Генотип	Группа А (ген-негативный)		Группа В (LMNA генотип)		Группа С (TTNtv генотип)		Группа D (другие генотипы)	
		χ^2	p	χ^2	p	χ^2	p	χ^2	p
Log Rank (Mantel-Cox)	A	-	-	27,8	<0,001	0,22	0,642	1,81	0,178
	B	27,8	<0,001	-	-	11,4	0,001	15,4	0,000
	C	0,22	0,642	11,4	0,001	-	-	1,35	0,245
	D	1,81	0,178	15,4	<0,001	1,35	0,245	-	-

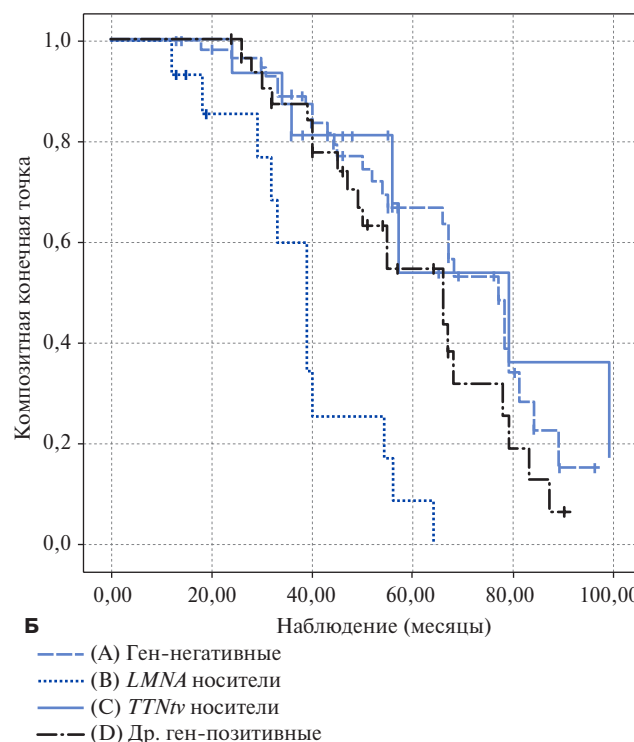
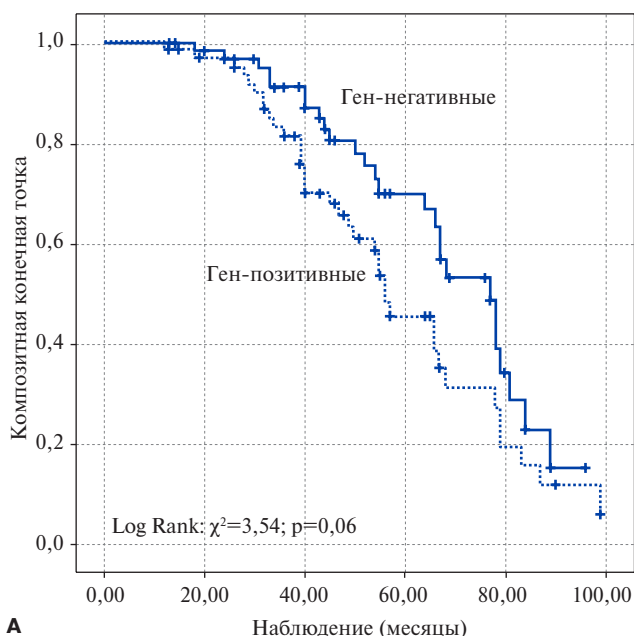


Рис. 7. Графики свободы от достижения композитной конечной точки (кривые выживаемости Каплана-Мейера) в зависимости от генотипа ДКМП: (А) ген-позитивные пациенты vs ген-негативные пациенты; (Б) кривые выживаемости пациентов 4 групп в зависимости от генотипа.

точки по сравнению с *TTNtv* генотипом ($\chi^2=11,4$; $p=0,001$), другими генотипами ($\chi^2=15,4$; $p=0,0001$) и ген-негативными пациентами с ДКМП ($\chi^2=27,8$; $p=0,0001$). Кривые выживаемости Каплана-Мейера представлены на рисунках 7 и 8. Попарно групповые оценки значимости кривых Каплана-Мейера представлены в таблице 5.

Таким образом, при сравнении генотипов и фенотипов ДКМП обнаружены строгие взаимосвязи между *LMNA* генотипом и неблагоприятными клиническими исходами. Кривые выживаемости Каплана-Мейера графически демонстрируют более высокую частоту всех неблагоприятных исходов (композитная конечная точка) у *LMNA* позитивных пациентов по сравнению с *TTNtv* и другими генотипами ДКМП (рис. 7 Б, 8 А), в то время как достижение комбинированной конечной точки у пациентов с *TTNtv* генотипом (по оценке кривых выживаемо-

сти) значимо не отличалось от *TTN* негативных пациентов (рис. 8 Б).

Результаты представленного анализа отражают сложный континуум клинической экспрессии *LMNA* генотипа ДКМП с более выраженными электрическими и морфоструктурными изменениями миокарда, определяющими наиболее неблагоприятный прогноз заболевания. Следует также отметить, что все родственные носители патогенных (*PV/LPV*) мутаций в гене *LMNA* к возрасту $33,4 \pm 4,9$ лет достигли полной пенетрантности фенотипа заболевания.

Обсуждение

В представленной когорте пациентов с ДКМП ($n=126$) выявлены мутации в >20 различных генах у 61 (48,4%) пробанда. Эти результаты подтверждают значительную генетическую гетерогенность заболевания. Доминирующие варианты обнаруже-

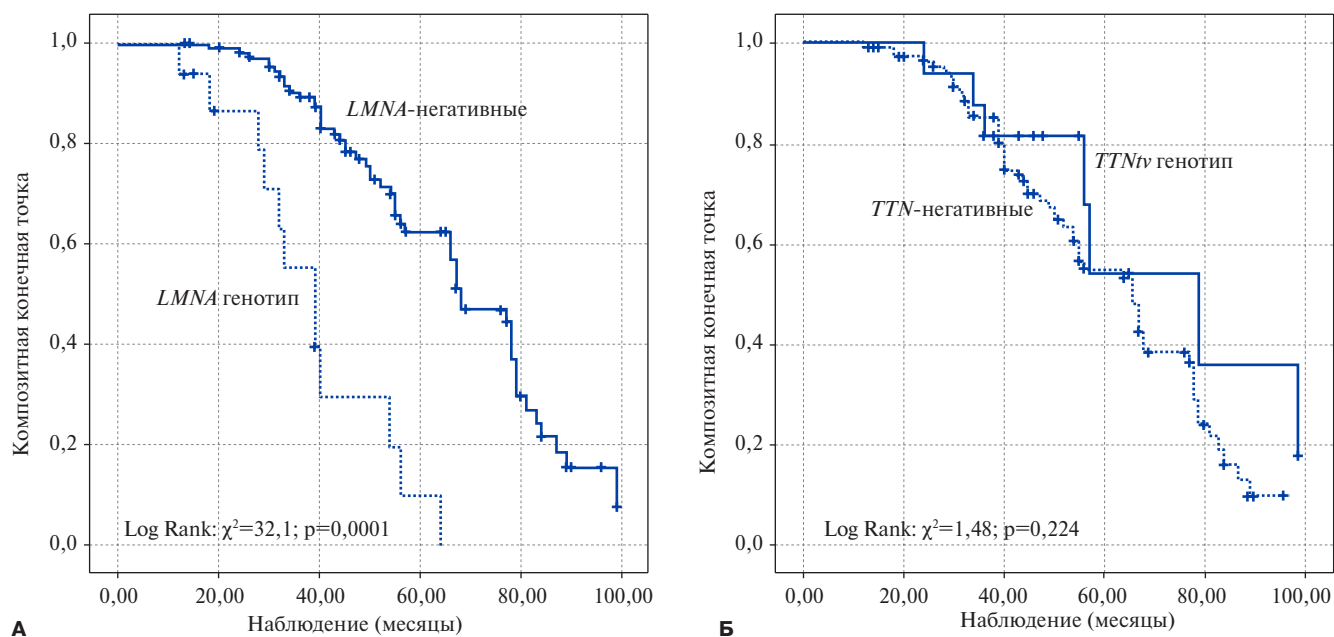


Рис. 8. Кривые выживаемости Каплана-Мейера: (А) при сравнении доли свободы от достижения композитной конечной точки у *LMNA* позитивных и *LMNA* негативных пациентов (группа В vs группы А+С+D) и (Б) при сравнении *TTNtv* позитивных и *TTNtv* негативных пациентов с ДКМП (группа С vs группы А+В+D).

ны у пациентов в генах *TTN* ($n=16/12,7\%$) и *LMNA* ($n=13/10,3\%$). Результаты сравнительного анализа основных генотипов, фенотип-генотипических корреляций и оценки клинических исходов ДКМП в представленном исследовании подтвердили выводы многочисленных экспертов о значительной аритмогенности *LMNA* генотипов, о высокой распространенности ФП, нарушений проводимости и жизнеопасных ЖТА у носителей *LMNA* мутаций [1, 20-22].

Ген *LMNA* (1q22) кодирует белок ядерной оболочки — ламин А/С. Необходимо отметить, что ламины — эволюционно консервативные белки, абсолютно необходимые для функционирования клеток. Ламины А/С задействованы в поддержании формы ядра, организации хроматина, репликации ДНК, экспрессии генов, сигнальной трансдукции, регуляции митоза. Точный механизм, при котором мутации в *LMNA* вызывают ДКМП и сердечную дисфункцию, все еще не выяснен. Однако накопленные клинические данные и экспериментальные модели на животных с *LMNA* мутациями указывают на то, что изменения в структуре ядерной ламины препятствуют передаче электрических сигналов и развитию адекватного молекулярного ответа на механический стресс в кардиомиоцитах. Кроме того, мутации в *LMNA* приводят к изменению организации хроматина и экспрессии генов, что реализует каскад реакций, приводящих к дисфункции сердечных клеток [20-22].

Среди *LMNA* вариантов, идентифицированных в представленном исследовании, подтверждены 3 frameshift,

1 сплайсинг, 1 non-frameshift и 8 миссенс мутаций. Из них в четырех случаях выявлены новые, не описанные ранее варианты. Их патогенность была подтверждена косегрегацией с болезнью у нескольких пораженных членов семьи, отсутствием в популяционных выборках, высокими баллами *in silico* и клиническим проявлением, характерным для *LMNA*-ассоциированной ДКМП.

Европейские рекомендации с 2016г дополнены прогностическими факторами, способствующими принятию решений в пользу имплантации КВД при выявлении двух факторов из следующих четырех: 1) ФВ ЛЖ <45% при первом обследовании, 2) пароксизмы нЖТ, 3) мужской пол и 4) нонсенс механизм мутаций *LMNA* [1]. В нашем исследовании не обнаружено гендерных аритмических различий и значимых проаритмогенных отличий между миссенс и нонсенс *LMNA* мутациями: в результате анализа жизнеопасных ЖТА событий выявлены два независимых предиктора ВСС — миссенс и нонсенс LPV/PV мутации в гене *LMNA* (AUC 0,760; $p=0,0001$) и быстрая нЖТ с ЧСС ≥ 161 уд./мин (AUC 0,788; $p=0,0001$).

В представленной когорте варианты *LMNA* были наиболее частой причиной семейной ДКМП (11/15,7% из 70 семейных случаев), варианты *TTNtv* были вторыми по частоте вариантами (10/14,3% из 70), тогда как в европейской популяции на долю *TTNtv* приходится 19-25% семейных форм ДКМП [5, 10, 23, 24]. Значимых фенотипических корреляций *TTN*-генотипа, ассоциаций *TTNtv* с жизнеопасными ЖТА и неблагоприятным прогнозом ДКМП авторы настоящего исследования не обнаружили; похо-

жие данные представлены в последних публикациях Vissing CR, et al. (2020) и Akhtar M, et al. (2020) [16, 17]. В изучаемой нами когорте признаки нарушения проводимости в виде ПБЛНПГ достаточно редко наблюдались у пациентов с *TTNtv* генотипом (4/25% из 16 *TTNtv* случаев vs 7/53,8% из 13 *LMNA* носителей, а также 19/59,4% из 32 других генотипов; $p=0,024$); соответственно, и потребность в имплантации СРТ-П и СРТ-Д была значительно ниже ($p=0,017$). Более низкая распространенность ПБЛНПГ у пациентов с кардио-титинопатиями ранее была обнаружена исследователями Franaszczyk M, et al. (2017) и Jansweijer JA, et al. (2017) [6, 12].

Ген титина (2q31.2) состоит из 364 экзонов и кодирует самый большой белок человека — титин (~38000 а.о.). Две нити этого протеина пронизывают каждый саркомер в антипараллельной ориентации. Долгое время исследование гена *TTN* было затруднительным из-за его огромного размера, но с развитием NGS технологии стал возможным его анализ, и удалось подтвердить связь мутаций в титине с КМП. В целом исследования фенотипа ДКМП, ассоциированного с *TTNtv*, показали достаточно противоречивые результаты. Некоторые ученые (как и авторы настоящей работы) не обнаружили значительных различий в клинических исходах и тяжести фенотипических проявлений ДКМП у *TTNtv* позитивных и *TTNtv* негативных пациентов [12, 13]. Однако коллективом авторов Roberts AM, et al. (2015) в исследовании большой когорты ДКМП было выявлено более тяжелое поражение ЛЖ [14], склонность к уЖТ и худший прогноз *TTN*-генотипа; авторы Corden B, et al. (2019) наблюдали более частые обоснованные шоковые разряды у носителей *TTNtv* с имплантированными КВД [15]. Напротив, результаты нескольких крупных исследований 2018-2019гг продемонстрировали более благоприятные исходы у носителей *TTNtv*-генотипов с хорошим терапевтическим эффектом и обратимым ремоделированием миокарда по сравнению с *TTN* негативными пациентами и другими генотипами [11, 13, 16, 17, 23].

Противоречивые результаты исследований могут быть связаны со сложностью в оценке патогенности вариантов в титине. Варианты *TTNtv* встречаются в популяциях людей с частотой 1-3%, что значительно превышает допустимый уровень как для аутосомно-доминантных, так и для рецессивных заболеваний [14]. Относительно высокая популяционная частота *TTNtv* может быть объяснима существованием двух разных типов *TTNtv*: одни с патогенным потенциалом, другие — доброкачественные. У пациентов с ДКМП встречаются как первые, так и вторые, поэтому доброкачественные *TTNtv*, не являясь патогенетической причиной КМП, могут быть случайно интерпретированы как патогенные. В связи с этим в когорте пациентов для корректной оценки *TTNtv*

необходима их тщательная верификация с помощью сегрегационного или функционального анализа для исключения ложноположительной интерпретации [24].

Наряду с *TTNtv*, мутации в других саркомерных генах, кодирующих белки толстых филаментов (тяжелые цепи альфа и бета миозина — *MYH6* и *MYH7*; миозин-связывающий протеин — *MYBPC3*) определяются в разных популяциях от 1-4% (*MYH6*) до 4-10% (*MYH7*) у пациентов с ДКМП, а у пациентов с ГКМП мутации в саркомерных генах встречаются от 30% до 50% (30-40% в гене *MYBPC3* и 20-30% в *MYH7*) [25]. Литературные источники сегодня представляют весьма противоречивые данные о распространенности мутаций в гене *MYBPC3* у пациентов с ДКМП — от низкой (1-2%) до парадоксально высокой (15-27% в отдельных популяциях, например, в Швеции) [2, 4]. Для мутаций в генах *MYBPC3*, *MYH6* и *MYH7*, кодирующих сократительные белки, характерны значительная фенотипическая неоднородность и разная степень пенетрантности. Так, доминирующим фенотипом для этих мутаций является ГКМП, но с *MYH7* и *MYBPC3* мутациями ассоциированы также ДКМП, рестриктивная и некомпактная КМП, а с *MYH6* — дефекты межжелудочковой перегородки (МЖП), нарушения ритма и проводимости, ДКМП и электрическая остановка предсердий (atrial standstill). Принято считать, что в 10% случаев мутации в этих генах являются причиной ДКМП [3-5]. В представленной нами когорте частота выявления мутаций в генах *MYBPC3* ($n=3$), *MYH6* ($n=1$) и *MYH7* ($n=4$) составила 13,1% (8 из 61) ген-позитивных случаев; эти данные сопоставимы с результатами генетического исследования популяции ДКМП в Дании, где распространённость генотипов *MYBPC3* и *MYH7* составила 12,2% [25]. В результате сегрегационного анализа подтверждена клиническая значимость трёх вариантов *MYBPC3*: две новые мутации (p.E474fs и p.G115V) с полным совпадением фенотипа ДКМП у пробандов и у близких родственников (дилатация и дисфункция ЛЖ, гипертрабекулярность ЛЖ, желудочковые аритмии), а также миссенс вариант *MYBPC3* (p.R346H) конфликтной значимости (VUS/LPV) с клинической манифестацией у пробанда к 4-й декаде жизни (дилатация ЛЖ и левого предсердия, низкая ФВ ЛЖ, персистирующая ФП, некомпактный миокард, незначительная гипертрофия среднего сегмента МЖП — 11-12 мм) и наследованием неполного фенотипа потомством (некомпактный миокард, легкая гипертрофия МЖП, сократительная дисфункция ЛЖ, предсердные аритмии) к 20-летнему возрасту. Новая мутация в гене *MYH6* (NM_002471: c.A254C, p.D85A) обнаружена у пробанда с дебютом ДКМП в возрасте 32 лет (аритмическая манифестация фенотипа — ФЖ, асистолия с успешной СЛР); у матери этот генотип

ассоциирован с небольшим дефектом МЖП, ФП, систоло-диастолической дисфункцией и дилатацией ЛЖ. Миссенс-мутации в гене *МУН7* обнаружены у 4 пациентов: два пробанда с новыми вариантами и положительной семейной косегрегацией погибли от прогрессирующей СН в ожидании ТС. В целом фенотипы ДКМП, ассоциированной с мутациями в указанных генах саркомера, отличались более тяжелым дилатационным ремоделированием, быстрым прогрессированием СН и резистентностью к медикаментозной терапии, смертельные исходы в период наблюдения зафиксированы у 4 из 7 носителей мутаций в *МУВРС3* и *МУН7*, одному пациенту выполнена ТС. Точные механизмы развития различных типов КМП, ассоциированных с *МУВРС3* и *МУН7* (ГКМП с повышенной контрактильностью vs ДКМП со сниженной сократимостью миокарда) остаются пока неизвестными. Возможно, (по нашим наблюдениям) имеет значение локализация мутаций — варианты *МУН7*, связанные с ГКМП, обычно расположены в области, кодирующей головной домен миозина, в то время как мутации *МУН7*, вызывающие развитие ДКМП, рассредоточены по всему гену (в нашей когорте LP вариант p.C1748Y в двух неродственных семьях, новые варианты p.E746D и p.E995Q).

К настоящему времени получены убедительные доказательства, подтверждающие связь мутаций в гене *SCN5A*, кодирующем α -субъединицу натриевого канала Nav1.5, с нарушением проводимости, аритмией и ДКМП. Частота патогенных вариантов *SCN5A* достигает 2-4% всех случаев ДКМП [25]. Но, как правило, *SCN5A* генотипы связаны с синдромом Бругада (до 25%) и синдромом удлиненного интервала QT (10-15%). Интересным фактом представленного исследования является обнаружение, наряду с LP миссенс вариантами в генах *SCN5A* (p.R367H) и *RYR2* (p.R1051C), новой мутации в гене *TRPM4* (p.R250C), ассоциированной с семейным фенотипом ДКМП, нарушением ритма и проводимости (ДКМП с гипертрабекулярностью, желудочковая экстрасистолия, уЖТ, нЖТ, ПБЛНПГ). Ген *TRPM4* кодирует активируемый кальцием неселективный катионный канал, который опосредует деполяризацию мембранного потенциала. Мутации *TRPM4* также чаще связаны с синдромом Бругада и нарушением проводимости. Следует отметить более молодой возраст дебюта ДКМП ($29,4 \pm 3,1$ лет vs $35,9 \pm 10,5$) у носителей не только патогенных мутаций, но и VUS в генах ионных каналов.

В представленной когорте ДКМП распространенность нейромышечной патологии составила 5,56% — дистрофин (*DMD*) ассоциированная мышечная дистрофия Беккера (n=1), *LMNA* связанные поясно-конечностная миопатия 1B (n=4) и аутосомно-доминантная мышечная дистрофия Эмери-Дрейфуса (n=1). Необходимо отметить сходство

аритмического кардиального фенотипа в случае X-сцепленного наследования миопатии Эмери-Дрейфуса, обусловленной новой мутацией в гене эмерина (*EMD*: c.355_358del, p.Q119fs), с *LMNA* манифестацией ДКМП в виде АВБ и ЖТА (желудочковая экстрасистолия, нЖТ, уЖТ) с превентивной имплантацией КВД и последующим развитием ФП; основные различия — более поздний дебют ДКМП в семье (старше 50 лет), медленное прогрессирование СН и, в среднем, на 2 десятилетия большая продолжительность жизни.

Ограничения исследования. 1) представленное исследование выполнено на относительно небольшом массиве данных; 2) не исключена вероятность гиподиагностики генетических причин ДКМП при выявлении у пациентов редких VUS, которые в настоящее время не классифицируются как патогенные, но потенциально (при накоплении данных функционального анализа) позже они могут быть интерпретированы как патогенные; 3) для генетического тестирования использовали панель генов TruSight Cardio Sequencing Kit (Illumina), разработанную в 2015г, которая не включает гены, кодирующие белок филарина С (*FLNC*) и митохондриальный трифункциональный белок (*HADHB*); 4) результаты сегрегационного анализа в некоторых семьях были малоинформативными вследствие их малочисленности.

Заключение

Результаты проведенного исследования подтверждают потенциально важную роль молекулярно-генетической диагностики как неотъемлемой части интегральной клинической оценки семейной ДКМП для стратификации риска ВСС. Так, в результате генотип-фенотипического анализа выявлены:

1) прогностические ассоциации *LMNA* генотипа (критерий $\chi^2=50,7$; $p=0,0001$) с аритмическими неблагоприятными исходами (ВСС, уЖТ, СЛР);

2) высокие уровни достижения композитной конечной точки ($\chi^2=6,33$; $p=0,012$), частоты имплантации КВД/СРТ устройств ($\chi^2=4,50$; $p=0,034$), частоты развития ФП ($\chi^2=8,28$; $p=0,004$) и АВБ ($\chi^2=8,91$; $p=0,003$), фиброза миокарда ($\chi^2=14,9$; $p=0,0001$) у *LMNA* носителей;

3) специфические ЭКГ признаки *LMNA* фенотипа: снижение амплитуды волны Р и зубца R ($p<0,041$), увеличение длительности интервала PR ($p=0,0001$); эти параметры коррелировали с распространенностью фиброза миокарда ($p<0,001$);

4) в результате ROC анализа определены независимые факторы риска ВСС: мутации в гене *LMNA* (AUC 0,760; $p=0,0001$) и неустойчивая быстрая ЖТ (пороговое значение ЧСС ≥ 161 уд./мин: AUC 0,788; $p=0,0001$);

5) результаты анализа Каплан-Мейера продемонстрировали худший прогноз у носителей *LMNA* му-

таций как в отношении жизнеопасных ЖТА — первичной конечной точки ($\log \text{rang } \chi^2=88,5; p=0,0001$), так и в достижении композитной конечной точки ($\chi^2=27,8; p=0,0001$) по сравнению с группами ген-негативных лиц, носителей *TTNtv* и других генотипов;

б) фенотипы ДКМП с *TTNtv* значимо не отличались по частоте развития ЖТА и неблагоприятным исходам по сравнению с ген-негативной группой и другими генотипами (за исключением *LMNA*-генотипа).

Таким образом, крайне важным аспектом клинической практики кардиолога является возможность проведения генетического скрининга для выявления *LMNA* мутаций, что позволяет своевременно опре-

делить показания для превентивной имплантации КВД. Генетический скрининг позволяет не только верифицировать причину заболевания или смерти, но также способствует раннему выявлению пресимптомных носителей мутаций среди детей и родственников — лиц, потенциально подверженных синкопальному риску. Все это в дальнейшем определяет реальные шаги к модификации образа жизни, персонализированному лечению и успешной профилактике жизнеопасных аритмий.

Отношения и деятельность. Научно-техническая программа Союзного государства “ДНК-идентификация” № ДНК/2017-6.6а.

Литература/References

- Pinto YM, Elliott PM, Arbustini E, et al. Proposal for a revised definition of dilated cardiomyopathy, hypokinetic non-dilated cardiomyopathy, and its implications for clinical practice: A position statement of the ESC working group on myocardial and pericardial diseases. *Eur Heart J*. 2016;37(23):1850-8. doi:10.1093/eurheartj/ehv727.
- Hershberger RE, Hedges DJ, Morales A. Dilated cardiomyopathy: the complexity of a diverse genetic architecture. *Nat Rev Cardiol*. 2013;10:531-47. doi:10.1038/nrcardio.2013.105.
- McNally EM, Mestroni L. Dilated cardiomyopathy: genetic determinants and mechanisms. *Circ Res*. 2017;121(7):731-48. doi:10.1161/CIRCRESAHA.116.309396.
- Haas J, Frese KS, Peil B, et al. Atlas of the clinical genetics of human dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J*. 2015;36(18):1123-35. doi:10.1093/eurheartj/ehu301.
- Jordan E, Peterson L, Ai T, et al. An Evidence-Based Assessment of Genes in Dilated Cardiomyopathy. *Circulation*. 2021;144(1):7-19. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.120.053033.
- Franaszczyk M, Chmielewski P, Truszkowska G, et al. Titin truncating variants in dilated cardiomyopathy — prevalence and genotype-phenotype correlations. *PLoS One*. 2017;12:e0169007. doi:10.1371/journal.pone.0169007.
- Ware JS, Jian Li, Erica Mazaika, et al. Shared Genetic Predisposition in Peripartum and Dilated Cardiomyopathies. *N Engl J Med*. 2016;374:233-41. doi:10.1056/NEJMoa1505517.
- Ware JS, Amor-Salamanca A, Tayal U, et al. Genetic etiology for alcohol-induced cardiac toxicity. *J Am Coll Cardiol*. 2018;71:2293-302. doi:10.1016/j.jacc.2018.03.
- Garcia-Pavia P, Kim Y, Restrepo-Cordoba MA, et al. Genetic variants associated with cancer therapy-induced cardiomyopathy. *Circulation*. 2019;140:31-41. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.118.037934.
- Bondue A, Arbustini E, Bianco A, et al. Complex roads from genotype to phenotype in dilated cardiomyopathy: scientific update from the Working Group of Myocardial Function of the European Society of Cardiology. *Cardiovasc Res*. 2018;114(10):1287-303. doi:10.1093/cvr/cvy122.
- Akhtar M, Elliott P. Risk Stratification for Sudden Cardiac Death in Non-Ischaemic Dilated Cardiomyopathy. *Curr Cardiol Rep*. 2019;21:155. doi:10.1007/s11886-019-1236-3.
- Jansweijer JA, Nieuwhof K, Russo F, et al. Truncating titin mutations are associated with a mild and treatable form of dilated cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail*. 2017;19:512-21. doi:10.1002/ejhf.673.
- Valverde-Gomez M, Salguero-Bodes R, Martin-Arriscado C, et al. Truncating titin variants in dilated cardiomyopathy: not only LVEF recovery, but also maintenance. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2020;73(7):589-92. doi:10.1016/j.rec.2019.12.005.
- Roberts AM, Ware JS, Herman DS, et al. Integrated allelic, transcriptional, and phenomic dissection of the cardiac effects of titin truncations in health and disease. *Sci Transl Med*. 2015;7:270ra6. doi:10.1126/scitranslmed.3010134.
- Corden B, Jarman J, Whiffin N, et al. Association of Titin-Truncating Genetic Variants With Life-threatening Cardiac Arrhythmias in Patients With Dilated Cardiomyopathy and Implanted Defibrillators. *JAMA Network Open*. 2019;2(6):e196520. doi:10.1001/jamanetworkopen.2019.6520.
- Akhtar M, Lorenzini M, Cicerchia M, et al. Clinical Phenotypes and Prognosis of Dilated Cardiomyopathy Caused by Truncating Variants in the TTN Gene. *Circ Heart Fail*. 2020;13:e006832. doi:10.1161/circheartfailure.119.006832.
- Vissing CR, Rasmussen TB, Dybroet AM, et al. Dilated cardiomyopathy caused by truncating titin variants: long-term outcomes, arrhythmias, response to treatment and sex differences. *J Med Genet*. 2020;jmedgenet-2020-107178. doi:10.1136/jmedgenet-2020-107178.
- Peters S, Johnson R, Hershberger RE, Fatkin D. Familial dilated cardiomyopathy. *Heart Lung Circ*. 2020;29(4):566-74. doi:10.1016/j.hlc.2019.11.018.
- Richards S, Aziz N, Bale S, et al. 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. *Genet Med*. 2015;17:405-24. doi:10.1038/gim.2015.30.
- Wahbi K, Ben Yaou R, Gandjbakhch E, et al. Development and validation of a new risk prediction score for life-threatening ventricular tachyarrhythmias in laminopathies. *Circulation*. 2019;140:293-302. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.118.039410.
- Captur G, Arbustini E, Bonne G, et al. Lamin and the heart. *Heart*. 2018;104(6):468-79. doi:10.1136/heartjnl-2017-312338.
- Hasselberg NE, Haland TF, Saberniak J, et al. Lamin A/C cardiomyopathy: young onset, high penetrance, and frequent need for heart transplantation. *Eur Heart J*. 2018;39(10):853-60. doi:10.1093/eurheartj/ehx596.
- Verdonschot JAJ, Hazebroek MR, Wang P, et al. Clinical phenotype and genotype associations with improvement in left ventricular function in dilated cardiomyopathy. *Circ Heart Fail*. 2018;11(11):e005220. doi:10.1161/CIRCHEARTFAILURE.118.005220.
- Haggerty CM, Damrauer SM, Levin MG, et al. Genomics-first evaluation of heart disease associated with titin-truncating variants. *Circulation*. 2019;140:42-54. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.119.039573.
- Alimohamed MZ, Johansson LF, Posafalvi A, et al. Diagnostic yield of targeted next generation sequencing in 2002 Dutch cardiomyopathy patients. *International Journal of Cardiology*. 2021;332:99-104. doi:10.1016/j.ijcard.2021.02.069.