

Варианты в гене *RBM20* у пациентов детского возраста с дилатационной кардиомиопатией

Киселёв А. М., Вершинина Т. Л., Тарновская С. И., Яковлева Е. В., Бутиш Л., Фомичева Ю. В., Федотов П. А., Козырева А. А., Вахрушев Ю. А., Латыпов А. К., Морозов А. А., Козырев И. А., Первунина Т. М., Васичкина Е. С., Костарева А. А.

Цель. Описание трёх клинических случаев дилатационной кардиомиопатии (ДКМП) у пациентов детского возраста и анализ их генетических причин.**Материал и методы.** При помощи метода целевого секвенирования были получены данные о наличии патогенных вариантов гена *RBM20* у трех пациентов детского возраста с ДКМП.**Результаты.** Детально описаны три случая развития ДКМП в детском возрасте, ассоциированные со структурными нарушениями в гене *RBM20*. Известно, что *RBM20* участвует в сплайсинге мРНК гена *TTN*, кодирующего белок титин. Нарушение сплайсинга, связанное с патогенными вариантами в гене *RBM20*, может приводить к изменению биомеханических и сигнальных процессов в клетках миокарда, вызывая патологическое дилатационное ремоделирование и нарушения ритма.**Заключение.** Варианты в гене *RBM20* ассоциированы с тяжелым течением ДКМП с дебютом в детском возрасте. В ряде случаев прогрессирование *RBM20*-ассоциированных кардиомиопатий связано с перенесенным инфекционным заболеванием. Дальнейшее исследование молекулярных механизмов патогенеза ДКМП, ассоциированных с патогенными вариантами в генах *TTN* и *RBM20*, является крайне актуальным как для клинической кардиологии, так и для фундаментальной медицины.**Ключевые слова:** дилатационная кардиомиопатия, *RBM20*, титин.**Конфликт интересов:** не заявлен.**Финансирование.** Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (РНФ) грант № 18-75-00006.

ФГБУ НМИЦ им. В. А. Алмазова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия.

Киселёв А. М. — к.б.н., н.с. научно-исследовательской лаборатории молекулярной кардиологии и генетики, ORCID: 0000-0002-5524-6900, Вершинина Т. Л. — зав. отделением, детской кардиологии и медицинской реабилитации, ORCID: 0000-0003-1311-2020, Тарновская С. И. — к.б.н., м.н.с. группы клеточной биологии Института молекулярной биологии и генетики, ORCID: 0000-0002-6777-0785, Яковлева Е. В. — врач-кардиолог детской кардиологии и медицинской реабилитации, ORCID: 0000-0002-7758-5102, Бутиш Л. — врач отделения Детской кардиологии и медицинской реабилитации, ORCID: 0000-0003-4040-2824, Фомичева Ю. В. — врач-генетик Центральной клинко-диагностической лаборатории, ORCID: 0000-0001-8950-8617, Федотов П. А. —

к.м.н., зав. научно-исследовательской лабораторией высокотехнологичных методов лечения сердечной недостаточности, ORCID: 0000-0002-7452-1971, Козырева А. А. — к.б.н., с.н.с., научно-исследовательской лаборатории молекулярной кардиологии и генетики, ORCID: 0000-0003-0656-7967, Вахрушев Ю. А. — ассистент, аспирант кафедры лабораторной медицины и генетики, ORCID: 0000-0001-8911-1927, Латыпов А. К. — к.м.н., врач сердечно-сосудистый хирург, зав. отделением сердечно-сосудистой хирургии для детей, ORCID: 0000-0002-5459-6765, Морозов А. А. — к.м.н., врач сердечно-сосудистый хирург, отделения сердечно-сосудистой хирургии для детей, ORCID: 0000-0001-9350-8804, Козырев И. А. — врач сердечно-сосудистый хирург, отделения сердечно-сосудистой хирургии для детей, ORCID: 0000-0002-2533-5339, Первунина Т. М. — к.м.н., директор Института перинатологии и педиатрии, ORCID: 0000-0001-9948-7303, Васичкина Е. С. — д.м.н., профессор, г.н.с. научно-исследовательского отдела сердечно-сосудистых заболеваний, ORCID: 0000-0001-7336-4102, Костарева А. А.* — к.м.н., директор Института молекулярной биологии и генетики, ORCID: 0000-0002-9349-6257.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
akostareva@hotmail.com

КМП — кардиомиопатия, ДКМП — дилатационная кардиомиопатия, ГКМП — гипертрофическая кардиомиопатия, АКМП — аритмогенная кардиомиопатия, РКМП — рестриктивная кардиомиопатия, ТТН — титин, ЛЖ — левый желудочек, ПЖ — правый желудочек, ЭхоКГ — эхокардиография, ФВ — фракция выброса, КДР — конечный размер желудочка при расслаблении, КСР — конечный размер желудочка при сокращении, КДО — конечный диастолический объем, СН — сердечная недостаточность, ХСН — хроническая сердечная недостаточность.

Рукопись получена 13.05.2019

Рецензия получена 07.07.2019

Принята к публикации 15.07.2019

**Для цитирования:** Киселёв А. М., Вершинина Т. Л., Тарновская С. И., Яковлева Е. В., Бутиш Л., Фомичева Ю. В., Федотов П. А., Козырева А. А., Вахрушев Ю. А., Латыпов А. К., Морозов А. А., Козырев И. А., Первунина Т. М., Васичкина Е. С., Костарева А. А. Варианты в гене *RBM20* у пациентов детского возраста с дилатационной кардиомиопатией. *Российский кардиологический журнал*. 2019;24(10):92–98
doi:10.15829/1560-4071-2019-10-92-98**Variants of *RBM20* gene in pediatric patients with dilated cardiomyopathy**

Kiselev A. M., Vershinina T. L., Tarnovskaya S. I., Yakovleva E. V., Butish L., Fomicheva Yu. V., Fedotov P. A., Kozyreva A. A., Vakhrushev Yu. A., Latypov A. K., Morozov A. A., Kozyrev I. A., Pervunina T. M., Vasichkina E. S., Kostareva A. A.

Aim. Description of three clinical cases of pediatric patients with dilated cardiomyopathy (DCMP) and an analysis of their genetic causes.**Material and methods.** Using the method of targeted sequencing, data were obtained on the presence of pathogenic variants of the *RBM20* gene in three pediatric patients with DCMP.**Results.** Three cases of childhood DCMP development, associated with structural disorders in the *RBM20* gene, are particularly described. It is known that *RBM20* is involved in the splicing of mRNA of the *TTN* gene encoding the titin protein. A splicing disorder associated with pathogenic variants in the*RBM20* gene can lead to a change in biomechanical and signaling processes in myocardial cells, causing pathological dilated remodeling and rhythm disorders.**Conclusion.** Variants in the *RBM20* gene are associated with severe DCMP with a childhood debut. In some cases, the progression of *RBM20*-associated cardiomyopathies is associated with an infectious disease. Further study of the molecular mechanisms of the pathogenesis of DCMP associated with pathogenic variants in the *TTN* and *RBM20* genes is extremely relevant for both clinical cardiology and fundamental medicine.

Key words: dilated cardiomyopathy, *RBM20*, titin.

Conflicts of Interest: nothing to declare.

Funding. This work was financially supported by the Russian Science Foundation (RSF) grant № 18-75-00006.

Almazov National Medical Research Center, St. Petersburg, Russia.

Kiselev A. M. ORCID: 0000-0002-5524-6900, Vershinina T. L. ORCID: 0000-0003-1311-2020, Tarnovskaya S. I. ORCID: 0000-0002-6777-0785, Yakovleva E. V. ORCID: 0000-0002-7758-5102, Butish L. ORCID: 0000-0003-4040-2824, Fomicheva Yu. V. ORCID: 0000-0001-8950-8617, Fedotov P. A. ORCID: 0000-0002-7452-1971, Kozyreva A. A. ORCID: 0000-0003-0656-7967, Vakhru-

shev Yu. A. ORCID: 0000-0001-8911-1927, Latypov A. K. ORCID: 0000-0002-5459-6765, Morozov A. A. ORCID: 0000-0001-9350-8804, Kozyrev I. A. ORCID: 0000-0002-2533-5339, Pervunina T. M. ORCID: 0000-0001-9948-7303, Vasichkina E. S. ORCID: 0000-0001-7336-4102, Kostareva A. A. ORCID: 0000-0002-9349-6257.

Received: 13.05.2019 **Revision Received:** 07.07.2019 **Accepted:** 15.07.2019

For citation: Kiselev A. M., Vershinina T. L., Tarnovskaya S. I., Yakovleva E. V., Butish L., Fomicheva Yu. V., Fedotov P. A., Kozyreva A. A., Vakhrushev Yu. A., Latypov A. K., Morozov A. A., Kozyrev I. A., Pervunina T. M., Vasichkina E. S., Kostareva A. A. Variants of *RBM20* gene in pediatric patients with dilated cardiomyopathy. *Russian Journal of Cardiology*. 2019;24(10):92–98
doi:10.15829/1560-4071-2019-10-92-98

Дилатационная кардиомиопатия (ДКМП) является частой причиной развития синдрома рефрактерной сердечной недостаточности. Диагноз ДКМП определяет значительную часть случаев проведения трансплантации сердца в различных возрастных группах. Ранее считалось, что основной причиной ДКМП являются факторы внешней среды — инфекции, токсические воздействия, лекарственные интоксикации. Однако исследования последних лет показали, что основной вклад в развитие ДКМП вносят генетические детерминанты, которые обуславливают >50% случаев развития этого заболевания. Большое количество генов, ассоциированных с развитием данной патологии, и отсутствие технологий их одновременного секвенирования, долгое время не позволяло систематизировать и обобщить информацию о генетических причинах ДКМП.

Известно, что перечень генов, являющихся причинными при ДКМП, в значительной степени пересекается со списком генов, ассоциированных с другими типами кардиомиопатий, в том числе с гипертрофической (ГКМП), аритмогенной (АКМП) и рестриктивной (РКМП). Однако в отличие от ГКМП и АКМП, для ДКМП долгое время не удавалось выявить один или несколько наиболее частых причинных генов, обуславливающих развитие данной патологии, вследствие того, что частота каждого описанного в качестве причины ДКМП гена не превышала 3–5%.

Развитие технологий массового параллельного секвенирования позволило использовать подходы, основанные на целевом обогащении секвенируемых последовательностей. При помощи указанных технологий появилась возможность быстро и эффективно секвенировать кодирующие последовательности множества генов, представляющих клинический и научный интерес. С использованием технологии секвенирования экзома (кодирующие последовательности всех известных и предсказанных генов в геноме человека) были получены данные о экзомах и геномной последовательностях в больших когортах пациентов и условно-здоровых лиц. Данная инфор-

мация открыта в общедоступных базах данных, таких как ExAC, GnomAD, Kaviar. Частотный анализ редких генетических вариантов в данных когортах показал, что множество генетических вариантов, ранее описанных как патогенные, являются на самом деле редкими полиморфными вариантами, которые встречаются в популяции с частотой 1:1000–1:10000 и реже. Причинная роль таких вариантов в отношении развития кардиомиопатий в настоящее время не ясна и требует уточнения. Существующие неточные ассоциации между генетическим вариантом и заболеванием создают проблему для интерпретации вновь выявленных вариантов и указывают на необходимость повторной систематической переоценки вариантов, ранее классифицированных как патогенные. Для получения более точной информации целесообразно исследовать группы пациентов с дебютом заболевания в различных возрастных группах, в частности, прицельно исследовать спектр генетических причин ДКМП в группе пациентов детского возраста.

Данное исследование посвящено трем клиническим случаям ДКМП у пациентов детского возраста с вероятными причинными вариантами в гене, кодирующем фактор сплайсинга *RBM20*. Патогенные свойства вариантов гена *RBM20* объясняются критической ролью сплайсинга в экспрессии различных изоформ белка титина, которые, в свою очередь, определяют эластические свойства мышечного волокна и миокарда. Патогенные варианты гена *RBM20* определяют неправильное соотношение изоформ титина в различных отделах миокарда, что приводит к нарушению реализации закона Франка-Старлига, снижению сократительной функции и дилатации камер сердца. В недавних исследованиях было показано, что 14–30% случаев ДКМП с дебютом во взрослом возрасте обусловлено наличием патогенных вариантов в гене *TTN*, кодирующем белок титин. В то же время, при исследовании генетической природы ДКМП в детской возрастной группе причинные варианты в гене *TTN* встречаются крайне редко, и значительная часть случаев ассоциирована с мутациями в гене *RBM20*. Преобладание генетических

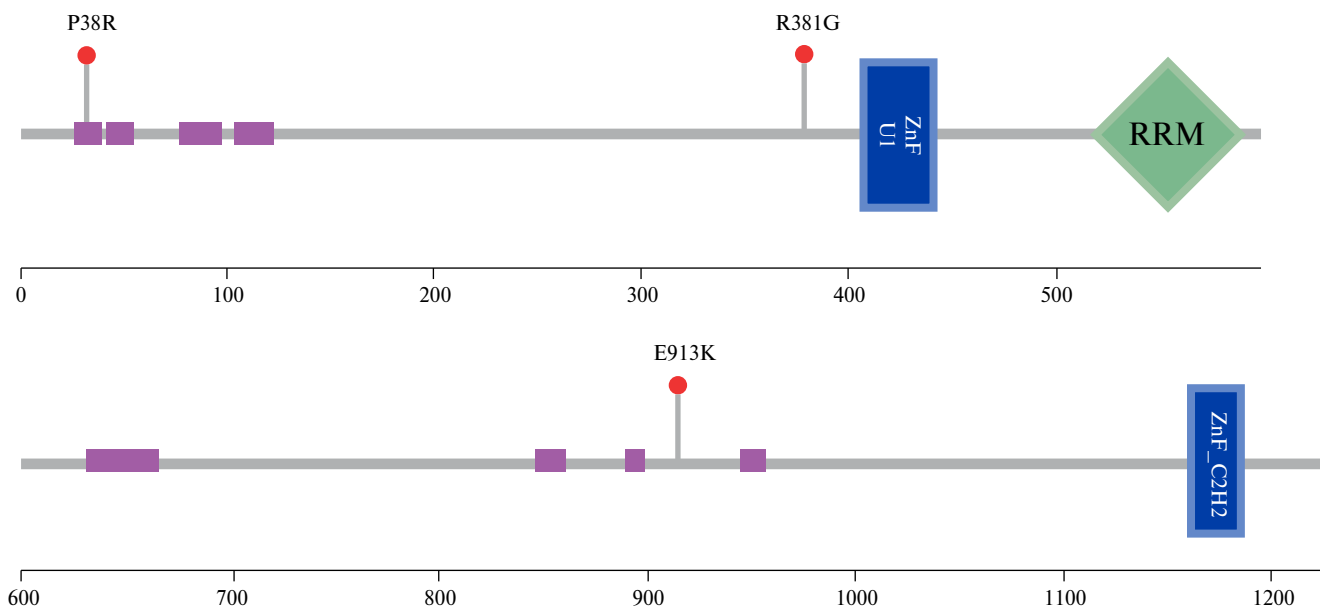


Рис. 1. Доменная структура гена *RBM20* с указанием вариантов P38R, R381G и E913K.

вариантов в генах *TTN* и *RBM20* среди пациентов с ДКМП в различных возрастных группах еще раз подчеркивает важность кодируемых ими белков в поддержании молекулярной структуры саркомера, обеспечении его эластических свойств и в адаптации кардиомиоцитов к стрессовым и токсическим воздействиям.

Материал и методы

Исследование было выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинской Декларации. Протокол исследования был одобрен Этическим комитетом НМИЦ им. В.А. Алмазова. До включения в исследование у всех участников или их законных представителей было получено письменное информированное согласие.

Выделение ДНК мононуклеаров периферической крови производилось при помощи набора FlexiGene (Qiagen, США). ДНК библиотеки готовили при помощи метода гибридизационного обогащения — Haloplex (Agilent, США), фрагментами интереса, соответствующими целевой панели, содержащей кодирующие последовательности 108 генов известных в качестве причинных, при кардиологических заболеваниях. Библиотеки были секвенированы при помощи прибора MiSeq (Illumina, США). Полученные данные обрабатывали при помощи программного обеспечения BWA-MEM [1], GATK 3.8 [2-4]. Полученные варианты были аннотированы при помощи программного обеспечения Annovar [5], SNPEff [6]. Фильтрация вариантов произведена при помощи программных пакетов, входящих в состав R studio.

Результаты

Клинический случай 1

Мальчик 15 лет был экстренно госпитализирован в отделение реанимации с явлениями кардиогенного шока и бивентрикулярной сердечной недостаточности, развившейся на фоне вирусной инфекции. Из анамнеза известно, что за 3 мес. до этого (после перенесенной острой респираторной вирусной инфекции) появились жалобы на утомляемость и снижение толерантности к нагрузкам. По данным эхокардиографии (ЭхоКГ) отмечалось минимальное снижение сократительной способности миокарда левого желудочка (ЛЖ) до 59%. В остальном по данным ЭхоКГ изменений не было. Семейный анамнез пациента отягощен: мать умерла через 2 мес. после родов по причине острой сердечной недостаточности (СН) (патолого-анатомическое заключение: ДКМП с гипертрофией миокарда), что могло быть связано с развитием перипартальной кардиомиопатии либо декомпенсацией первичной кардиомиопатии на фоне беременности.

При поступлении состояние было расценено как крайне тяжелое с потребностью в инотропной поддержке. По данным ЭхоКГ, выраженная дилатация всех камер с конечным размером левого желудочка (КДР ЛЖ) при расслаблении — 61 мм. Сократительная способность миокарда резко снижена: фракция выброса (ФВ) ЛЖ по Симпсону 19%. Недостаточность на митральном и трикуспидальном клапанах 2 степени. Повышение давления в легочной артерии (до 2/3 от системного).

В результате обследования, с учетом полученных данных, ребенку был диагностирован острый миокардит, возможно, на фоне первичной кардиомиопатии.

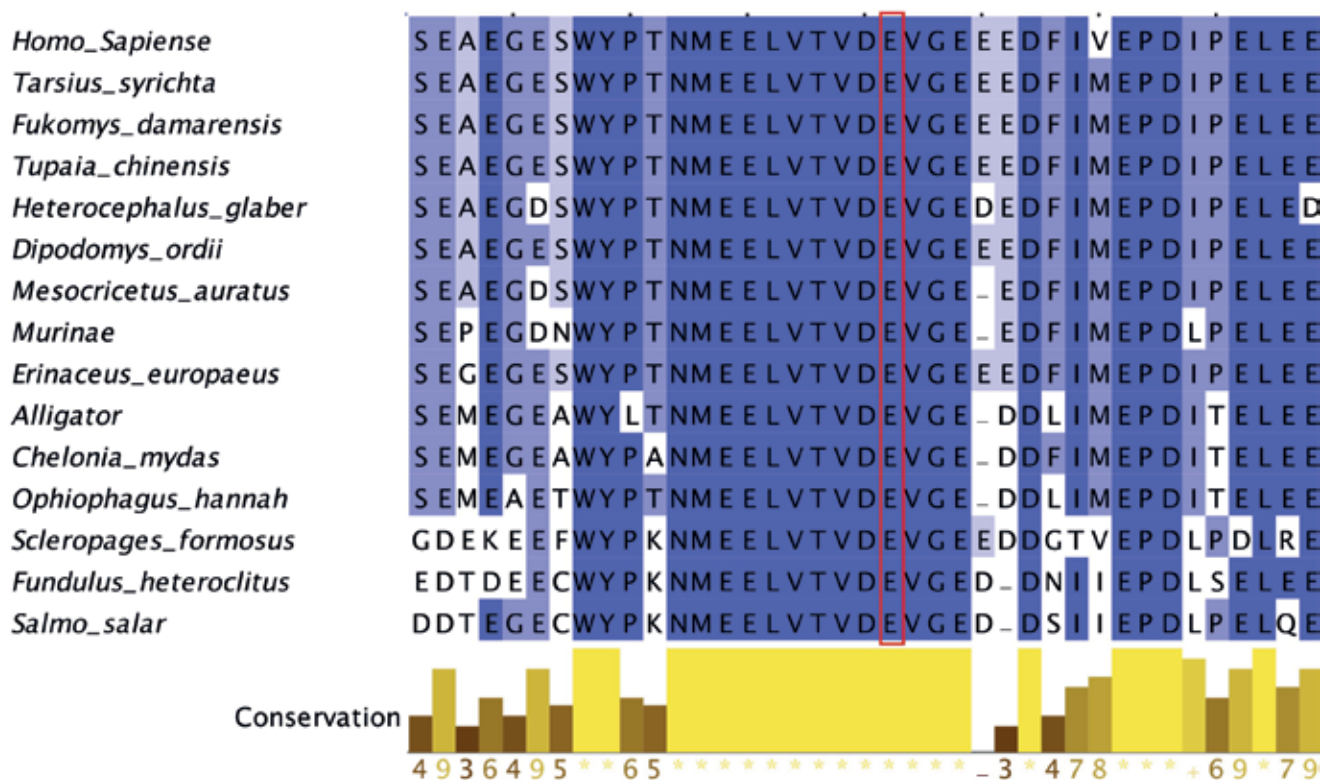


Рис. 2. Вариант E913K является консервативным у видов с известным сиквенсом.

Несмотря на проводимую поликомпонентную терапию, наблюдалось дальнейшее прогрессирование заболевания с нарастанием явлений сердечной недостаточности, в связи с чем было принято решение об имплантации искусственного ЛЖ (LVAD) в качестве “моста” к восстановлению или трансплантации сердца. При помощи высокопроизводительной целевой панели у пациента была идентифицирована мутация в гене *RBM20*. Ранее она была описана у пациента с ДКМП (*RBM20* Chr10: 112581114, rs397516607, NM_001134363.2: c.G2737A: p.Glu913Lys) [7], в связи с чем по классификации ACMG выявленный генетический вариант был определен как патогенный. Область, в которой находится найденный вариант Glu913Lys, является высококонсервативной среди ортологов, что указывает на функциональную значимость данного участка (рис. 1). Вариант расположен в экзоне 11 гена *RBM20* и приводит к изменению аминокислоты от отрицательно заряженного глутамата к положительно заряженному лизину (рис. 2).

При наблюдении за ребенком в течение года отмечалось купирование явлений миокардита, но полноценного восстановления сократительной способности миокарда не произошло. С учетом клинической картины заболевания, семейного анамнеза и данных генетического исследования, пациенту произведена трансплантация сердца.

Клинический случай 2

Пациентка 3 лет впервые поступила с жалобами на одышку при физических нагрузках, плохие весовые прибавки. Из анамнеза известно, что в возрасте 1,5 мес. впервые выявлена дилатация ЛЖ и снижение сократительной способности ЛЖ с быстрым прогрессированием заболевания. В возрасте 3 мес. — резкое снижение ФВ ЛЖ до 30% с нарастанием КДР ЛЖ. Семейный анамнез отягощен: старшая сестра умерла в возрасте 1,5 лет от декомпенсации СН на фоне ДКМП. Старший брат и родители — здоровы.

При поступлении по лабораторным данным — острофазовые маркеры воспаления и маркеры повреждения миокарда в пределах нормы. По данным ЭхоКГ — дилатация левых камер сердца, КДР ЛЖ при расслаблении — 38,2 мм, конечный размер желудочка при сокращении (КСР) — 32,9 мм, конечный диастолический объем (КДО) — 62,7 мл, снижение ФВ ЛЖ до 31% по Симпсону. Сократительная способность миокарда правого желудочка (ПЖ) сохранена (TASV 16 см/с). В ходе исследования исключены врожденные пороки сердца, аномалия коронарных артерий, митохондриальные болезни и болезни накопления. При помощи высокопроизводительного секвенирования у пациентки идентифицирован вариант в гене *RBM20* (Chr10: 112541508, NM_001134363.2:A1141G:.. Arg381Gly). Позиция Arg381Gly находится рядом с доменом типа “цинковый палец” белка *RBM20*

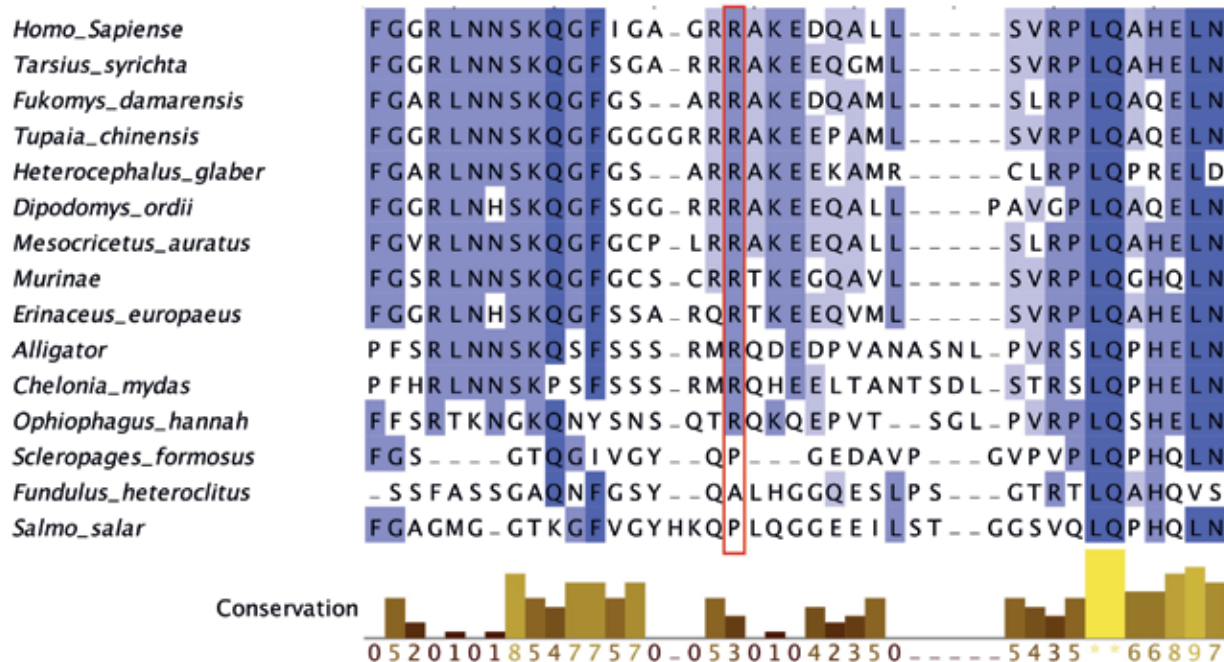


Рис. 3. Вариант R381G является консервативным среди млекопитающих.

и может изменять вторичную структуру этого домена, влияя на возможность связывания RBM20 с другими белками и их комплексами. Область, в которой находится данный вариант, является консервативным среди млекопитающих (рис. 3). Ранее данный вариант не был описан в связи с развитием кардиомиопатии и классифицирован как вариант неопределенной значимости (ACMG).

Пациентке была назначена поликомпонентная терапия хронической сердечной недостаточности (ХСН). В настоящее время имеет место относительная стабилизация состояния на фоне приема терапии (диуретики, ингибиторы АПФ, дигоксин, β -блокаторы), сохраняется дилатация ЛЖ без нарастания в динамике, сократительная способность миокарда ЛЖ 35–40%, недостаточность митрального клапана 2–3 степени. На фоне интеркуррентных инфекционных заболеваний отмечается временная дестабилизация состояния с необходимостью усиления терапии за счет мочегонных средств.

Клинический случай 3

Пациентка в возрасте 10 лет поступила в клинику в связи с ДКМП для уточнения диагноза и коррекции терапии. При поступлении предъявляла жалобы на выраженную слабость, плохую переносимость физических нагрузок, одышку при незначительных физических нагрузках. Из анамнеза болезни известно, что за 6 мес. до госпитализации впервые появились жалобы на утомляемость, снижение толерантности к нагрузкам, четкой связи с перенесенной инфекцией не отмечала. Через несколько мес. после появления вышеперечисленных жалоб на фоне острой кишечной

инфекции и лабиального герпеса отмечалось внезапное ухудшение состояния с явлениями кардиогенного шока и развитием угрожающих жизни нарушений ритма сердца (полиморфная желудочковая тахикардия, полиморфная частая желудочковая экстрасистолия, в том числе сверххраняя). В отделении реанимации по месту жительства получала поликомпонентную терапию сердечной недостаточности, включая инотропную поддержку, проводился подбор антиаритмической терапии, дважды в связи с развитием гемодинамически значимой полиморфной желудочковой тахикардии (ЖТ) проводилась электроимпульсная терапия. Диагноз трактовался как кардиомиопатия неуточненная (воспалительная? первичная?) с осложнениями в виде полиморфной ЖТ и СН 3 стадии III функционального класса. Семейный анамнез не отягощен.

В ходе госпитализации были исключены врожденные пороки сердца, аномалия коронарных артерий, митохондриальные болезни и болезни накопления. По данным магнитно-резонансной томографии сердца выявлены признаки миокардита с резко сниженной сократительной способностью миокарда ЛЖ до 16%. Несмотря на комбинированную терапию ХСН, терапию иммуноглобулинами, антиаритмическую терапию, состояние пациентки прогрессирующе ухудшалось, нарастали явления бивентрикулярной СН, прогрессировала представленность желудочковых нарушений ритма. Летальный исход наступил на фоне полиморфной ЖТ, фибрилляции желудочков с асистолией.

По данным патолого-анатомического заключения морфологические признаки первичной кардиомиопатии в сочетании с явлениями хронического активного лимфоцитарного миокардита.

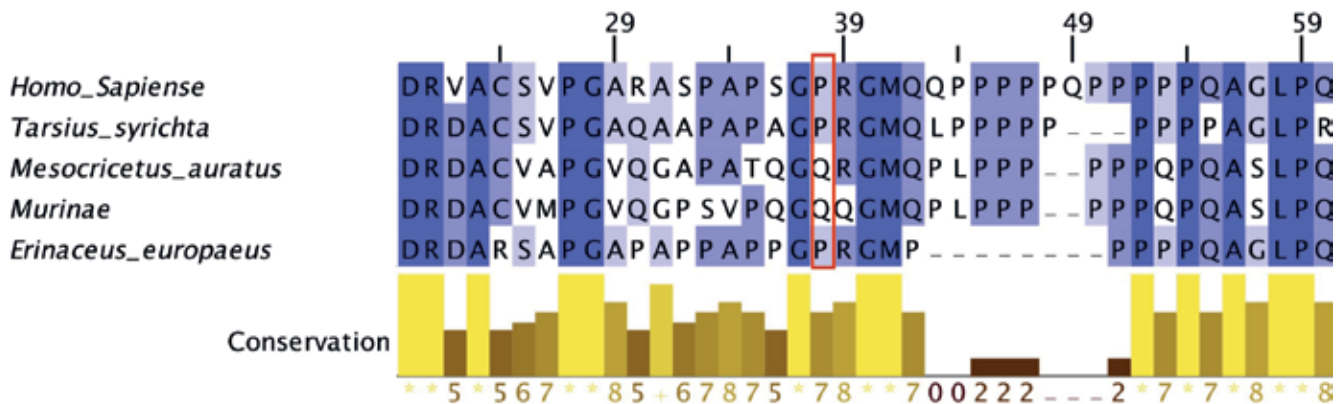


Рис. 4. Вариант P38R является консервативным у некоторых видов.

Генетическое исследование выявило ранее не описанный вариант в гене *RBM20* (10:112404325 C>G RBM20:NM_001134363:exon1:c.C113G:p.P38R), который в соответствии с классификацией ACMG в настоящее время трактуется как вариант неопределенной значимости, но с учетом клинической картины может быть ассоциирован с развитием заболевания (рис. 4).

Обсуждение

В данной работе нами описаны три случая развития ДКМП в детском возрасте, ассоциированные со структурными нарушениями в гене *RBM20*. Транскрипционный фактор сплайсинга *RBM20* является РНК-связывающим белком, содержащим два домена типа “цинковые пальцы” и один РНК-связывающим домен [8, 9]. В геноме человека ген, кодирующий этот белок, располагается на 10 хромосоме и состоит из 14 экзонов, в его состав входит 1227 аминокислот [10]. Основной функцией *RBM20* является сплайсинг мРНК некоторых структурных и сигнальных белков саркомера с включением в них структурных модификаций, необходимых для эффективного функционирования в составе саркомера [8, 11–13].

В 2009г *RBM20* был впервые описан в качестве гена, связанного с развитием ДКМП [8, 11, 14–18]. Позже было показано, что патогенные варианты этого гена связаны с развитием 2–3% случаев ДКМП во всех возрастных группах [14, 15]. Однако в детской группе в качестве причины ДКМП варианты этого гена встречаются в два раза чаще, чем среди взрослых пациентов с ДКМП [19, 20]. Известно, что *RBM20* участвует в сплайсинге мРНК гена *TTN*, кодирующего белок титин [21]. Недавние исследования показали, что мишенью *RBM20* может являться не только ген *TTN*. Так, в миокарде *RBM20* регулирует альтернативный сплайсинг генов, ассоциированных со сборкой саркомера, диастолической функцией и переносом ионов, таких как *CAMK12B*, *CACNA1C*, *FHOD3*, *PDLIM3*, *RTN4* и *RYR2* 2 [13, 22]. Нарушенный сплайсинг *CAMK12B* и *CACNA1C* может влиять на внутриклеточный гомеостаз ионов кальция

и повышать риск внезапной смерти у пациентов с мутациями *RBM20* [11].

Нарушение сплайсинга, связанное с патогенными вариантами в гене *RBM20*, может приводить к изменению биомеханических и сигнальных процессов в клетках миокарда, вызывая патологическое дилатационное ремоделирование и нарушения ритма [13, 22]. Несмотря на то, что механизм *RBM20*-опосредованного сплайсинга остается неизученным, лучше всего описаны постраскрипционные изменения, связанные с *RBM20*, которые происходят с мРНК гена, кодирующего белок титин [12, 22].

У человека ген, кодирующий белок титин, содержит 364 экзона и располагается на 2 хромосоме. Большую часть этого белка занимают повторяющиеся иммуноглобулиновые (Ig) и фибронектин-3 повторы, а оставшуюся часть занимают регионы N2B или N2A и PEVK, а также С-концевой домен [21, 23–25]. Ig и PEVK регионы претерпевают интенсивный альтернативный сплайсинг, опосредованный *RBM20*. В тканях миокарда человека и грызунов существует две основные изоформы титина — N2B (3000 кДа) и N2BA (размером >3200 кДа), а в скелетной мускулатуре экспрессируется только изоформа N2A [26]. Эти изоформы экспрессируются в различном соотношении в зависимости от отдела сердца, типа адаптивного или патологического ремоделирования или стадии развития заболевания [27]. Также существует эмбриональная изоформа титина N2BA, размер которой превышает кардиологическую [28–30] и скелетную [31]. Регуляция уровня растяжимости саркомера осуществляется благодаря экспрессии различных по эластичности изоформ титина. Соотношение экспрессии различных изоформ титина в результате альтернативного сплайсинга играет большое значение в адаптации миокарда к стрессовым воздействиям, объемным перегрузкам и перегрузкам давлением. Нарушение данного соотношения может приводить к ряду патологических процессов в миокарде, включая ДКМП. Известно, что у крыс с нокаутированным геном *RBM20* в скелетных мышцах и мио-

карде экспрессируется изоформа N2BA-G и наблюдается развитие ДКМП [21]. Эти данные говорят о том, что RBM20 играет ключевую роль в процессе сплайсинга титина, что определяет свойства растяжимости миокарда и делает возможным выполнение закона Франка-Старлинга.

Особенностью всех описанных выше клинических случаев ДКМП является связь прогрессирования заболевания с перенесенным инфекционным процессом, вероятнее, вирусной этиологии. Ассоциация между прогрессированием ХСН на фоне ДКМП и инфекцией неоднократно продемонстрирована во многих исследованиях, но молекулярные механизмы патогенеза данного феномена остаются недостаточно исследованными. С учетом большой частоты укорачивающих форм *TTN* в качестве причины ДКМП у пациентов взрослого возраста и патогенных вариантов в гене *RBM20* у детей, возможно, именно присоединение инфекционного процесса на фоне изначально не интактного миокарда с нарушенным соотношением изоформ *TTN* и, соответственно, сниженными адаптационными способностями мио-

карда, является одним из ключевых факторов дебюта и прогрессирования ДКМП. Можно предполагать, что сходный механизм лежит и в основе развития послеродовой кардиомиопатии, что подтверждается рядом опубликованных к настоящему времени наблюдений [32-34]. Дальнейшее исследование молекулярных механизмов патогенеза ДКМП, ассоциированных с патогенными вариантами в генах *TTN* и *RBM20*, является крайне актуальным как для клинической кардиологии, так и для фундаментальной медицины, поскольку откроет потенциальные возможности персонализированного подхода к терапии, и, главное, профилактике раннего дебюта и тяжелого течения генетически обусловленных форм ДКМП в различных возрастных группах.

Финансирование: Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (РНФ) грант № 18-75-00006

Конфликт интересов: все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Литература/References

- Li H, Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics*. 2009 Jul 15;25(14):1754-60. doi:10.1093/bioinformatics/btp324.
- De Pisto MA, Banks E, Poplin R, et al. A framework for variation discovery and genotyping using next-generation DNA sequencing data. *Nat Genet*. 2011 May;43(5):491-8. doi:10.1038/ng.806.
- McKenna A, Hanna M, Banks E, et al. The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome Res*. 2010 Sep;20(9):1297-303. doi:10.1101/gr.107524.110.
- Van der Auwera GA, Carneiro MO, Hartl C, et al. From FastQ data to high confidence variant calls: the Genome Analysis Toolkit best practices pipeline. *Curr Protoc Bioinformatics*. 2013;43:11.101-33. doi:10.1002/0471250953.bi1110s43.
- Wang K, Li M, Hakonarson H. ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data. *Nucleic Acids Res*. 2010 Sep;38(16):e164. doi:10.1093/nar/gkq603.
- Cingolani P, Platts A, Wang le L, et al. A program for annotating and predicting the effects of single nucleotide polymorphisms, SnpEff: SNPs in the genome of *Drosophila melanogaster* strain w1118; iso-2; iso-3. *Fly (Austin)*. 2012 Apr-Jun;6(2):80-92. doi:10.4161/fly.19695.
- Gando I, Morganstein J, Jana K, et al. Infant sudden death: Mutations responsible for impaired Nav1.5 channel trafficking and function. *Pacing Clin Electrophysiol*. 2017 Jun;40(6):703-12. doi:10.1111/pace.13087.
- Watanabe T, Kimura A, Kuroyanagi H. Alternative Splicing Regulator RBM20 and Cardiomyopathy. *Front Mol Biosci*. 2018 Nov 28;5:105. doi:10.3389/fmolb.2018.00105.
- Zerbino DR, Achuthan P, Akanni W, et al. ENSEMBL 2018. *Nucleic Acids Res*. 2018 Jan 4;46(D1):D754-D761. doi:10.1093/nar/gkx1098.
- Coelho MB, Attig J, Ule J, Smith CWJ. Matrin3: connecting gene expression with the nuclear matrix. *Wiley Interdiscip Rev RNA*. 2016 May;7(3):303-15. doi:10.1002/wrna.1336.
- Beqali A. Alternative splicing in cardiomyopathy. *Biophys Rev*. 2018 Aug;10(4):1061-71. doi:10.1007/s12551-018-0439-y.
- Li S, Guo W, Dewey CN, Greaser ML. Rbm20 regulates titin alternative splicing as a splicing repressor. *Nucleic Acids Res*. 2013 Feb 1;41(4):2659-72. doi:10.1093/nar/gks1362.
- Maatz H, Jens M, Liss M, et al. RNA-binding protein RBM20 represses splicing to orchestrate cardiac pre-mRNA processing. *J Clin Invest*. 2014 Aug;124(8):3419-30. doi:10.1172/JCI74523.
- Brauch KM, Karst ML, Herron KJ, et al. Mutations in ribonucleic acid binding protein gene cause familial dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2009 Sep 1;54(10):930-41. doi:10.1016/j.jacc.2009.05.038.
- Li D, Morales A, Gonzalez-Quintana J, et al. Identification of novel mutations in RBM20 in patients with dilated cardiomyopathy. *Clin Transl Sci*. 2010 Jun;3(3):90-7. doi:10.1111/j.1752-8062.2010.00198.x.
- Refaat MM, Lubitz SA, Makino S, et al. Genetic variation in the alternative splicing regulator RBM20 is associated with dilated cardiomyopathy. *Heart Rhythm*. 2012 Mar;9(3):390-6. doi:10.1016/j.hrthm.2011.10.016.
- Rexiati M, Sun M, Guo W. Muscle-Specific Mis-Splicing and Heart Disease Exemplified by RBM20. *Genes (Basel)*. 2018 Jan 5;9(1). pii: E18. doi:10.3390/genes9010018.
- Zahr HC, Jaalouk DE. Exploring the Crosstalk Between LMNA and Splicing Machinery Gene Mutations in Dilated Cardiomyopathy. *Front Genet*. 2018 Jul 9;9:231. doi:10.3389/fgene.2018.00231.
- Kayvanpour E, Sedaghat-Hamedani F, Amr A, et al. Genotype-phenotype associations in dilated cardiomyopathy: meta-analysis on more than 8000 individuals. *Clin Res Cardiol*. 2017 Feb;106(2):127-39. doi:10.1007/s00392-016-1033-6.
- Pugh TJ, Kelly MA, Gowrisankar S, et al. The landscape of genetic variation in dilated cardiomyopathy as surveyed by clinical DNA sequencing. *Genet. Med. Off. J. Am. Coll. Med. Genet*. 2014;16(8):601-8.
- Guo W, Bharmal SJ, Esbona K, Greaser ML. Titin diversity-alternative splicing gone wild. *J Biomed Biotechnol*. 2010;2010:753675. doi:10.1155/2010/753675.
- Guo W, Schafer S, Greaser ML, et al. RBM20, a gene for hereditary cardiomyopathy, regulates titin splicing. *Nat Med*. 2012 May;18(5):766-73. doi:10.1038/nm.2693.
- Kontogianni-Konstantopoulos A, Ackermann MA, Bowman AL, Yap SV, Bloch RJ. Muscle giants: molecular scaffolds in sarcomerogenesis. *Physiol Rev*. 2009Oct;89(4):1217-67. doi:10.1152/physrev.00017.2009.
- Puchner EM, Alexandrovich A, Kho AL, et al. Mechanoenzymatics of titin kinase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Sep 9;105(36):13385-90. doi:10.1073/pnas.0805034105.
- Tskhovrebova L, Trinick J. Properties of titin immunoglobulin and fibronectin-3 domains. *J Biol Chem*. 2004 Nov 5;279(45):46351-4. doi:10.1074/jbc.R400023200.
- Freiburg A, Trombitas K, Hell W, et al. Series of exon-skipping events in the elastic spring region of titin as the structural basis for myofibrillar elastic diversity. *Circ Res*. 2000 Jun 9;86(11):1114-21. doi:10.1161/01.RES.86.11.1114.
- Linke WA, Krüger M. The giant protein titin as an integrator of myocyte signaling pathways. *Physiology (Bethesda)*. 2010 Jun;25(3):186-98. doi:10.1152/physiol.00005.2010.
- Lahmers S, Wu Y, Call DR, et al. Developmental control of titin isoform expression and passive stiffness in fetal and neonatal myocardium. *Circ Res*. 2004 Mar 5;94(4):505-13. doi:10.1161/01.RES.0000115522.52554.86.
- Makarenko I, Opitz CA, Leake MC, et al. Passive stiffness changes caused by upregulation of compliant titin isoforms in human dilated cardiomyopathy hearts. *Circ Res*. 2004 Oct 1;95(7):708-16. doi:10.1161/01.RES.0000143901.37063.2f.
- Warren CM, Krzesinski PR, Campbell KS, et al. Titin isoform changes in rat myocardium during development. *Mech Dev*. 2004 Nov;121(11):1301-12. doi:10.1016/j.mod.2004.07.003.
- Ottenheijm CA, Hidalgo C, Rost K, et al. Altered contractility of skeletal muscle in mice deficient in titin's M-band region. *J Mol Biol*. 2009 Oct 16;393(1):10-26. doi:10.1016/j.jmb.2009.08.009.
- Gammill HS, Chettier R, Brewer A, et al. Cardiomyopathy and Preeclampsia. *Circulation*. 2018 Nov 20;138(21):2359-66. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.117.031527.
- Ware JS, Li J, Mazaika E, et al. Shared Genetic Predisposition in Peripartum and Dilated Cardiomyopathies. *N Engl J Med*. 2016 Jun 30;374(26):2601. doi:10.1056/NEJMc1602671.
- van Spaendonck-Zwarts KY, Posafalvi A, van den Berg MP, et al. Titin gene mutations are common in families with both peripartum cardiomyopathy and dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J*. 2014 Aug 21;35(32):2165-73. doi:10.1093/eurheartj/ehu050.