



Молекулярно-генетические особенности формирования рестриктивной кардиомиопатии у российских детей

Савостьянов К. В., Басаргина Е. Н., Рябова Е. Е., Пушков А. А., Жанин И. С., Басаргина Е. Ю., Алексеева А. Ю., Муравьева Л. В., Гандаева Л. А., Фисенко А. П.

Цель. Выявление доли рестриктивной кардиомиопатии (РКМП), а также кардиомиопатии (КМП) с рестриктивным типом гемодинамики среди всех случаев генетически обусловленных КМП, и определение относительных частот и спектра нуклеотидных вариантов генома у обследованных российских детей с РКМП. Кроме того, в задачи исследования входил поиск фенотипических корреляций.

Материал и методы. В исследование было включено 689 детей с КМП. Всем детям проводилось молекулярно-генетическое исследование целевых областей 419 генов, ответственных за развитие различных КМП и каналопатий, методом массового параллельного секвенирования.

Результаты. У 668 (97,0%) детей были выявлены патогенные, вероятно патогенные нуклеотидные варианты, а также нуклеотидные варианты с неизвестной клинической значимостью. Из их числа для определения молекулярно-генетических особенностей формирования РКМП были отобраны 45 (6,7%) пациентов, 20 из которых имели клиническую симптоматику и морфофункциональную структуру РКМП (3,0%), остальным 25 (3,7%) детям был диагностирован другой фенотип КМП с рестриктивным типом гемодинамики. Суммарно у этих пациентов был выявлен 41 нуклеотидный вариант в 15 различных генах, при этом 19 (46,3%) вариантов оказались патогенными, 12 (29,3%) — вероятно патогенными, 10 (24,4%) вариантов имели неопределённую клиническую значимость. Патогенные и вероятно патогенные варианты были выявлены суммарно у 38 (84,4%) пациентов, при этом у 19 (42,2%) пациентов были обнаружены патогенные варианты, описанные ранее. Наиболее частым генетическим маркером РКМП у российских детей явились мутации гена *TNNI3*. В общей сложности они были выявлены у 12 (25%) детей: с РКМП — 8 (40%) пациентов; с КМП с рестриктивным типом гемодинамики — 4 (16%) пациента. При этом наиболее частой мутацией гена *TNNI3* оказался нуклеотидный вариант с.575G>A, приводящий к аминокислотному варианту p.R192H, описанный ранее у пациентов с РКМП и выявленный нами у трех (15%) неродственных детей с РКМП. Кроме того, была обнаружена статистически значимая разница между усредненными показателями N-концевого пропептида мозгового натриуретического гормона В-типа у пациентов с мутациями генов *MYH7* и *TNNI3* (0,0039, $p < 0,05$), а также между показателями PGr max (максимальный градиент кровотока) у детей с мутациями генов *TNNI3* и *FLNC* (0,0016, $p < 0,05$), и *TNNI3* и *MYH7* (0,039, $p < 0,05$).

Заключение. Результаты проведенного исследования указывают на значительную генетическую гетерогенность РКМП у российских детей и необходимость проведения дальнейших исследований, направленных на поиск ассоциаций генотипа и фенотипа для прогнозирования течения болезни и подбора корректной терапии.

Ключевые слова: рестриктивная кардиомиопатия, генетика, мутации, дети, секвенирование ДНК.

Отношения и деятельность. Работа выполнена в рамках государственного задания НИР АААА-А19-119012590190-6.

ФГАУ Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГАУ «НМИЦ здоровья детей»), Москва, Россия.

Савостьянов К. В.* — начальник Центра фундаментальных исследований в педиатрии, зав. лабораторией молекулярной генетики и медицинской геномики, ORCID: 0000-0003-4885-4171, Басаргина Е. Н. — зав. отделением кардиологии, г.н.с., ORCID: 0000-0002-0144-2885, Рябова Е. Е. — студент, ORCID: 0000-0001-5177-475X, Пушков А. А. — в.н.с., ORCID: 0000-0001-6648-2063, Жанин И. С. — с.н.с., ORCID: 0000-0003-1423-0379, Басаргина Е. Ю. — врач-педиатр, ORCID: 0000-0002-7230-7146, Алексеева А. Ю. — м.н.с., ORCID: 0000-0001-5309-6120, Муравьева Л. В. — м.н.с., ORCID: 0000-0002-6512-5109, Гандаева Л. А. — врач-детский кардиолог, с.н.с., ORCID: 0000-0003-0890-7849, Фисенко А. П. — директор, ORCID: 0000-0001-8586-7946.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): 7443333@gmail.com

ГКМП — гипертрофическая кардиомиопатия, КМП — кардиомиопатия, НМЛЖ — некомпактный миокард левого желудочка, РКМП — рестриктивная кардиомиопатия, СН — сердечная недостаточность, ЭхоКГ — эхокардиография, NT-proBNP — N-концевой пропептид мозгового натриуретического гормона В-типа, PGr max — максимальный градиент кровотока.

Рукопись получена 14.07.2021

Рецензия получена 01.08.2021

Принята к публикации 09.08.2021



Для цитирования: Савостьянов К. В., Басаргина Е. Н., Рябова Е. Е., Пушков А. А., Жанин И. С., Басаргина Е. Ю., Алексеева А. Ю., Муравьева Л. В., Гандаева Л. А., Фисенко А. П. Молекулярно-генетические особенности формирования рестриктивной кардиомиопатии у российских детей. *Российский кардиологический журнал*. 2021;26(10):4590. doi:10.15829/1560-4071-2021-4590

Molecular genetic features of the development of restrictive cardiomyopathy in Russian children

Savostyanov K. V., Basargina E. N., Ryabova E. E., Pushkov A. A., Zhanin I. S., Basargina E. Yu., Alekseeva A. Yu., Muraveva L. V., Gandaeva L. A., Fisenko A. P.

Aim. To identify the proportion of restrictive cardiomyopathy (RCM), as well as cardiomyopathy (CMP) with a restrictive type of hemodynamics among all cases of genetic CMP and to determine the relative frequencies and spectrum of nucleotide variants in Russian children with RCM, as well as to search for phenogenotypic correlations.

Material and methods. The study included 689 children with CMPs. All children underwent a molecular genetic testing of the target regions of 419 genes responsible for various cardiomyopathies and channelopathies using the method of massively parallel sequencing (MPS).

Results. In 668 (97,0%) children, pathogenic, likely pathogenic nucleotide variants, as well as nucleotide variants with unknown clinical significance, were identified.

Of these, 45 (6,7%) patients were selected to determine the molecular genetic characteristics of RCM, 20 of whom had clinical symptoms and morphofunctional structure of RCM (3,0%), while the remaining 25 (3,7%) children were diagnosed with another CMP type with a restrictive type of hemodynamics. In total, these patients had 41 nucleotide variants in 15 different genes, while 19 (46,3%) variants were pathogenic, 12 (29,3%) — likely pathogenic, 10 (24,4%) — uncertain clinical significance. Pathogenic and likely pathogenic variants were identified in a total of 38 (84,4%) patients, while in 19 (42,2%) patients, the pathogenic variants described earlier were found. The most common genetic marker of RCM in Russian children was *TNNI3* gene mutations. In total, they were identified in 12 (25%) children: with

RCP — 8 (40%) patients; with CMP with a restrictive type of hemodynamics — 4 (16%) patients. At the same time, the most common mutation of the *TNNI3* gene was the nucleotide variant c.575G>A, leading to the amino acid variant p.R192H, described earlier in patients with RCM and identified by us in three (15%) unrelated children with RCM. In addition, a significant difference was found between the averaged values of N-terminal pro-brain natriuretic peptide in patients with mutations in the *MYH7* and *TNNI3* genes (0,0039, $p<0,05$), as well as between the peak flow gradient values in children with mutations in *TNNI3* and *FLNC* genes (0,0016, $p<0,05$), *TNNI3* and *MYH7* genes (0,039, $p<0,05$).

Conclusion. The results of this study indicate a significant genetic heterogeneity of RCM in Russian children and the need for further research aimed at finding genotype-phenotype associations in order to predict the course of the disease and select the proper therapy.

Keywords: restrictive cardiomyopathy, genetics, mutations, children, DNA sequencing.

Relationships and Activities. The work was carried out within the state assignment № AAAA-A19-119012590190-6.

National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russia.

Savostyanov K.V.* ORCID: 0000-0003-4885-4171, Basargina E.N. ORCID: 0000-0002-0144-2885, Ryabova E.E. ORCID: 0000-0001-5177-475X, Pushkov A.A. ORCID: 0000-0001-6648-2063, Zhanin I.S. ORCID: 0000-0003-1423-0379, Basargina E.Yu. ORCID: 0000-0002-7230-7146, Alekseeva A.Yu. ORCID: 0000-0001-5309-6120, Muraveva L.V. ORCID: 0000-0002-6512-5109, Gandaeva L.A. ORCID: 0000-0003-0890-7849, Fisenko A.P. ORCID: 0000-0001-8586-7946.

*Corresponding author:
7443333@gmail.com

Received: 14.07.2021 **Revision Received:** 01.08.2021 **Accepted:** 09.08.2021

For citation: Savostyanov K.V., Basargina E.N., Ryabova E.E., Pushkov A.A., Zhanin I.S., Basargina E.Yu., Alekseeva A.Yu., Muraveva L.V., Gandaeva L.A., Fisenko A.P. Molecular genetic features of the development of restrictive cardiomyopathy in Russian children. *Russian Journal of Cardiology*. 2021;26(10):4590. doi:10.15829/1560-4071-2021-4590

Рестриктивная кардиомиопатия (РКМП) является одной из наиболее редких форм кардиомиопатий (КМП), составляя от 2,6% [1] до 5% в странах Европы [2], в Австралии на РКМП приходится 2,5% всех КМП [3], по данным США РКМП и другие недилатационные или гипертрофические типы составляют 3% КМП у детей [3]. В России в настоящее время нет точных данных по распространённости генетически обусловленной РКМП у детей.

РКМП определяется как состояние сердца с рестриктивной физиологией желудочков при наличии нормального или уменьшенного диастолического объема (одного или обоих желудочков), нормального или уменьшенного систолического объема и нормальной толщины стенки желудочка [4]. Фракция выброса обычно превышает 50%. Для РКМП также характерна регургитация трехстворчатого и митрального клапанов от легкой до умеренной степени, а также развитие двухпредсердной дилатации из-за хронического повышения предсердного давления, которое наряду с застоем крови в легочных венах и плевральным выпотом может привести к умеренной или выраженной кардиомегалии [5]. Для детей с РКМП характерно быстрое прогрессирование болезни, а также высокая летальность: при постановке диагноза в возрасте 10 лет и старше 5-летняя выживаемость составляет 64%, тогда как у 50% пациентов из младшей когорты летальный исход наступает в течение 2 лет после постановки диагноза [6]. Смерть может наступить внезапно как в результате нарушений ритма сердца, тромбоэмболии, так и вследствие резистентной к терапии застойной сердечной недостаточности (СН). На данный момент пересадка сердца является единственным эффективным методом при лечении РКМП.

Причины РКМП включают в себя наследственные и ненаследственные факторы, которые разделяют на

инфильтративные, неинфильтративные, эндокардиальные и болезни накопления [7]. Большинство случаев РКМП приобретенные. Среди генетических причин РКМП преимущественно встречаются мутации генов, кодирующих субъединицы саркомера: тропонин I (*TNNI3*), тропонин Т (ген *TNNT2*), тропонин (ген *TNNC1*), тропомиозин (ген *TPMI*) и тяжелую цепь β -миозина (*MYH7*). Бесперебойная работа всех саркомеров в каждом кардиомиоците сердечной мышцы имеет решающее значение для сократительной функции сердца и основана на сбалансированном взаимодействии саркомерных белков. Даже один дисфункциональный саркомерный белок изменяет белок-белковые взаимодействия, вызывая нарушения в структуре и динамике саркомера, приводя к сократительной дисфункции, КМП и дальнейшей СН. Кроме того, причиной развития РКМП могут являться мутации генов, кодирующих несаркомерные белки, а также белки, связанные с саркомерами [8]. Большинство мутаций этих генов наследуются по ауто-сомно-доминантному типу [7]. Одни ученые считают, что РКМП является следствием комбинации мутаций генов, кодирующих саркомерные и цитоскелетные белки [9]. Другие полагают, что мутации, возникшие *de novo*, сопровождаются очень быстрым прогрессированием болезни и плохим прогнозом у детей с РКМП [10, 11].

В нашей стране первые научные исследования, посвященные изучению особенностей течения РКМП у детей, были опубликованы Сербиным В.И. и его учениками в 1999г. В этих работах впервые в России был описан фенотип РКМП на примере 19 детей в возрасте от 2,5 до 15 лет с первичной миокардиальной РКМП [12]. Обобщая результаты анализа проведенных наблюдений, было отмечено, что РКМП у детей на ранних этапах ее развития протекает мало- или бессимптомно. Выявление заболева-

ния связано с появлением клинических признаков застойной СН. Трудности диагностики этой формы КМП обусловлены также скудностью звуковой симптоматики, нерезким увеличением перкуторных и рентгенологических размеров сердца. Ведущее место в диагностике РКМП занимают электро- и эхокардиография (ЭхоКГ). На первый план выступает резкая дилатация обоих предсердий, обусловленная выраженной их перегрузкой вследствие значительного нарушения расслабления желудочков и затруднения опорожнения предсердий. В нашей стране также было проведено исследование генетических причин РКМП у 35 пациентов различных возрастных групп, показавшее, что в 74% случаев идиопатической РКМП были обнаружены патогенные и вероятно патогенные варианты, 20% которых были обусловлены мутациями гена *FLNC* [4]. Отдельно проводилась работа по оценке роли мутаций гена *FLNC* при развитии РКМП группой исследователей во главе с Киселевым А. [13]. По словам авторов, мутации в гене *FLNC* долгое время ассоциировались с нейромышечными заболеваниями, и только недавно были обнаружены их связи с РКМП и гипертрофической КМП (ГКМП). В исследовании описаны новые клинические фенотипы филаминопатий у 4 педиатрических пациентов с ранней манифестацией РКМП в комбинации с миопатией [14]. Продолжая собственные исследования генетически обусловленных КМП [15], было решено изучить молекулярно-генетические особенности РКМП у российских детей и их корреляции с клинической картиной болезни.

Материал и методы

В исследование было включено 689 детей различных возрастов с диагнозом “кардиомиопатия”. Протокол исследования одобрен независимым локальным этическим комитетом при ФГАУ “НМИЦ Здоровья Детей”.

Всем детям проводилось молекулярно-генетическое исследование таргетных областей 419 генов, ответственных за развитие различных КМП и каналопатий методом массового параллельного секвенирования. Из их числа отбирались пациенты с РКМП, а также дети, с исходно другим фенотипом КМП с рестриктивной гемодинамикой, у которых в дебюте заболевания был диагностирован гипертрофический фенотип КМП и/или некомпактный миокард левого желудочка (НМЛЖ) с последующей трансформацией фенотипа и гемодинамики. Согласия на проведение исследования были получены от всех родителей. Оценивался пол и возраст детей (на момент последней выписки из ФГАУ “НМИЦ здоровья детей”), наличие наследственных факторов, концентрация биомаркера N-концевого пропептида мозгового натриуретического гормона В-типа (NT-proBNP), ЭхоКГ параметры, включая

максимальный градиент кровотока (PGr max) на клапане лёгочной артерии.

Выделение геномной ДНК осуществлялось с помощью набора реактивов DNA Blood Mini Kit (QIAGEN, Германия), на автоматической станции QIAQUBE (QIAGEN, Германия). Качество и количество ДНК оценивали при помощи нанофотометра NP80 (Implen, Германия) и флуориметра нового поколения Qubit 3.0 (Invitrogen, США).

Массовое параллельное секвенирование проводили на секвенаторе MiSeq (Illumina, США). Для целевого обогащения использовали биотинилированные пробы SeqCap EZ (Roche, США). Общий размер панели, включающей кодирующие и прилегающие области 419 генов, составлял 1498000 пар нуклеотидов, средняя глубина прочтения составляла не менее 150X при средней длине прочтения 300 нуклеотидов.

Поиск и аннотацию выявленных вариантов проводили при помощи программ Alamut Batch и Alamut Focus (Interactive Biosoftware, Франция). Все неописанные нуклеотидные варианты были исследованы при помощи встроенных биоинформатических модулей SIFT, PolyPhen2, MutationTaster, FATMM и MetaLR в программе Alamut Visual (Interactive Biosoftware, Франция). Патогенность нуклеотидных вариантов, не описанных ранее, определялась с помощью Руководства по интерпретации данных последовательности ДНК человека [15]. В качестве референсной базы данных для нуклеотидных последовательностей использовалась база данных GenBank Accession. Для номенклатуры выявленных вариантов генома были использованы рекомендации HGVS.

Валидацию выявленных нуклеотидных вариантов осуществляли методом секвенирования по Сэнгеру на автоматическом секвенаторе ДНК ABI 3500 (Thermo Fisher Scientific, США) при помощи набора реактивов BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific, США) в соответствии с протоколами и рекомендациями производителя. Амплификацию фрагментов ДНК проводили на термоциклере ProFlex (Thermo Fisher Scientific, США) в 20 мкл реакционной смеси Ampliqa Gold 360 (Thermo Fisher Scientific, США), содержащей 500 нмоль праймеров и 20 нг геномной ДНК. Условия ПЦР: 95° C/3 мин — 1 цикл; 94° C/10 сек, 54-66° C/30 сек, 72° C/15 сек — 34-40 циклов; 72° C/40 сек — 1 цикл.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась в пакете Statistica 10.0 (StatSoft, IBM, США). Для количественных данных применялся тест р-критерий Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение

Для определения молекулярно-генетических особенностей РКМП у российских детей из 668 пациентов детского возраста с генетически обусловленными

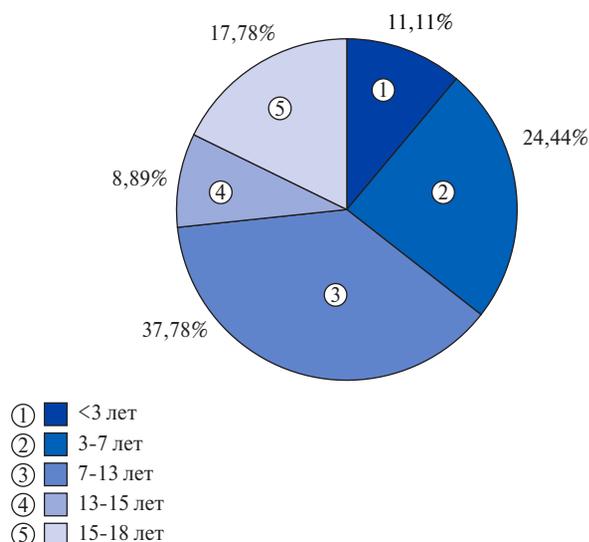


Рис. 1. Распределение пациентов по возрасту на момент последней выписки из ФГАУ «НМИЦ здоровья детей».

КМП были отобраны 45 (6,7%), 20 из которых имели клиническую симптоматику и морфофункциональную структуру РКМП (3,0%), а у остальных 25 (3,7%) был другой фенотип КМП с рестриктивным типом гемодинамики. Мальчики составляли 53,3% (24 человека), девочки — 46,7% (21 человек). Среди детей с РКМП преобладали мальчики (12 мальчиков/60%), тогда как у пациентов с КМП с рестриктивным типом гемодинамики оба пола распределились примерно одинаково с небольшим преобладанием девочек (13 девочек/52%).

Средний возраст 45 пациентов с РКМП и КМП с рестриктивной гемодинамикой, включенных в исследование, на момент последней выписки из ФГАУ «НМИЦ здоровья детей», составил 112 мес. (9 лет 4 мес.), медиана возраста 107 мес. (8 лет 11 мес.) (рис. 1).

Среди детей с РКМП преобладали пациенты возрастной категории от 7 до 13 лет (45% — 9 детей), при этом их средний возраст составил 97 мес. (8 лет 1 мес.), а медиана 93 мес. (7 лет 9 мес.). У детей с КМП с рестриктивной гемодинамикой не было выявлено преобладающей возрастной категории, их средний возраст составил 124 мес. (10 лет 4 мес.), а медиана 133 мес. (11 лет 1 мес.).

При сборе анамнеза учитывалась отягощенная наследственность по заболеваниям сердечно-сосудистой системы, таким как КМП, врожденные пороки сердца, инфаркт миокарда, инсульт. Принимались во внимание случаи внезапной смерти в детском и молодом возрасте. Согласно полученным данным, биологические родственники пациентов имели патологию органов системы кровообращения в 44,4% случаев (20 человек), в 37,8% (17 человек) — наследственность не была отягощена и в 17,8% (8 человек) — не удалось собрать точные данные (рис. 2).

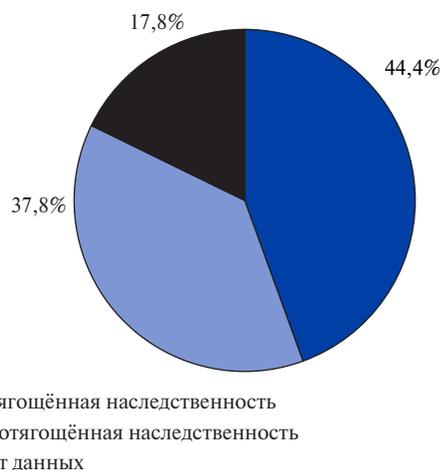


Рис. 2. Распределение пациентов по наличию наследственной патологии у биологических родителей.

Следует отметить, что отягощенная наследственность чаще встречалась у детей с КМП и рестриктивной гемодинамикой, чем у пациентов с РКМП, и составила 52% (13 человек) и 35% (7 человек), соответственно.

У детей с РКМП и КМП с рестриктивным типом гемодинамики суммарно был выявлен 41 нуклеотидный вариант в 15 различных генах, при этом 19 (46,3%) вариантов оказались патогенными, 12 (29,3%) — вероятно патогенными, патогенность 10 (24,4%) вариантов определить не удалось. Патогенные и вероятно патогенные варианты были выявлены суммарно у 38 (84,4%) пациентов, при этом у 19 (42,2%) пациентов были обнаружены мутации, описанные ранее.

У пациентов с РКМП было выявлено 18 нуклеотидных вариантов в 11 различных генах (*TPM1*, *MYH7*, *DES*, *TNNI3*, *LMNA*, *FHL1*, *TBX20*, *DSG2*, *VCL*, *FLNC*, *MYL2*). У пациентов с КМП и рестриктивной гемодинамикой было выявлено 25 нуклеотидных вариантов в 11 различных генах (*TPM1*, *MYH7*, *DES*, *TNNI3*, *TBX20*, *FLNC*, *MYL2*, *TNNT2*, *DSP*, *JUP*, *MYBPC3*). Мутации в генах *TPM1*, *MYH7*, *DES*, *TNNI3*, *TBX20*, *FLNC*, *MYL2* были выявлены в обеих группах. Уникальными для пациентов с истинной РКМП являлись мутации в генах *LMNA*, *FHL1*, *DSG2*, *VCL*, а для пациентов с КМП и рестриктивным типом гемодинамики уникальными являлись мутации в генах *TNNT2*, *DSP*, *JUP*, *MYBPC3*.

У детей с РКМП доля патогенных нуклеотидных вариантов составила 77,8% (14 нуклеотидных вариантов), тогда как у пациентов с КМП с рестриктивной гемодинамикой — 36% (9 нуклеотидных вариантов). Наиболее частой причиной генетически обусловленных РКМП и КМП с рестриктивным типом гемодинамики явились мутации гена *TNNI3*. Они были выявлены у 12 (25%) детей и представле-

ны 8 различными нуклеотидными вариантами, при этом наиболее частой мутацией гена *TNNI3* оказался нуклеотидный вариант с.575G>A, приводящий к аминокислотному варианту p.R192H, описанный ранее у пациентов с РКМП [16], обнаруженный нами у трех неродственных детей, страдающих РКМП.

У 9 детей (20%) было найдено 8 различных нуклеотидных вариантов в гене *MYH7*, у 6 детей было выявлено 5 различных нуклеотидных вариантов в гене *FLNC*, у 8 детей — 8 различных вариантов: поровну в генах *TPM1* и *DES*, у 2 детей — 2 нуклеотидных варианта в гене *TNNT2*, у двух других детей — нуклеотидный вариант с.484G>A, p.G162R гена *MYL2*, два нуклеотидных варианта у двух детей в гене *TBX20* и по одному нуклеотидному варианту было найдено в генах *MYBPC3*, *DSG2*, *FHL1*, *JUP*, *LMNA*, *DSP* и *VCL* (табл. 1) [6, 8, 9, 11, 13-26].

Две мутации в гене *TNNI3* были выявлены нами дважды.

• Патогенный нуклеотидный вариант с.509G>A, p.R170Q, описанный Kaski JP, et al. у пациентов с РКМП [27], был найден у мальчика (пациент № 25) с КМП с рестриктивным типом гемодинамики, диагностированной в возрасте 99 мес. (8 лет 3 мес.), и у девочки (пациент № 26) с РКМП, дебютировавшей

в возрасте 74 мес. (6 лет 2 мес.). При этом у мальчика родители не обследованы на носительство данной мутации, а у девочки наследственность не отягощена.

• Патогенный нуклеотидный вариант с.611G>A, p.R204H, описанный Yang SW, et al. при РКМП [28], и Doolan A, et al. [29] при ГКМП, был выявлен у мальчика (пациент № 33) с РКМП, диагностированной в возрасте 175 мес. (14 лет 7 мес.), и девочки (пациент № 34) с КМП с рестриктивным типом гемодинамики, с дебютом заболевания в возрасте 79 мес. (6 лет 7 мес.). При этом у мальчика отец страдает РКМП, а у девочки мать страдает синдромом Вольфа-Паркинсона-Уайта.

Патогенный нуклеотидный вариант с.575G>A, p.R192H в гене *TNNI3*, описанный Mogensen J, et al. при РКМП [30], Hayashi T, et al. при ГКМП [31] и Fujino M, et al. [26] у пациентов с НМЛЖ, был выявлен нами у трех неродственных пациентов с РКМП: у мальчика (пациент № 29), диагноз которому был выставлен в возрасте 146 мес. (12 лет 2 мес.), и у двух девочек, которым заболевание было установлено в возрасте 75 мес. (6 лет 3 мес., пациент № 30) и 96 мес. (8 лет, пациент № 28). При этом у одной из девочек мутация возникла *de novo*, у второй наследственность не отягощена, а у мальчика не удалось собрать точный анамнез.

Таблица 1

Мутации, обнаруженные у российских детей с РКМП и КМП с рестриктивным типом гемодинамики, данные анамнеза, лабораторных и инструментальных исследований

№	Фенотип	Ген	Нуклеотидный, аминокислотный вариант	Частота, %	Биоинформатический анализ, описание в литературе	A	NT-proBNP (пг/мл, среднее)	PGr max (мм рт.ст.) Диагноз	PGr max (мм рт.ст.) Выписка
1	РКМП	<i>DES</i>	с.1132A>G, p.K378E	н/д	НКЗ	1	668	2,75	3
2	РКМП	<i>DES</i>	с.1360C>T, p.R454W	н/д	П, РКМП [17], ГКМП [18]	1	1266	н/д	4,97
3	РКМП	<i>DES</i>	с.1243C>T, p.R415W (гомозигота)	0,0018	П, миопатия [18]	2	н/д	4	3
4	РГем	<i>DES</i>	с.218G>A, p.R73Q	н/д	НКЗ	1	5794	3	3
		<i>DSP</i>	с.4477_4480del, p.E1493Qfs*32	н/д	П				
5	РГем	<i>FHL1</i>	с.4del, p.A2Rfs*28	н/д	П	2	6084	4,87	4,87
6	РГем	<i>FLNC</i>	с.31G>A, p.G11S	0,006	НКЗ	2	4872	3	6
7	РГем	<i>FLNC</i>	с.3557C>T, p.A1186V	н/д	П, РКМП [13]	2	н/д	5,9	4,5
8	РКМП	<i>FLNC</i>	с.6826G>A, p.V2276M	н/д	НКЗ	2	632	3,56	5
		<i>JUP</i>	с.1916A>G, p.E639G	н/д	НКЗ				
9	РГем	<i>FLNC</i>	с.7781G>T, G2594V	н/д	ВП	2	1190	3,53	6,9
10	РГем	<i>FLNC</i>	с.7781G>T, p.G2594V	н/д	ВП	н/д	4521	5,76	4,49
11	РГем	<i>FLNC</i>	с.6772T>C, S2258P	н/д	НКЗ	1	907	5,48	4
12	РКМП	<i>LMNA</i>	с.1279C>G, p.R427G	н/д	П, сердечная мышечная дистрофия [19]	1	1997	4,84	2,35
13	РГем	<i>MYBPC3</i>	с.716G>A, p.C239Y (гомозигота)	н/д	ВП	1	1365	3,41	2,55
14	РГем	<i>MYH7</i>	с.545C>T, p.A182V	н/д	ВП	н/д	240	3,08	2,86
15	РКМП	<i>MYH7</i>	с.746G>A, p.R249Q	н/д	П, ГКМП [20], НМЛЖ [19]	1	н/д	2,62	4
16	РГем	<i>MYH7</i>	с.1120G>A, p.E374K	н/д	ВП	1	1140	5	10

Таблица 1. Продолжение

№	Фенотип	Ген	Нуклеотидный, аминокислотный вариант	Частота, %	Биоинформатический анализ, описание в литературе	A	NT-проBNP (пг/мл, среднее)	PGr max (мм рт.ст.) Диагноз	PGr max (мм рт.ст.) Выписка
17	РГем	<i>MYH7</i>	c.2146G>A, p.G716R	н/д	П, ГКМП [8], РКМП [13]	1	924	7,08	8,45
18	РГем	<i>MYH7</i>	c.2146G>A, p.G716R	н/д	П, ГКМП [8], РКМП [13]	1	1106	6,1	5
19	РГем	<i>MYH7</i>	c.2302G>A, p.V768R	н/д	П, ГКМП [11], РКМП [14]	1	н/д	2,5	3
20	РГем	<i>MYH7</i>	c.4894G>A, p.A1632T	н/д	НКЗ	1	2613	6,71	8
21	РГем	<i>MYH7</i>	c.4045G>A, p.E1349K	н/д	ВП	1	1537	3	3
22	РГем	<i>MYH7</i>	c.2203C>T, p.F735L	н/д	ВП	2	4022	4	4
23	РКМП	<i>MYL2</i>	c.484G>A, p.G162R	н/д	П, ГКМП [21]	2	5945	2,68	2,9
24	РКМП	<i>MYL2</i>	c.484G>A, p.G162R	н/д	П, ГКМП [16]	н/д	н/д	4,93	5,5
25	РГем	<i>TNNI3</i>	c.509G>A, p.R170Q	н/д	П, ГКМП [22]	н/д	2237	4	3
26	РКМП	<i>TNNI3</i>	c.509G>A, p.R170Q	н/д	П, ГКМП [22]	2	2208	3,7	4
27	РКМП	<i>TNNI3</i>	c.571T>A, p.W191R	н/д	ВП	2	2416	4	4
28	РКМП	<i>TNNI3</i>	c.575G>A, p.R192H	н/д	П, РКМП [12], ГКМП [23], НМЛЖ [24]	2	5380	3,24	1,59
29	РКМП	<i>TNNI3</i>	c.575G>A, p.R192H	н/д	П, РКМП [12], ГКМП [23], НМЛЖ [24]	н/д	5704	3	4
30	РКМП	<i>TNNI3</i>	c.575G>A, p.R192H	н/д	П, РКМП [12], ГКМП [23], НМЛЖ [24]	2	4370	3,24	3,24
31	РКМП	<i>TNNI3</i>	c.601G>T, E201*	н/д	П	2	2787	4	4
32	РКМП	<i>TNNI3</i>	c.610C>T, p.R204C	н/д	П, ГКМП [9], РКМП [21]	1	1745	2,3	1,96
33	РКМП	<i>TNNI3</i>	c.611G>A, p.R204H	н/д	П, ГКМП [6], РКМП [25]	1	5190	3	2
34	РГем	<i>TNNI3</i>	c.611G>A, p.R204H	н/д	П, ГКМП [6], РКМП [25]	1	4841	4,08	4
35	РГем	<i>TNNI3</i>	c.617_619del, p.K206_F207delinsl	н/д	НКЗ	2	7219	2	2
36	РГем	<i>TNNI3</i>	c.499C>G, p.D167H	н/д	ВП	н/д	4770	н/д	1,44
37	РГем	<i>TNNT2</i>	c.299T>C, p.I100T	н/д	ВП	2	2680	2,1	3
38	РГем	<i>TNNT2</i>	c.421C>T, p.R141W	н/д	П, ДКМП [15], ГКМП [26]	1	2331	4,65	4
39	РКМП	<i>TRPM1</i>	c.76G>A, p.E26K	н/д	ВП	2	1077	2,57	2,57
40	РГем	<i>TRPM1</i>	c.187G>C, p.A63P	н/д	НКЗ	1	5492	0,82	1,7
41	РКМП	<i>TRPM1</i>	c.218T>A, p.L73Q	н/д	ВП	2	н/д	3,41	2,68
42	РКМП	<i>TRPM1</i>	c.287A>T, p.E96V	н/д	ВП	2	2408	4,46	8
43	РКМП	<i>VCL</i>	c.1708C>T, p.R570*	0,0004	П	1	415	4,22	5,85
44	РГем	<i>DSG2</i>	c.1088C>A, S363*	0,0004	П	1	1263	4,14	3
		<i>TBX20</i>	c.830_831dup, p.D278*	н/д	П				
45	РГем	<i>TBX20</i>	c.346C>G, p.L116V	н/д	НКЗ	н/д	н/д	н/д	4

Примечание: "А" — анамнез: "1" — отягощенная наследственность, "2" — неотягощенная наследственность; "PGr max Выписка" — значение на момент последней выписки из стационара, "PGr max Диагноз" — значение на момент постановки диагноза, "н/д" — нет данных, "П" — патогенный вариант, "ВП" — вероятно патогенный, "НКЗ" — вариант с неопределенной клинической значимостью. Популяционные частоты приведены в соответствии с базой данных gnomAD, версия 2.1.1.

Сокращения: ГКМП — гипертрофическая кардиомиопатия, НМЛЖ — некомпактный миокард левого желудочка, РКМП — рестриктивная кардиомиопатия, NT-проBNP — N-концевой пропептид мозгового натриуретического гормона В-типа, PGr max — максимальный градиент кровотока.

Вероятно патогенный нуклеотидный вариант c.7781G>T, G2594V в гене *FLNC*, не описанный в мировой литературе ранее, был выявлен нами у двух неродственных девочек, с дебютом болезни в возрасте 24 мес. (2 года, пациент № 10) и 150 мес. (12 лет 6 мес., пациент № 9), включенных в группу с КМП

с рестриктивным типом гемодинамики. При этом у одной девочки наследственность не отягощена, а у другой нет точных данных по анамнезу (приёмный ребёнок).

Патогенный нуклеотидный вариант c.2146G>A, p.G716R в гене *MYH7*, описанный Anan R, et al. при

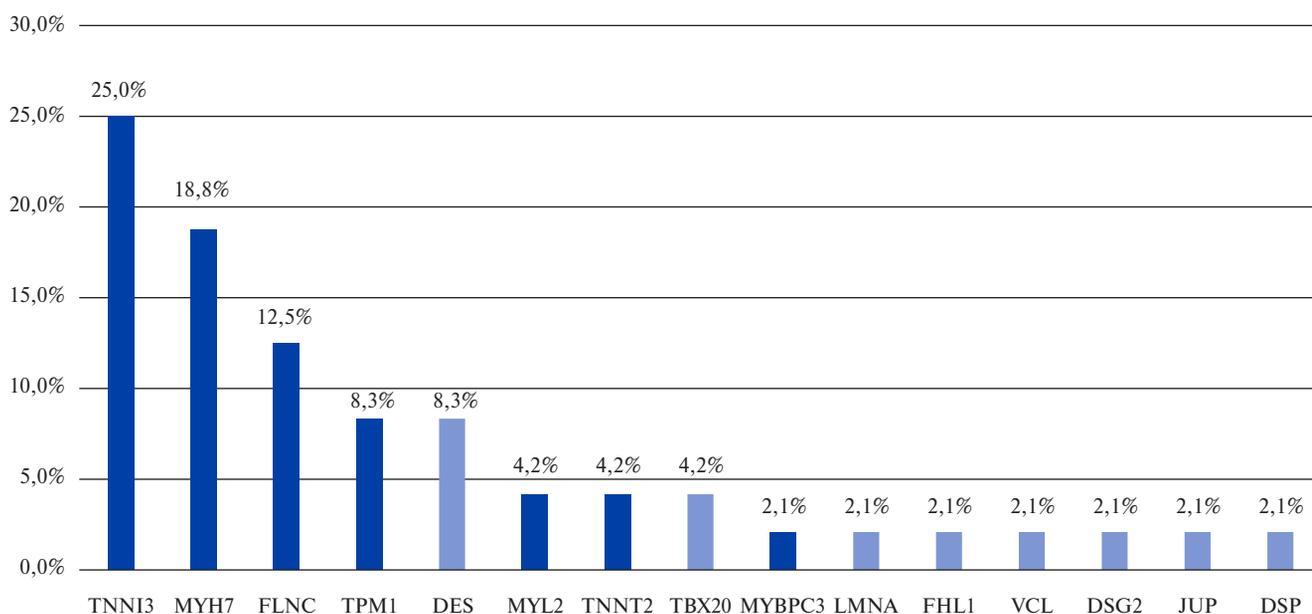


Рис. 3. Процентное соотношение генов, содержащих мутации, обусловившие РКМП и КМП с рестриктивным типом гемодинамики у обследованных российских детей.

Примечание: синий цвет — саркомерные гены, голубой — несаркомерные гены.

ГКМП [20] и Hayashi T, et al. при РКМП [31], был выявлен нами дважды. Мутации найдены у двух мальчиков с КМП и рестриктивным типом гемодинамики, обнаруженными в возрасте 102 мес. (8 лет 6 мес., пациент № 17) и 171 мес. (14 лет 3 мес., пациент № 18). При этом у обоих детей наследственность отягощена по отцовской линии (в первом случае отец скончался от ГКМП в 23 года).

Патогенный нуклеотидный вариант с.484G>A, р.G162R в гене *MYL2*, описанный Olivotto I, et al. у пациентов с ГКМП [21], найден нами у детей обоих полов с РКМП, обнаруженной в возрасте 8 мес. (пациент № 24) и 16 мес. (1 год 4 мес., пациент № 23). При этом у мальчика мутация возникла *de novo*, а у девочки не удалось собрать точный анамнез.

Остальные нуклеотидные варианты были выявлены единожды, что указывает на значительную генетическую гетерогенность российских детей с РКМП, а также детей с КМП и рестриктивным типом гемодинамики. Все нуклеотидные варианты, которые, как мы считаем, могут являться причиной развития КМП у обследованных детей, были обнаружены в гетерозиготном состоянии за исключением двух вариантов. Один из них, с.1243C>T, р.R415W, выявленный в гене *DES* у ребенка (пациент № 3) с тяжелым течением РКМП, диагностированной в возрасте 14 мес. (1 год 2 мес.), был описан ранее исключительно в гетерозиготном состоянии у пациентов с миопатией, манифестирующей после 40 лет. Второй, не описанный ранее вариант с.716G>A, р.C239Y, был выявлен в гене *MYBPC3* у ребенка (пациент № 13) с рестриктивным типом гемодинамики, дебюти-

ровавшего с ГКМП и НМЛЖ в возрасте 144 мес. (12 лет) (табл. 1).

Среди 45 обследованных нами российских пациентов заметно преобладание мутаций, явившихся причиной развития РКМП и КМП с рестриктивным типом гемодинамики, в саркомерных генах (синий цвет) в отличие от несаркомерных (голубой цвет) (рис. 3).

В общей сложности мутации саркомерных генов обнаружались у трех четвертей обследованных нами пациентов, тогда как несаркомерные — всего лишь у четверти. Иностранцы коллеги также сообщают о преобладании мутаций саркомерных генов у пациентов с РКМП: *TNNI3*, *TNNT2*, *TNNC1*, *TPM1*, *TTN*, *MYH7*, *MYL2*, *MYBPC3* над несаркомерными: *MPN*, *DES*, *FLNC*, *LMNA*, *BAG3* [8].

У пациентов с РКМП преобладали мутации в гене *TNNI3* (8/40,0%), тогда как у детей с КМП и рестриктивной гемодинамикой преимущественно встречались мутации в гене *MYH7* (8/32,0%). Аналогично полученным нами данным, мутации в гене *TNNI3* превалировали среди китайцев с РКМП, у которых было выявлено значительное число мутаций *de novo* [17]. При этом в других исследованиях превалировали мутации в гене *FLNC*, при которых заболевание манифестировало в возрасте младше 10 лет [23]. Исследования последних лет указывают на то, что мутации гена *MYH7*, преимущественно встречаясь среди пациентов с КМП по всему миру [24], не являются характерными для пациентов с РКМП, что подтвердило наше исследование, в результате которого был выявлен лишь один (5%) ребе-

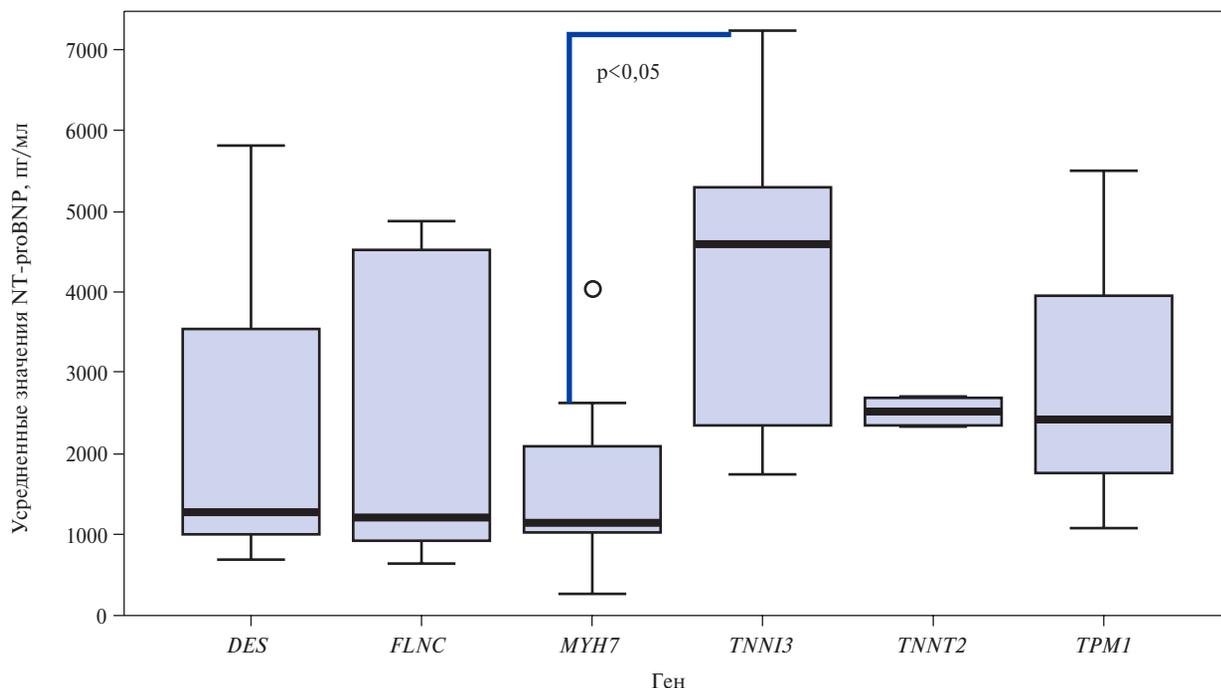


Рис. 4. Распределение усредненных значений NT-proBNP в соответствии с пораженными генами.

нок (пациент № 15), РКМП которого была обусловлена патогенным вариантом с.746G>A, р.R249Q гена *MYH7*, описанного ранее у пациентов с ГКМП [20] и НМЛЖ [19] (табл. 1).

Дополнительной задачей исследования была попытка связать клинические проявления заболевания с мутацией, найденной в определенном гене. В качестве критерия клинической диагностики было взято усредненное значение концентрации биомаркера NT-proBNP, отражающего тяжесть проявлений СН. На рисунке 4 представлены 6 генов, мутации в которых встречались чаще прочих у пациентов, в историях болезни которых имелись 3 и более зарегистрированных значения NT-proBNP, измеренных с разницей во времени не менее полугода между двумя любыми измерениями.

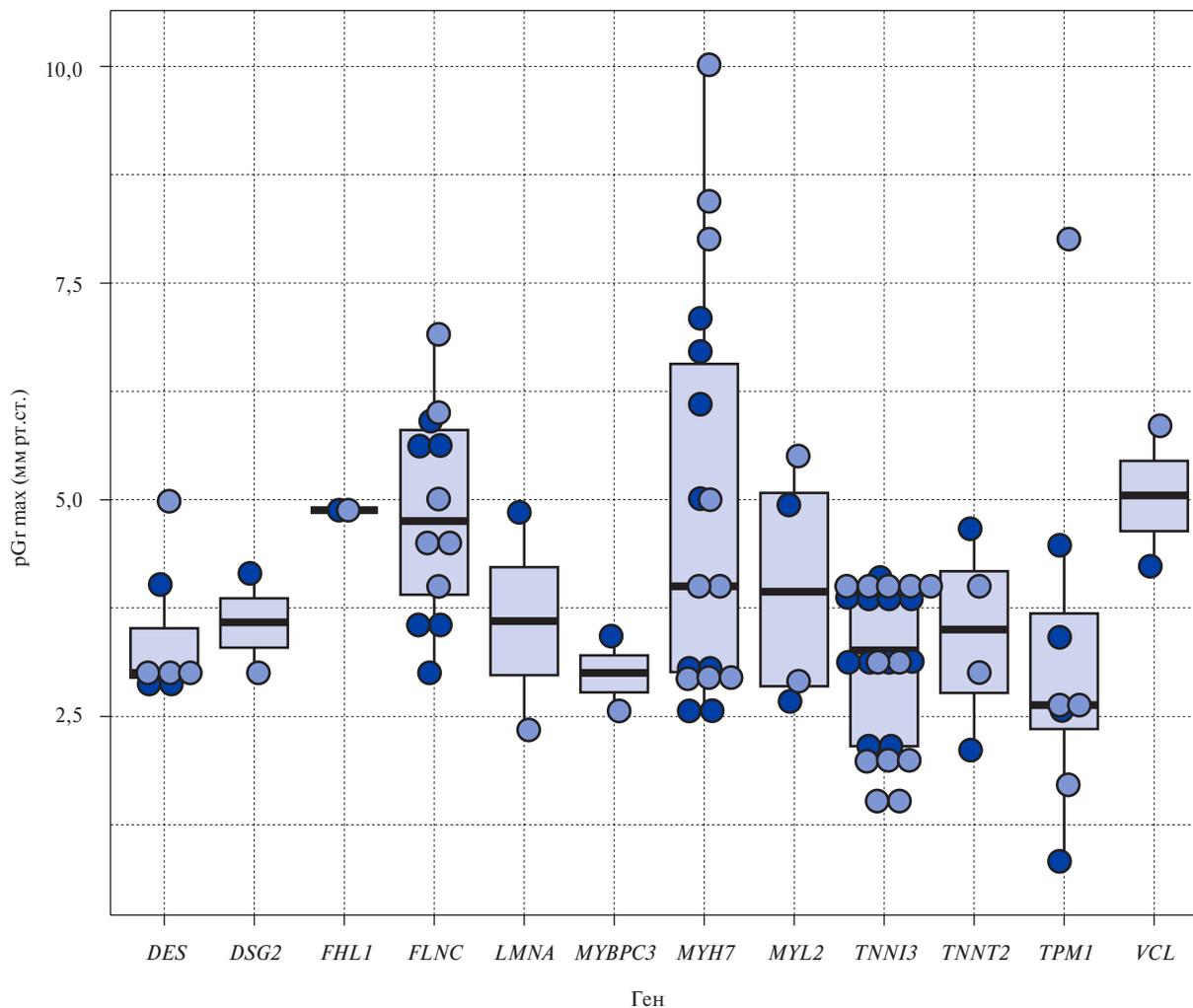
Средние значения концентрации биомаркера NT-proBNP у пациентов с мутациями в следующих генах составили: *DES* — 2645 пг/мл, *MYH7* — 1314 пг/мл, *TPM1* — 1553,67 пг/мл, *FLNC* — 2728,75 пг/мл, *TNNI3* — 4072 пг/мл, *TNNT2* — 2322,5 пг/мл. Выявлено достоверное различие между средними значениями параметра NT-proBNP для пациентов с мутациями генов *MYH7* и *TNNI3* (0,0039, $p < 0,05$) (рис. 4), что может свидетельствовать о различной тяжести течения болезни.

На настоящий момент в мировой литературе не было описано связи уровня биохимического показателя NT-proBNP с мутациями в определенном гене, поэтому работа требует дальнейшего исследования. Тогда как зарубежные публикации указывают на

практически неотвратимое развитие лёгочной гипертензии у пациентов с РКМП, что может приводить к таким осложнениям, как аритмии и внезапная сердечная смерть [8]. Однако в литературе нет указания на связь тяжести течения РКМП с инструментальными показателями ЭхоКГ, что также было сделано в данной работе впервые. В связи с указаниями на обязательное развитие лёгочной гипертензии был взят параметр, отражающий максимальный градиент кровотока на клапане лёгочной артерии (PGr max), который может свидетельствовать об уровне лёгочной гипертензии. Проводился анализ связи ЭхоКГ данных (параметр PGr max на клапане лёгочной артерии) с поражением определённого гена (рис. 5).

Было проанализировано два значения PGr max кровотока на клапане лёгочной артерии: при постановке диагноза РКМП или КМП с рестриктивным типом гемодинамики и на время последней выписки из стационара. Первое значение отражает состояние малого круга кровообращения на время постановки диагноза, второе — характеризует состояние по прошествии некоторого времени и лечения заболевания. Оба показателя совместно показывают течение заболевания в определенном промежутке времени.

Статистически значимой корреляции между значениями параметра PGr max в мм рт.ст. на клапане лёгочной артерии по ЭхоКГ, зарегистрированной во время постановки диагноза “РКМП” с поражением определённого гена выявлено не было, однако статистически значимое различие было обнаружено между значениями параметра PGr max (мм рт.ст.) на кла-



Группа

- PGr1 – показатель на время постановки диагноза
- PGr2 – значения на время последней выписки из стационара

Рис. 5. Распределение значений параметра PGr max (мм рт.ст.) кровотока на клапане лёгочной артерии в общей группе детей, с РКМП, и детей с КМП с рестриктивной гемодинамикой.

Примечание: в виде точек представлены отдельные показатели PGr max (мм рт.ст.): синим цветом обозначены показатели, отнесенные ко времени постановки диагноза РКМП или КМП с рестриктивным типом гемодинамики, голубым — значение на время последней выписки из ФГАУ “НМИЦ здоровья детей”.

Сокращения: КМП — кардиомиопатия, РКМП — рестриктивная кардиомиопатия, PGr max — максимальный градиент кровотока.

пане лёгочной артерии по ЭхоКГ во время последней выписки из отделения кардиологии ФГАУ “НМИЦ здоровья детей” в группах пациентов, имеющих мутации генов *FLNC* и *TNNI3* (0,0016, $p < 0,05$), а также генов *MYH7* и *TNNI3* (0,039, $p < 0,05$) (рис. 6).

Полученная информация может свидетельствовать о различной степени прогрессирования лёгочной гипертензии у пациентов с мутациями в генах *FLNC* и *TNNI3*, а также в генах *MYH7* и *TNNI3*. Таким образом, тяжесть лёгочной гипертензии нарастает в следующей последовательности: *TNNI3*→*MYH7*→*FLNC*, что может позволить рекомендовать уделять пристальное внимание детям

с мутациями в описанных генах в практической деятельности детского врача для коррекции терапии.

Заключение

Впервые в России описаны доли детей с РКМП (3,0%), а также с КМП с рестриктивным типом гемодинамики (3,7%) среди 668 случаев генетически обусловленных КМП, обследованных нами, а также определены относительные частоты и спектр мутаций, вызывающих РКМП. Наиболее частым генетическим маркером РКМП у российских детей, являются мутации гена *TNNI3*, обнаруженные в 40% случаев, при этом преимущественным пато-

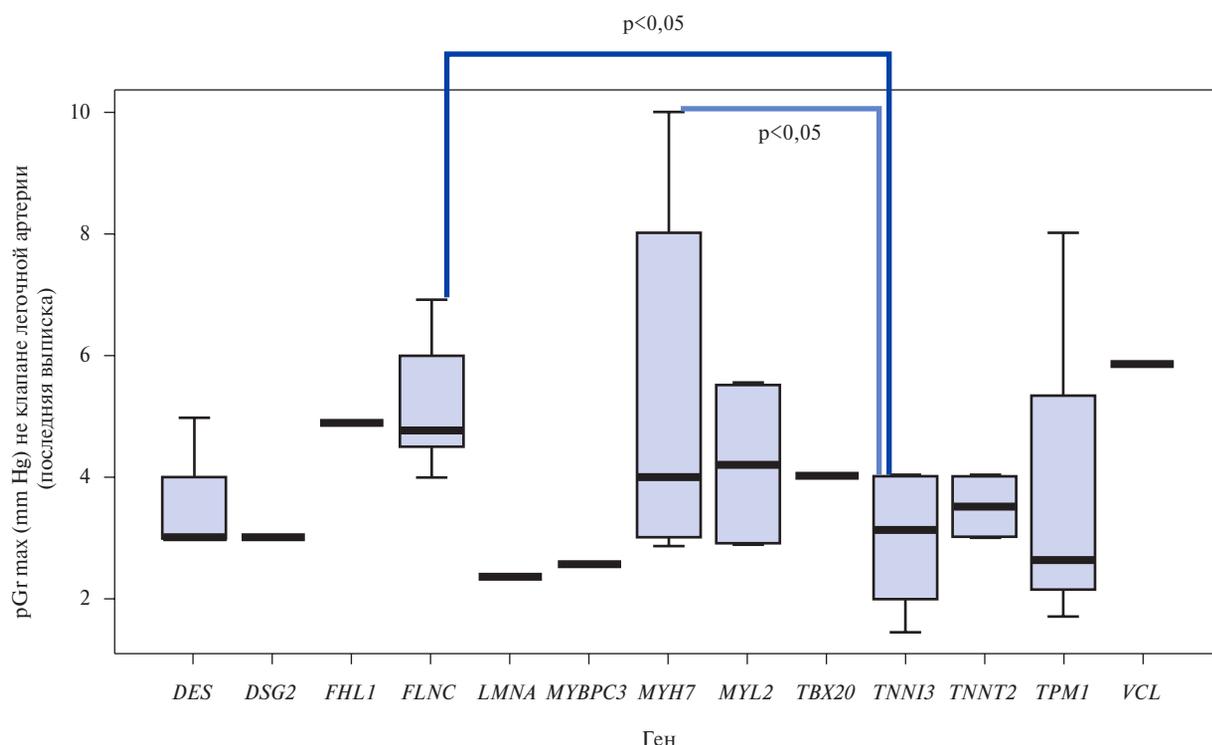


Рис. 6. Распределение зарегистрированных значений pGr max (мм рт.ст.) во время последней выписки из стационара у детей с мутациями в различных генах.

генным вариантом, обусловившем развитие РКМП, является мутация с.575G>A, p.R192H гена *TNNI3*, выявленная нами в 15% случаев. Достоверное различие между средними значениями концентрации биомаркера NT-проBNP у пациентов с мутациями генов *MYH7* и *TNNI3* (0,0039, $p < 0,05$) может свидетельствовать о различной тяжести течения болезни. Кроме того, достоверные различия между значениями параметра pGr max кровотока на клапане лёгочной артерии у детей, обладающих мутациями генов *FLNC* и *TNNI3* (0,0016, $p < 0,05$), *MYH7* и *TNNI3* (0,039, $p < 0,05$), с нарастанием тяжести лёгочной гипертензии в последовательности:

TNNI3→*MYH7*→*FLNC*, могут являться рекомендацией для обращения особого внимания на данные молекулярно-генетической диагностики. Результаты проведенного исследования указывают на значительную генетическую гетерогенность РКМП и необходимость проведения дальнейших исследований, направленных на поиск ассоциаций генотипа и фенотипа для прогнозирования течения болезни и подбора корректной терапии.

Отношения и деятельность. Работа выполнена в рамках государственного задания НИР АААА-А19-119012590190-6.

Литература/References

- Elliott P, Charron P, Blanes JRG, et al. European cardiomyopathy pilot registry: EURObservational research programme of the European society of cardiology. *Eur Heart J*. 2016;37(2):164-73. doi:10.1093/eurheartj/ehv497.
- Bott-Silverman C, Aksut B. Dilated and Restrictive Cardiomyopathies [Internet]. 2015. <https://www.clevelandclinicmeded.com/medicalpubs/diseasemanagement/cardiology/dilated-restrictive-cardiomyopathy/#table01>. (1 July 2021).
- Denfield SW. Clinical Features of Restrictive Cardiomyopathy and Constrictive Pericarditis [Internet]. *Heart Failure in the Child and Young Adult: From Bench to Bedside*. Elsevier Inc. 2018. 215-38 p. doi:10.1016/B978-0-12-802393-8.00018-1. (1 July 2021).
- Kostareva A, Kiselev A, Gudkova A, et al. Genetic spectrum of idiopathic restrictive cardiomyopathy uncovered by next-generation sequencing. *PLoS One*. 2016;11(9):1-16. doi:10.1371/journal.pone.0163362.
- Wittekind SG, Ryan TD, Gao Z, et al. Contemporary Outcomes of Pediatric Restrictive Cardiomyopathy: A Single-Center Experience. *Pediatr Cardiol*. 2019;40(4):694-704. doi:10.1007/s00246-018-2043-0.
- Webber SA, Lipshultz SE, Sleeper LA, et al. Outcomes of restrictive cardiomyopathy in childhood and the influence of phenotype: A report from the pediatric cardiomyopathy registry. *Circulation*. 2012;126(10):1237-44. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.112.104638.
- Muchtar E, Blauwet LA, Gertz MA. Restrictive cardiomyopathy: Genetics, pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis, and therapy. *Circ Res*. 2017;121(7):819-37. doi:10.1161/CIRCRESAHA.117.310982.
- Cimiotti D, Budde H, Hassoun R, et al. Genetic Restrictive Cardiomyopathy: Causes and Consequences-An Integrative Approach. *Int J Mol Sci*. 2021;22(2). doi:10.3390/ijms22020558.
- Semernin EN, Knyazeva AA, Verzhina TL, et al. Genetic varieties of the idiopathic restrictive cardiomyopathy. 2017;39-46. (In Russ.) Семернин Е. Н., Князева А. А., Вершинина Т. Л. и др. Генетический спектр идиопатической рестриктивной кардиомиопатии. 2017;39-46.
- Cimiotti D, Fujita-Becker S, Möhner D, et al. Infantile restrictive cardiomyopathy: CTnIR170G/W impair the interplay of sarcomeric proteins and the integrity of thin filaments. *PLoS One*. 2020;15(3):1-20. doi:10.1371/journal.pone.0229227.
- Karam S, Raboisson MJ, Ducreux C, et al. A de novo mutation of the beta cardiac myosin heavy chain gene in an infantile restrictive cardiomyopathy. *Congenit Heart Dis*. 2008;3(2):138-43. doi:10.1111/j.1747-0803.2008.00165.x.
- Serbin VI, Basargina EN, Ivanov AP, et al. Diagnostic criteria and features of the course of restrictive cardiomyopathy in children. *Russian Pediatric Journal*. 1999;(5):32-5. (In Russ.)

- Сербин В. И., Басаргина Е. Н., Иванов А. П. и др. Критерии диагностики и особенности течения рестриктивной кардиомиопатии у детей. *Российский педиатрический журнал*. 1999;(5):32-5.
13. Kiselev A, Vaz R, Knyazeva A, et al. De novo mutations in FLNC leading to early-onset restrictive cardiomyopathy and congenital myopathy. *Hum Mutat*. 2018;39(9):1161-72. doi:10.1002/humu.23559.
 14. Savostyanov KV, Namazova-Baranova LS, Basargina EN, et al. The new genome variants in russian children with genetically determined cardiomyopathies revealed with massive parallel sequencing. *Annals of the Russian academy of medical sciences*. 2017;72(4):242-53. (In Russ.) Савостьянов К. В., Намазова-Баранова Л. С., Басаргина Е. Н. и др. Новые варианты генома российских детей с генетически обусловленными кардиомиопатиями, выявленные методом массового параллельного секвенирования. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2017;72(4):242-53. doi:10.15690/vramn872.
 15. Ryzhkova OP, Kardymon OL, Prohorchuk EB, et al. Guidelines for the interpretation of massive parallel sequencing variants (update 2018, v2). *Medical genetics*. 2020;18(2):3-23. (In Russ.) Рыжкова О. П., Кардымон О. Л., Прохорчук Е. Б. и др. Руководство по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) (редакция 2018, версия 2). *Медицинская генетика*. 2019;18(2):3-23. doi:10.25557/2073-7998.2019.02.3-23.
 16. Marschall C, Moscu-Gregor A, Klein H-G. Variant panorama in 1,385 index patients and sensitivity of expanded next-generation sequencing panels in arrhythmogenic disorders. *Cardiovasc Diagn Ther*. 2019;9(Suppl 2):S292-8. doi:10.21037/cdt.2019.06.06.
 17. Ding W-H, Han L, Xiao Y-Y, et al. Role of Whole-exome Sequencing in Phenotype Classification and Clinical Treatment of Pediatric Restrictive Cardiomyopathy. *Chin Med J (Engl)*. 2017;130(23):2823-8. doi:10.4103/0366-6999.219150.
 18. Goldfarb LG, Olivé M, Vicart P, et al. Intermediate filament diseases: desminopathy. *Adv Exp Med Biol*. 2008;642:131-64. doi:10.1007/978-0-387-84847-1_11.
 19. Yang L, Munck M, Swaminathan K, et al. Mutations in LMNA modulate the lamin A-Nesprin-2 interaction and cause LINC complex alterations. *PLoS One*. 2013;8(8):e71850. doi:10.1371/journal.pone.0071850.
 20. Anan R, Greve G, Thierfelder L, et al. Prognostic implications of novel β cardiac myosin heavy chain gene mutations that cause familial hypertrophic cardiomyopathy. *J. Clin. Invest*. 1994;93(1):280-5. doi:10.1172/JCI116957.
 21. Olivetto I, Girolami F, Ackerman MJ, et al. Myofibrillar protein gene mutation screening and outcome of patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Mayo Clin Proc*. 2008;83(6):630-8. doi:10.4065/83.6.630.
 22. Kaski JP, Syrris P, Esteban MTT, et al. Prevalence of sarcomere protein gene mutations in preadolescent children with hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*. *Cardiovascular genetics*. 2009;2(5):436-41. doi:10.1161/CIRCGENETICS.108.821314.
 23. Brodehl A, Ferrier RA, Hamilton SJ, et al. Mutations in FLNC are Associated with Familial Restrictive Cardiomyopathy. *Hum Mutat*. 2016;37(3):269-79. doi:10.1002/humu.22942.
 24. Ho CY, Abbasi SA, Neilan TG, et al. T1 measurements identify extracellular volume expansion in hypertrophic cardiomyopathy sarcomere mutation carriers with and without left ventricular hypertrophy. *Circ. Cardiovasc. Imaging*. 2013;6(3):415-22. doi:10.1161/CIRCIMAGING.112.000333.
 25. Lu C, Wu W, Liu F, et al. Molecular analysis of inherited cardiomyopathy using next generation semiconductor sequencing technologies. *J. Transl. Med*. 2018;16(1):241. doi:10.1186/s12967-018-1605-5.
 26. Fujino M, Tsuda E, Hirono K, et al. The TNNI3 Arg192His mutation in a 13-year-old girl with left ventricular noncompaction. *J Cardiol Cases*. 2018;18(1):33-6. doi:10.1016/j.jccase.2018.04.001.
 27. Kaski JP, Syrris P, Burch M, et al. Idiopathic restrictive cardiomyopathy in children is caused by mutations in cardiac sarcomere protein genes. *Heart*. 2008;94(11):1478-84. doi:10.1136/hrt.2007.134684.
 28. Yang SW, Hitz MP, Andelfinger G. Ventricular septal defect and restrictive cardiomyopathy in a paediatric TNNI3 mutation carrier. *Cardiol Young*. 2010;20(5):574-6. doi:10.1017/S1047951110000715.
 29. Doolan A, Tebo M, Ingles J, et al. Cardiac troponin I mutations in Australian families with hypertrophic cardiomyopathy: Clinical, genetic and functional consequences. *J Mol Cell Cardiol*. 2005;38(2):387-93. doi:10.1016/j.yjmcc.2004.12.006.
 30. Mogensen J, Kubo T, Duque M, et al. Erratum: Idiopathic restrictive cardiomyopathy is part of the clinical expression of cardiac troponin I mutations (Journal of Clinical Investigation (2003) 111 (209-216)). *J Clin Invest*. 2003;111(6):925. doi:10.1172/JCI16336.
 31. Hayashi T, Tanimoto K, Hirayama-Yamada K, et al. Genetic background of Japanese patients with pediatric hypertrophic and restrictive cardiomyopathy. *J Hum Genet*. 2018;63(9):989-96. doi:10.1038/s10038-018-0479-y.