

МУТАЦИЯ ГЕНА *DES* В СЕМЬЕ ПРОБАНДА С МИОФИБРИЛЛЯРНОЙ МИОПАТИЕЙ И РАЗВИТИЕМ НЕКОМПАКТНОЙ КАРДИОМИОПАТИИ, ПРИВЕДШЕЙ К ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА

Мясников Р.П.¹, Щербакова Н.В.¹, Куликова О.В.¹, Мешков А.Н.¹, Харлап М.С.¹, Киселева А.В.¹, Жарикова А.А.¹, Дадали Е.Л.⁵, Семенова Н.А.⁵, Корецкий С.Н.¹, Благова О.В.⁴, Мершина Е.А.², Синицын В.Е.², Драпкина О.М.¹, Бойцов С.А.³

Цель. Проведение клинико-инструментального обследования и молекулярно-генетического тестирования методом экзомного секвенирования пробанду с сочетанием миопатии и некомпактной кардиомиопатии левого желудочка (НКЛЖ) и его родственникам 1 и 2 степени родства.

Материал и методы. Объект исследования: пробанд с НКЛЖ и его родственники 1 и 2 степени родства. Всем участникам было проведено клинико-инструментальное обследование, включающее в себя: забор крови для генетического анализа, общий анализ крови, биохимический анализ крови: общий белок, Аст, Алт, ЛДГ, общий билирубин, мочевины, креатинин, мочевины, калий, натрий, КФК, МБ-КФК, BNP, С-РБ, Коагулограмма: АЧТВ, тромбиновое время, антитромбин III, МНО, D-димер, ЭКГ, Суточное мониторирование ЭКГ по Холтеру и МРТ сердца, если его проведение было возможно. Диагноз некомпактного миокарда был установлен на основании ЭхоКГ критериев некомпактного миокарда. Секвенирование выполнялось на геномном секваторе Illumina HiSeq 1500 (Illumina, США). Геномные библиотеки были приготовлены с помощью набора Kapa Library Amplification kit (Roche, Швейцария), экзомное обогащение с использованием набора NimbleGen SeqCap EZ Exome v3.0 (Roche, Швейцария). Также проводился биоинформатический анализ, определение патогенности и приоритизация вариантов нуклеотидной последовательности 188 генов, связанных с развитием кардиомиопатий.

Результаты. У пробанда было выявлено сочетание миофибриллярной миопатии и семейной формы НКЛЖ (МРТ и ЭхоКГ критерии), также выявлен новый вероятно патогенный вариант в гене *DES* — с.330_338del, других патогенных и вероятно патогенных вариантов найдено не было.

Заключение. Новый вариант гена *DES* с.330_338del предположительно отвечает за развитие как миофибриллярной миопатии, так и НКЛЖ.

Российский кардиологический журнал 2017, 10 (150): 9–16

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-9-16>

Ключевые слова: *DES*, экзомное секвенирование, некомпактная кардиомиопатия левого желудочка, кардиомиопатия, миофибриллярная миопатия, трансплантация сердца, скелетная миопатия, сердечная недостаточность, внезапная сердечная смерть.

¹ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр профилактической медицины Минздрава России, Москва; ²ФГАУ Лечебно-реабилитационный центр Минздрава России, Москва; ³ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии Минздрава России, Москва; ⁴ФГБОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет (ПМГМУ) им. И. М. Сеченова, Москва; ⁵Медико-генетический научный центр, Москва, Россия.

Мясников Р.П. — к.м.н., н.с. отдела клинической кардиологии и молекулярной генетики, Щербакова Н.В. — м.н.с. лаборатории молекулярной генетики, Куликова О.В. — врач-кардиолог, Мешков А.Н.* — к.м.н., руководитель лаборатории молекулярной генетики, Харлап М.С. — к.м.н., с.н.с. отдела клинической кардиологии и молекулярной генетики, Киселева А.В. — к.б.н., с.н.с. лаборатории молекулярной генетики, Жарикова А.А. — м.н.с. лаборатории молекулярной генетики, Дадали Е.Л. — д.м.н., профессор, зав. научно-консультативным отделом, Семенова Н.А. — к.м.н., с.н.с. научно-консультативного отдела, Корецкий С.Н. — к.м.н., с.н.с. отдела клинической кардиологии и молекулярной генетики, Благова О.В. — д.м.н. профессор кафедры факультетской терапии № 1, Мершина Е.А. — к.м.н., зав. отделением томографии, доцент кафедры лучевой диагностики, лучевой терапии и медицинской физики, Синицын В.Е. — д.м.н., профессор, руководитель Центра лучевой диагностики, профессор кафедры лучевой диагностики, лучевой терапии и медицинской физики, Драпкина О.М. — член-корр. РАН, д.м.н., профессор, директор, Бойцов С.А. — член-корр. РАН, д.м.н., профессор, генеральный директор.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
meshkov@lipidclinic.ru

АВ-блокада — атриовентрикулярная блокада, АМКР — антагонист минерал-кортикоидных рецепторов, ГКМП — гипертрофическая кардиомиопатия, ДКМП — дилатационная кардиомиопатия, ЖТ — желудочковая тахикардия, иАПФ — ингибитор ангиотензинпревращающего фермента, КДР — конечно-диастолический размер, КМП — кардиомиопатия, ЛЖ — левый желудочек, МНО — международное нормализованное отношение, МРТ — магнитно-резонансная томография, МСКТ — мультиспиральная компьютерная томография, НКЛЖ — некомпактная кардиомиопатия левого желудочка, НМГ — низкомолекулярные гепарины, ПЖ — правый желудочек, CRT-D — ресинхронизирующие устройства с функцией кардиостимулятора/дефибриллятора, ТМЖП — толщина межжелудочковой перегородки, ФВ ЛЖ — фракция выброса левого желудочка, ХСН — хроническая сердечная недостаточность, ЧСС — частота сердечных сокращений, ЭКГ — электрокардиография, ЭКС — электрокардиостимулятор, ЭхоКГ — эхокардиография.

Рукопись получена 21.09.2017

Рецензия получена 22.09.2017

Принята к публикации 25.09.2017

DES GENE MUTATION IN A FAMILY OF PROBAND WITH MYOFIBRILLARY MYOPATHY AND NON-COMPACTION CARDIOMYOPATHY, RESULTED IN CARDIAC TRANSPLANTATION

Myasnikov R. P.¹, Shcherbakova N. V.¹, Kulikova O. V.¹, Meshkov A. N.¹, Kharlap M. S.¹, Kiseleva A. V.¹, Zharikova A. A.¹, Dadali E. L.⁵, Semenova N. A.⁵, Koretsky S. N.¹, Blagova O. V.⁴, Mershin E. A.², Sinitsyn V. E.², Drapkina O. M.¹, Boytsov S. A.³

Aim. To perform clinical and instrumental examination and genetic testing using the method of exome sequencing of proband and his relatives of 1 and 2 degrees of kinship with myofibrillary myopathy and non-compaction cardiomyopathy.

Material and methods. The object of the study: proband with non-compaction cardiomyopathy and his relatives of 1 and 2 degrees of kinship. All participants underwent clinical and instrumental examination including: blood collection for genetic testing, complete cell blood count, biochemical blood assay (levels of total protein, alanine-aminotransferase, aspartate aminotransferase, lactate dehydrogenase, bilirubin, urea, creatinine, uric acid, potassium, sodium, creatinekinase, MB-fraction of creatinekinase, brain natriuretic peptides,

C-reactive protein), coagulation profile (partial thromboplastin time, thrombin clotting time, levels of antithrombin III, INR, D-dimer), ECG, Holter ECG monitoring, cardiac MRI). The non-compaction myocardium was diagnosed according to echocardiographic criteria of non-compaction myocardium. Sequencing was performed with genomic sequencer Illumina HiSeq 1500 (Illumina, USA). Genomic libraries were prepared with Kapa Library Amplification Kit (Roche, Switzerland), NimbleGen SeqCap EZ Exome v3.0 (Roche, Switzerland) were used for exome enrichment. Then bioinformatic analysis was done; variants in 188 genes associated with any cardiomyopathy development were prioritized and assessed for pathogenicity.

Results. Proband was diagnosed with myofibrillar myopathy and familial form of non-compaction cardiomyopathy (according to MRI and echocardiographic criteria). Novel probably pathogenic variant was found in *DES* gene — c.330_338del. Other pathogenic and probably pathogenic variants were not found.

Conclusion. Novel variant of *DES* gene c.330_338del is probably responsible for the development of myofibrillar myopathy and non-compaction cardiomyopathy.

Russ J Cardiol 2017, 10 (150): 9–16

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-9-16>

Key words: *DES*, exome sequencing, left ventricular non-compaction cardiomyopathy, cardiomyopathy, myofibrillar myopathy, cardiac transplantation, skeletal myopathy, heart failure, sudden cardiac death.

¹National Research Center for Preventive Medicine of the Ministry of Health, Moscow; ²Treatment and Rehabilitation Center of the Ministry of Health, Moscow; ³National Medical Research Center of Cardiology of the Ministry of Health, Moscow; ⁴I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health, Moscow; ⁵Medical and Genetic Scientific Center, Moscow, Russia.

Некомпактная кардиомиопатия левого желудочка (НКЛЖ) — генетически обусловленная кардиомиопатия (КМП), которая характеризуется наличием повышенной трабекулярности и выраженных межтрабекулярных пространств, сообщающихся с полостью левого желудочка (ЛЖ). Заболевание представляет большую проблему в кардиологии, вследствие высокой смертности и наличия серьезных осложнений. Согласно литературным данным распространенность заболевания колеблется в пределах 3–26 на 10000 человек [1–3], однако, учитывая проблему гипо- и гипердиагностики некомпактного миокарда, эти данные носят весьма условный характер. Клиническая картина НКЛЖ различна: выявляются как бессимптомные формы, так и варианты с прогрессивным течением заболевания, проявляющиеся в виде сердечной недостаточности, тромбоэмболических осложнений, желудочковых нарушений ритма сердца, в некоторых случаях заболевание дебютирует развитием внезапной сердечной смерти [2, 4]. Описаны как спорадические, так и семейные случаи НКЛЖ, при этом, на долю последних приходится от 26 до 64% [2]. В настоящее время описано более 60 генов, связанных с развитием семейных случаев заболевания, и в большинстве случаев тип наследования аутосомно-доминантный. Описаны как изолированные формы НКЛЖ, так и сочетание некомпактного миокарда с другой патологией, прежде всего, с нервно-мышечными расстройствами [2, 5, 6]. В тоже время, при генетическом тестировании семейных форм некомпактной КМП патогенные мутации в уже известных генах, связанных с заболеванием, выявляются не более чем в половине случаев [2]. Это свидетельствует о наличии еще других неизученных генов.

В нашем исследовании пациенту с сочетанием миопатии и НКЛЖ и его родственникам 1 и 2 степени родства мы провели клинко-инструментальное обследование и молекулярно-генетическое тестирование методом экзомного секвенирования и впервые описали сочетание миофибриллярной миопатии, вызванной новой делецией гена *DES* и НКЛЖ.

Материал и методы

Объект исследования: пробанд с семейной формой некомпактного миокарда, родственники паци-

ента с диагностированным заболеванием. Все участники подписали информированное согласие на участие в исследовании и обработку персональных данных. Дизайн исследования был одобрен этическим комитетом ФГБУ “НМИЦПМ” Минздрава России. Пробанду и всем родственникам было проведено клинко-инструментальное обследование, включающее в себя: взятие крови для генетического анализа, общий анализ крови, биохимический анализ крови: общий белок, АсТ, АлТ, ЛДГ, общий билирубин, мочевины, креатинин, мочевиная кислота, калий, натрий, КФК, МБ-КФК, ВПР, С-РБ; коагулограмма: АЧТВ, тромбиновое время, антитромбин III, МНО, D-димер, ЭКГ, Суточное мониторирование ЭКГ по Холтеру и МРТ сердца, если едженного проведение было возможно. Диагноз некомпактного миокарда был установлен на основании ЭхоКГ-критериев некомпактного миокарда: выявление двухслойной структуры утолщенной стенки ЛЖ — некомпактного (N) и компактного (C), где N/C >2, три и более трабекул в ЛЖ в направлении от верхушки к папиллярным мышцам, в одной ЭхоКГ-проекции, выявление кровотока в межтрабекулярных пространствах [2].

Генетический анализ. Выделение ДНК проводили с помощью набора QIAamp® DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Германия). Концентрацию ДНК определяли на спектрофотометре NanoPhotometer (Implen, Германия). Геномные библиотеки были приготовлены с помощью набора Kapa Library Amplification kit (Roche, Швейцария). Далее было выполнено экзомное обогащение с использованием набора NimbleGen SeqCap EZ Exome v3.0 (Roche, Швейцария). Контроль качества был проведен с помощью Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent, США) и Qubit 2.0 (ThermoFisher, США). Секвенирование выполнялось на геномном секвенаторе Illumina HiSeq 1500 (Illumina, США) ридами длиной (2×125 bp). Все этапы эксперимента проводились согласно протоколам производителей средств.

Биоинформатический анализ. Парные чтения, полученные после секвенирования, были предоставлены для анализа в формате fastq. Оценка качества чтений была проведена с помощью программы FastQC, после чего были удалены с конца каждого чтения нуклеотиды, вероятность ошибки в которых была более 1 на 100, с помощью программы

Trimmomatic. Прошедшие процедуру фильтрации пары чтений были картированы на геном человека версии hg19, в качестве картировщика выбрана программа bwa mem. Удаление дублированных чтений осуществлено с помощью программы samtools. В результате для каждого пациента был получен BAM файл, содержащий информацию об уникальных чтениях, картированных на референсный геном. Неточности выравнивания в областях вставок и делеций были устранены при помощи программы GATK, также с помощью GATK проводили поиск SNP в рамках целевых участков генома. В результате для каждого пациента были получены файлы, содержащие список вариантов нуклеотидной последовательности, их координаты, данные о покрытии и прочие характеристики. Найденные варианты нуклеотидной последовательности были аннотированы с помощью программы ANNOVAR.

Определение патогенности и установка приоритета вариантов нуклеотидной последовательности. В финальный анализ включались варианты, находящиеся в двух группах генов: 1 группа — 66 генов, ранее связанных с развитием НМЛЖ и 2 группа дополнительно 122 гена, связанные с развитием других КМП (табл. 1). Все найденные варианты в двух группах генов были аннотированы и отфильтрованы согласно данным о частоте встречаемости минорного аллеля, результатах компьютерного предсказания влияния на структуру белка изменений нуклеотидной последовательности (SIFT и PolyPhen2), наличии ранее описанных ассоциаций с одним из видов КМП и наличии семейной агрегации с фенотипом. Варианты проходили проверку на соответствие критериям патогенности, согласно рекомендациям ACMG 2015г [7]. Отфильтрованные варианты перед включением в результаты генетического исследования были проанализированы врачом и исследованы на предмет упоминания в новейших публикациях.

Подтверждение найденных вариантов методом секвенирования по Сенгеру. Праймеры для получения ПЦР-продукта длиной 395 п.н.: DES_del_f, 5'-TCTAAGGGCTCCTCCAGCTC-3'; DES_del_r 5'-CGCTGGTTAGTGAGCACCTC-3'. В 20 мкл смеси для ПЦР содержалось 0,2 мМ каждого нуклеотида, 1 х буфер для ПЦР, 100 нг ДНК-матрицы, 20 нг каждого праймера, 2,5 U ДНК-полимеразы. Амплификацию проводили на амплификаторе "GeneAmp PCR System 9700" (Thermo Fisher Scientific, USA) при следующих параметрах: 94° C — 30 с; 30 циклов: 94° C — 30 с, 65° C — 45 с, 72° C — 90 с; 72° C — 45 с, 4° C — ∞.

Перед секвенированием исследуемый фрагмент ДНК очищался от неспецифических продуктов ПЦР с использованием коммерческого реактива ExoSAP-IT по протоколу фирмы-производителя. Нуклеотидная последовательность продуктов ПЦР определялась методом циклического секвенирования с по-

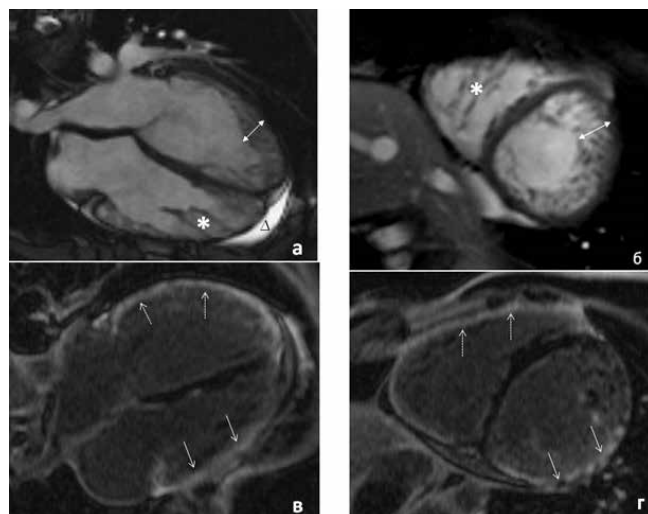


Рис. 1. МРТ пробанда.

мощью набора реактивов ABI PRISM® BigDye™ Terminator v. 3.1 с последующим анализом продуктов реакции на автоматическом секвенаторе ДНК Applied Biosystem 3730 DNA Analyzer (Thermo Fisher Scientific, USA).

Результаты

Данные анамнеза, клинического и инструментального обследования. Пробанд — пациент 25 лет астенического телосложения. Рост 180 см, вес 52 кг. С отягощенным семейным анамнезом по КМП, хронической сердечной недостаточностью, нарушениям ритма сердца и проводимости, нейромышечным заболеваниям. С 13 лет наблюдался у кардиолога с диагнозом ГКМП, синдром WPW(В-тип), медикаментозную терапию не получал, беспокоила общая слабость, утомляемость. С 2010г после периода интенсивных статических нагрузок (тренажерный зал) появилась одышка при аэробной физической нагрузке. В конце 2014г перенес вирусную инфекцию с повышением температуры тела, болями в поясничной области. Был назначен нолицин с положительным эффектом. При проведении ультразвукового исследования брюшной полости выявлена жидкость в плевральной и брюшной полости, гепатоспленомегалия, в связи с чем был госпитализирован в стационар. При проведении ЭхоКГ было выявлено снижение фракции выброса (ФВ) до 34%, диффузный гипокинез ЛЖ, признаки некомпактного миокарда (критерии Chin, Jenni, Stolberger) [8, 9, 10] выявлена жидкость в брюшной и плевральной полости. По данным МРТ сердца с гадолинием выявлено снижение ФВ ЛЖ до 33%, картина некомпактной КМП с повышением трабекулярности ЛЖ и ПЖ, удовлетворяющей критериям некомпактного миокарда, дилатацией полости ЛЖ до 5,9 см, признаки миокардита (субэпикардальное и трансмуральное накопление

Таблица 1

Список генов для анализа

Гены НКЛЖ	Гены других КМП
ACTC1, ACTN2, AMPD1, ANKRD1, ARFGEF2, BAG3, CASQ2, CNBP, CSRP3, DMD, DMPK, DNAJC19, DSP, DTNA, EYA1, FBN2, FLNC, GBE1, GLA, HADHB, HBB, HCCS, HCN4, HMGCL, ITGA7, KCNH2, KCNQ1, LAMP2, LDB3, LMNA, MIB1, MLYCD, MMACHC, MYBPC3, MYH6, MYH7, MYH7B, MYL2, MYL3, MYPN, NKX2-5, NNT, NOTCH1, PKP2, PLEC, PLEKHM2, PLN, PMP22, PRDM16, PTPN11, RYR1, RYR2, SCN5A, SDHA, SDHD, SIX1, SIX5, TAZ, TFAP2A, TNNC1, TNNI3, TNNT2, TNNT3, TPM1, TTN, YWHAЕ	AARS2, ABCC9, ACAD9, ACADVL, ACTA1, ACTA2, AGK, AGL, AGPAT2, ALMS1, ANK2, ATP5E, ATPAF2, BRAF, BSCL2, CALR3, CAV3, CBL, COA5, COQ2, COX15, COX6B1, CRELD1, CRYAB, CTF1, CTNNA3, DES, DLD, DNM1L, DOLK, DSC2, DSG2, ELN, EMD, EYA4, FAH, FHL1, FHL2, FHOD3, FKRP, FKTN, FLNA, FOXD4, FOXRED1, FXN, GAA, GATA4, GATA6, GATAD1, GFM1, GJA1, GJA5, GLB1, GNPTAB, GUSB, HFE, HRAS, ILK, JAG1, JPH2, JUP, KCNJ2, KCNJ8, KLF10, KRAS, LAMA2, LAMA4, LIAS, MAP2K1, MAP2K2, MRPL3, MRPS22, MTO1, MURC, MYH11, MYLK2, MYOM1, MYOT, MYOZ2, NEBL, NEXN, NRAS, OBSL1, PDHA1, PDLIM3, PHKA1, PITX2, PMM2, PRKAG2, PSEN1, PSEN2, RAF1, RBM20, SCO2, SGCA, SGCB, SGCD, SHOC2, SLC22A5, SLC25A3, SLC25A4, SMAD3, SOS1, SPHA, SPRED1, SURF1, SYNE1, SYNE2, TBX1, TBX20, TBX5, TCAP, TGFБ3, TMEM43, TMEM70, TMPO, TRIM63, TSFM, TTR, TXNRD2, VCL, XK



Рис. 2. МСКТ мать пробанда.

контрастного вещества в отсроченную фазу в базальных и средних сегментах передне- и задне-боковой, нижней стенок ЛЖ), а также контрастирование свободной стенки ПЖ, гидроперикард (рис. 1). По данным суточного мониторирования ЭКГ по Холтеру отмечалась частая желудочковая экстрасистолия с неустойчивыми пробежками ЖТ, АВ-блокада 1 степени, полная блокада левой ножки пучка Гиса. Пациенту была назначена стандартная многокомпонентная терапия сердечной недостаточности. На фоне регулярного приема вышеуказанной терапии отмечалась слабая положительная динамика, сохранялись явления сердечной недостаточности. В июне 2015г пациенту было имплантировано ресинхронизирующее устройство с функцией дефибриллятора. Явления недостаточности кровообращения были сведены к минимуму, однако в июле 2015г появились осиплость голоса вплоть до афонии, ограничение движений в левой руке, выраженная слабость. При проверке работы CRT-D-данных за дисфункцию устройства получено не было. Был консультирован неврологом, предположен неврит возвратного и плечевого нерва, назначена терапия нестероидными противовоспалительными средствами и витаминами группы В, временно отменен варфарин. Через некоторое время на фоне отмены варфарина стала нарастать одышка, в связи с чем был госпитализирован в стационар, где при проведении ЭхоКГ выявлено снижение ФВ ЛЖ до 25% и наличие флотирующего тромба в области верхушки ЛЖ. Учитывая появление осиплости голоса, ограничения в подвижности плеча, пациент был повторно консультирован неврологом.

При осмотре отмечалось ограничение активных движений, болезненность при подъеме плеча выше средней линии, диффузное снижение мышечного тонуса, негрубый кифосколиоз грудного отдела, гипотрофия мышц лица, девиация языка влево. Было рекомендовано проведение дифференциальной диагностики между дистальной миопатией со слабостью голосовых связок и глотки (аутосомно-доминантное наследование) и митохондриальной миопатией. На фоне терапии НМГ и варфарином в динамике отмечено полное исчезновение тромботических масс. С 2016г отмечалось резкое прогрессирование явлений недостаточности кровообращения, снижение ФВ до 20% на фоне многокомпонентной диуретической терапии бета-блокаторами, иАПФ, АМКР. С учетом связи тяжелой декомпенсации с перенесенной инфекцией, данных МРТ сердца (субэпикардальное отсроченное контрастирование), проведен анализ крови на кардиотропные вирусы (в крови не выявлены) и антикардиальные антитела — отмечено повышение титра антител к антигенам эндотелия до 1:160, гладкой мускулатуры до 1:320, волокон проводящей системы до 1:160, что не позволяло исключить наличие миокардита. Однако проведение иммуносупpressивной терапии признано малоперспективным. В мае 2016г пациенту была выполнена ортотопическая трансплантация сердца. В настоящее время пациент регулярно принимает цитостатики, явления недостаточности кровообращения отсутствуют, в то же время отмечаются прогрессирующие неврологические нарушения в виде выраженной мышечной слабости, осиплости голоса.

Мать пробанда 43 года — астенического телосложения, в 25 лет появилась осиплость голоса, в 30 лет была диагностирована АВ-блокада III степени, по поводу чего имплантирован ЭКС, позже диагностирована ГКМП. В дальнейшем при обследовании по данным ЭхоКГ заподозрена некомпактная кардиопатия (критерии Chin, Jenni, Stolberger) [8, 9, 10]. С целью верификации НКЛЖ проведена КТ сердца с контрастом (рис. 4), при которой была отмечена

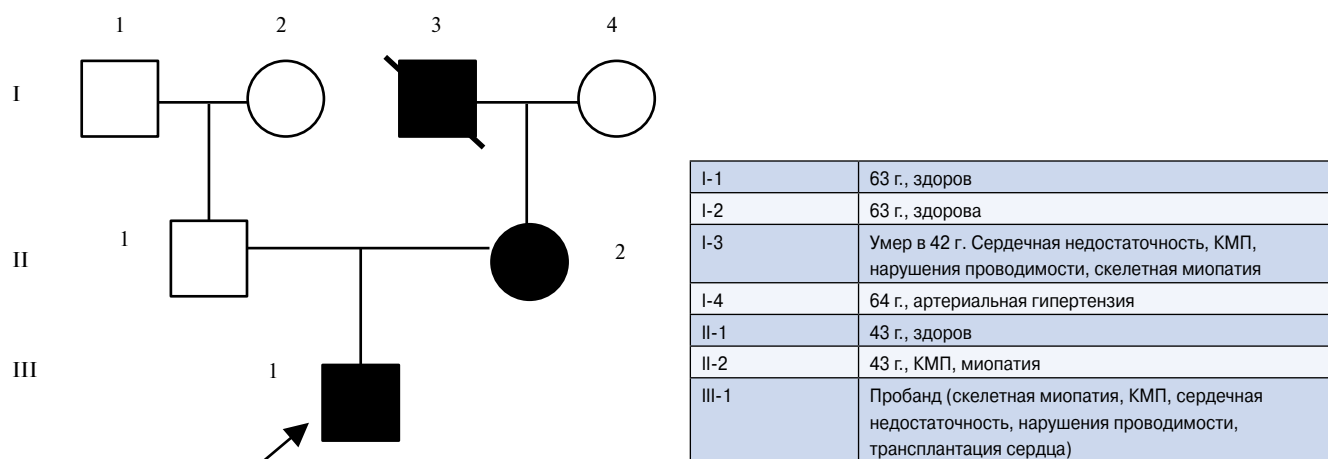


Рис. 3. Родословная.

Пациент/симптомы	III-1	II-2	II-1	I-3	I-4
Возраст	23	43	43	42	64
Пол	М	Ж	М	М	Ж
Рост	180 см	175 см	187 см	183 см	164 см
Масса	52 кг	50 кг	95 кг	60,8 кг	85 кг
ИМТ	16,0 кг/м ²	16,3 кг/м ²	27,1 кг/м ²	18,1 кг/м ²	31,6 кг/м ²
Признаки миопатии	+	+	-	+	-
Явления СН	+	+	-	+	-
КМП	+	+	-	+	-
ЭхоКГ критерии некомпактного миокарда	+	+	-	-	-
НЖ НРС	+	+	-	+	-
Нарушения проводимости сердца	+	+	-	+	-
Имплантируемые устройства	CRT-d	ЭКС	-	ЭКС	-
ФВ	26%	58%	65%	Нет данных	63%
Тромбоэмболические осложнения	Тромбоз полости ЛЖ	-	-	-	-
КФК	599 Е/л	326 Е/л	188 Е/л	Нет данных	71 Е/л

Рис. 4. Клиническая характеристика семьи.

дилатация всех камер сердца, симметричная гипертрофия миокарда ЛЖ и папиллярных мышц, повышение трабекулярности миокарда по передне-боковой стенке ЛЖ. Проведение МРТ сердца было невозможно в связи с имплантированным ЭКС.

При осмотре: снижен глоточный и небный рефлекс, небная занавеска свисает. Осиплость голоса. Диффузная мышечная гипотония, гипотрофия. Сила мышц в плечевом и тазовом поясах 3 балла, в дистальных 4 балла. Ходьба на носках не затруднена, на пятках невозможна. Выраженные приемы Говерса. Сухожильные рефлексы с рук высокие, с ног — коленные не вызываются, ахиллов сохранен слева, справа не вызывается. Тугоподвижность в плечевых и голеностопных суставах. Тремор пальцев вытянутых рук, интенционный тремор, усиливающийся при волнении. Периодически фасцикуляции в мышцах плечевого пояса. В позе Ромберга — пошатывание. Слабость мимической мускулатуры. Движения глазных яблок в полном объеме, птоза нет.

Семья была консультирована в МГНЦ, где был поставлен диагноз: миофибриллярная миопатия.

Отцу пробанда 43 лет проведено комплексное кардиологическое и неврологическое обследование. По результатам ЭхоКГ признаков некомпактного миокарда не выявлено. ТМЖП 1,0 см, КДР 5,3 см. Данных за наличие миопатии получено не было.

Дед по материнской линии умер в 42 года. По данным медицинской документации находился под наблюдением кардиолога с 1972г по поводу одышки, нарушений ритма сердца. В 1977г отмечалась резкая слабость, потери сознания, редкий пульс. По данным ЭКГ была выявлена полная АВ-блокада — имплантирован ЭКС. Тогда же диагностирован парез мягкого неба. В дальнейшем неоднократные госпитализации в стационар, прогрессирование сердечной недостаточности, выставлялся диагноз ГКМП. В 1991г дед по материнской линии скончался по причине прогрессирующей сердечной недостаточности.

Таблица 2

Список вариантов, найденных в генах, связанных с НКЛЖ

Ген	№ хромосомы и позиции	Гетерозиготность	rs_id	Частота минорного аллеля в 1000 геномов	Семейная агрегация	Тип варианта по ACMG 2015
<i>PRDM16</i>	chr1_3328948	het	rs200109766	0.000199681		неопределенного значения
<i>DMPK</i>	chr19_46283586	het	rs199935282	0.000798722	да	неопределенного значения
<i>RYR1</i>	chr19_39003006	het	rs61739911	0.000998403	да	неопределенного значения
<i>MYH7B</i>	chr20_33575677	het	rs754511	0.00259585	да	доброкачественный
<i>TTN</i>	chr2_179410282	het	rs62621206	0.00559105	да	вероятно доброкачественный
<i>TTN</i>	chr2_179446381	het	rs72646869	0.00579073		вероятно доброкачественный
<i>TTN</i>	chr2_179582853	het	rs72648982	0.0121805	да	вероятно доброкачественный
<i>TTN</i>	chr2_179612383	het	rs72648907	0.0145767		вероятно доброкачественный
<i>ITGA7</i>	chr12_56092668	het	rs74867235	0.0155751		вероятно доброкачественный

Таблица 3

Список вариантов, найденных в генах, связанных с КМП

Ген	№ хромосомы и позиции	Гетерозиготность	rs_id	Частота минорного аллеля в 1000 геномов	Семейная агрегация	Тип варианта по ACMG 2015
<i>DSC2</i>	chr18_28650748	het	rs151024019	0.000599042		вероятно доброкачественный
<i>DSG2</i>	chr18_29111109	het	rs193922639	0.000998403		вероятно доброкачественный
<i>ANK2</i>	chr4_114279628	het	rs36210417	0.00399361		доброкачественный
<i>TMEM43</i>	chr3_14170981	het	rs35028636	0.00838658		вероятно доброкачественный
<i>JUP</i>	chr17_39925713	het	rs41283425	0.0239617	да	доброкачественный
<i>GLB1</i>	chr3_33055688	het	rs73826339	0.0349441	да	доброкачественный
<i>FOXO4</i>	chr9_117506	het	rs2492215	0.0433		вероятно доброкачественный
<i>RBM20</i>	chr10_112579830	het	rs376071070	0.0001		неопределенного значения
<i>DES</i>	chr2_220283514_220283522del	het	н.д.	н.д.	да	вероятно патогенный

Бабушке по материнской линии 64 лет проведено комплексное кардиологическое и неврологическое обследование. По результатам ЭхоКГ признаков некомпактного миокарда не выявлено. ТМЖП 1,1 см, КДР 5,1 см. Данных за наличие миопатии получено не было (рис. 3).

Данные молекулярно-генетической диагностики. Секвенирование экзона было проведено пробанду, родителям пробанда и бабушке по материнской линии пробанда. Список всех несинонимичных вариантов по группе 1 и группе 2 генов с частотой минорного аллеля менее 5% по данным базы 1000 геномов приведен в таблицах 2 и 3, соответственно. В группе генов, связанных с НКЛЖ, не было выявлено патогенных и вероятно-патогенных вариантов. В группе генов других КМП также не было выявлено патогенных вариантов. Был выявлен один вероятно патогенный вариант, который ранее не был описан — делеция 9 нуклеотидов “GGAGCTGCA” NM_001927:g.220283514_220283522del (NM_001927.3:c.330_338del) в первом экзоне гена десмина (*DES*), приводящая к потере трех аминокислот в белке десмина: глутаминовая кислота (Glu), лейцин (Leu), глутамин (Gln). Данный вариант был подтвержден методом секвенирования по Сенгеру. Указанный вариант был выявлен у пробанда и у его матери, а у остальных родственни-

ков отсутствовал. Таким образом, при анализе кодирующих последовательностей 188 генов, связанных с развитием КМП, мы выявили только один вероятно патогенный вариант, для которого также была выявлена семейная агрегация с миопатией и НКЛЖ.

Обсуждение

В данной работе приведены результаты комплексного клинично-инструментального и генетического исследования семьи с сочетанием у ее членов миофибриллярной миопатии, КМП и выраженных нарушений ритма и проводимости сердца. В результате обследования было выявлено сочетание миофибриллярной миопатии и семейной формы НКЛЖ (МРТ и ЭхоКГ критерии), а также методом экзомного секвенирования выявлен новый вероятно патогенный вариант в гене *DES* — предположительно ответственный за развитие как миофибриллярной миопатии, так и НКЛЖ.

Генетическая и фенотипическая гетерогенность НКЛЖ, спорные вопросы этиологии и прогноза пациентов с некомпактным миокардом, а также несовершенство ЭхоКГ- и МРТ-критериев некомпактности ЛЖ делают достаточно актуальными вопросы генетического исследования НКЛЖ, особенно, у пациентов с семейной формой. Интерес вызывает

группа пациентов с НКЛЖ в сочетании с нервно-мышечными расстройствами. Внимание к этой группе обусловлено ранним дебютом заболевания, низким качеством жизни из-за тяжести основного заболевания, а также неблагоприятным прогнозом за счет наличия тяжелой сердечной недостаточности, жизнеопасных нарушений ритма сердца и проводимости [2, 5, 11, 12]. Миофибриллярные миопатии — гетерогенная группа нервно-мышечных заболеваний, вызванных мутациями в генах десмина (*DES*), α В-кристаллина (*CRYAB*), миотилина (*MYOT*), филамина С (*FLNC*), а также *BAG3* и *ZASP* [13].

Общей патологической картиной миофибриллярных миопатий является растворение миофибрилл, агрегация деградированных миофибриллярных продуктов и эктопическая экспрессия белков, при этом клинические проявления при дефекте каждого из вышеперечисленных белков различны. Десмин — структурный белок, входящий в состав промежуточных филаментов в сердечной мышце, скелетной и гладкой мускулатуре. Образуя непрерывную цитоскелетную сеть, десмин взаимодействует с другими белками и формирует каркас, поддерживающий пространственную взаимосвязь между миофибриллами и другими структурными элементами клетки, что обеспечивает поддержание клеточной целостности, передачу силы и механохимической сигнализации.

К настоящему времени в научной литературе отсутствует информация о связи мутаций в гене *DES* с развитием НКЛЖ, что по-видимому связано с относительно небольшим сроком активного изучения как самой НКЛЖ, так и функциональных особенностей мутаций самого гена *DES*. Ранее описанные варианты в гене десмина приводят к развитию ДКМП, ГКМП и рестриктивной КМП. Стоит отметить, что один и тот же вариант в одной семье может приводить к развитию разных типов КМП. При этом, в современной научной литературе и генетических базах данных отсутствует информация о развитии НМЛЖ при десмин-зависимых миофибриллярных миопатиях. Полученные данные представляют особый интерес в свете непрекращающихся дискуссий относительно НКЛЖ как самостоятельной нозологии. Тем не менее, у вышеописанных пациентов имелись клинические признаки, характерные как для некомпактной КМП (тромбоэмболические осложнения, выраженная некомпактность ЛЖ, удовлетворяющая МРТ и ЭхоКГ-критериям, наличие фиброза), так и для десминопатии: нарушения проводимости, требующие постановки ЭКС и CRT.

Несмотря на то, что представленным пациентам по техническим причинам пока не проведен морфологический анализ скелетных мышц и не осуществлена функциональная оценка патогенности описанной мутации, клинические данные (характер

нервно-мышечных нарушений у пробанда и кровных родственников) ярко свидетельствуют о наличии десминопатии. Фенотипические проявления найденной нами мутации у лиц мужского пола в данной семье сопряжены с крайне неблагоприятным прогнозом и низким качеством жизни: у обоих пациентов имеются как выраженные проявления нервно-мышечных нарушений, так и поражения сердечной мышцы, приведшие к развитию КМП (в случае пробанда — НКЛЖ) и выраженным нарушениям ритма и проводимости, потребовавшим имплантации CRT-D (пробанд)/ЭКС (дедушка пробанда). Кроме того, в случае пробанда в 24-летнем возрасте проведена ортотопическая трансплантация сердца, а в случае дедушки пробанда — летальный исход в 42 года от развития острой сердечно-сосудистой недостаточности на фоне декомпенсации ХСН. При этом, у матери пробанда нарушения со стороны сердечно-сосудистой системы не так катастрофичны: имеет место некомпактный миокард ЛЖ с сохраненной ФВ ЛЖ и отсутствием явлений сердечной недостаточности; нейро-мышечные нарушения выражены значительно, однако в настоящее время пациентка не придает им существенного внимания.

Стоит обратить внимание на патофизиологические аспекты десминопатий: мутации в гене *DES* приводят к повреждению структуры десмина, содержащегося в больших количествах в клетках проводящей системы сердца, особенно, в волокнах Пуркинье. У всех наших пациентов имелись выраженные нарушения проводимости, а у пробанда — появление полной блокады левой ножки пучка Гиса, ставшей поводом к решению по имплантации ресинхронизирующего устройства. Однако, несмотря на наличие I класса показаний к имплантации устройства (ХСН III ФК. по NYHA, ФВ 26%, QRS >150 мс), пациент не только не ответил на ресинхронизирующую терапию, но явления ХСН и систолическая дисфункция прогрессивно ухудшались. Длительное время данная ситуация, как и наличие частой политопной желудочковой экстрасистолии и эпизодов желудочковой тахикардии, объяснялись наличием подострого миокардита (субэпикардальные зоны контрастирования в верхушечных отделах, по передней, передне-боковой и задней стенкам ЛЖ по данным МРТ с контрастом, и связь ухудшения состояния с перенесенной ОРВИ), исключить который нельзя, однако, учитывая активное развитие нарушений передачи импульса в кардиомиоцитах при десминопатии, проблема носит комплексный характер. Еще одним косвенным доказательством в пользу патогенности выявленного нами нового варианта гена *DES* является тот факт, что он расположен в I А сегменте α -спирального ядра десмина. По сравнению с сегментами 1В и 2В, где представлено подавляющее большинство мутаций с описанием фенотипических характеристик, име-

ется единичная информации о наличии в данном сегменте патогенных вариантов. Однако, в работе Vernengo L, et al. впервые был выявлен вариант — делеция соседнего с нашим вариантом кодона р. E114del (с.340_342del) в 1A регионе белка десмина, у пациента с сочетанием миопатии и ГКМП. Описанный вариант предположительно вызывает локальное конформационное изменение, что приводит к серьезным изменениям в десминовой сети [14]. Таким образом, можно предположить схожее влия-

ние на десминовую сеть при делеции трех соседних аминокислот в десмине.

Заключение

Новый вариант гена *DES* с.330_338del предположительно отвечает за развитие как миофибриллярной миопатии, так и НКЛЖ.

Благодарности. Работа поддержана средствами гранта РФФИ 17-04-00521 А.

Литература

- Ritter M, Oechslin E, Sutsch G, et al. Isolated noncompaction of the myocardium in adults. *Mayo Clin Proc* 1997; 72: 26-31.
- Finsterer J, Stöllberger C, Towbin JA. Left ventricular noncompaction cardiomyopathy: cardiac, neuromuscular, and genetic factors. *Nat Rev Cardiol*. 2017 Apr; 14 (4): 224-37. doi: 10.1038/nrcardio.2016.207. Epub 2017 Jan 12. Review.
- Sandhu R, Finkelhor RS, Gunawardena DR, Bahler RC. Prevalence and characteristics of left ventricular noncompaction in a community hospital cohort of patients with systolic dysfunction. *Echocardiography* 2008; 25: 8-12.
- Myasnikov RP, Blagova OV, Kulikova OV, et al. The specifics of noncompacted cardiomyopathy manifestation. *Cardiovascular Therapy and Prevention* 2015; 14 (5): 78-82. DOI: 10.15829/1728-8800-2015-5-78-82 (In Russ.) Мясников Р.П., Благова О.В., Куликова О.В. и др. Особенности манифестации некомпактной кардиомиопатии. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2015; 14 (5): 78-82. DOI: 10.15829/1728-8800-2015-5-78-82
- Stöllberger C, Finsterer J, Blazek G. Left ventricular hypertrabeculation/noncompaction and association with additional cardiac abnormalities and neuromuscular disorders. *Am J Cardiol* 2002; 90: 899-902.
- Dong X, Fan P, Tian T, et al. Recent advancements in the molecular genetics of left ventricular noncompaction cardiomyopathy. *Clin Chim Acta*. 2017 Feb; 465: 40-4. doi: 10.1016/j.cca.2016.12.013.
- 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 May; 17 (5): 405-24. doi: 10.1038/gim.2015.30.
- Stöllberger C, Finsterer J. Left ventricular hypertrabeculation/noncompaction. *J Am Soc Echocardiogr*. 2004 Jan; 17(1):91-100.
- Chin TK, Perloff JK, Williams RG. Isolated noncompaction of left ventricular myocardium: a study of eight cases. *Circulation*. 1990 Aug; 82(2):507-13.
- Jenni R, Oechslin E, Schneider J, et al. Echocardiographic and pathoanatomical characteristics of isolated left ventricular non-compaction: a step towards classification as a distinct cardiomyopathy. *Heart*. 2001 Dec; 86(6): 666-71.
- Myasnikov RP, Kulikova OV, Kharlap MS, et al. Non-compaction myocardium of the left ventricle secondary prevention of thromboembolism. *Cardiovascular Therapy and Prevention* 2017; 16 (1): 100-4. DOI:10.15829/1728-8800-2017-1-100-104 (In Russ.) Мясников Р.П., Куликова О.В., Харлап М.С., и др. Некомпактный миокард левого желудочка: вторичная профилактика тромбозмболических осложнений. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2017; 16 (1): 100-4. DOI:10.15829/1728-8800-2017-1-100-104
- Blagova OV, Nedostup AV, Sedov VP, et al. Heart transplantation as the method of treatment of the progressive cardiomyopathy in patients with primary muscular dystrophy. *Clinical and experimental surgery* 2017; 3 (In Russ.) Благова О.В., Недоступ А.В., Седов В.П. Трансплантация сердца как метод лечения прогрессирующей кардиомиопатии у больных с первичными миодистрофиями, 2017; 3.
- Olivé M, Kley RA, Goldfarb LG. Myofibrillar myopathies: new developments. *Curr Opin Neurol*. 2013 Oct; 26 (5): 527-35. doi: 10.1097/WCO.0b013e328364d6b1
- Vernengo L, Chourbagi O, Panuncio A, et al. Desmin myopathy with severe cardiomyopathy in a Uruguayan family due to a codon deletion in a new location within the desmin 1A rod domain. *Neuromuscular Disorders* 20 (2010) 178-87.