

Спектр генетических вариантов в десмосомных генах у пациентов с аритмогенной кардиомиопатией правого желудочка

Шестаков А. Г.¹, Благова О. В.², Лутохина Ю. А.², Дземешкевич С. Л.¹, Заклязьминская Е. В.¹

Аритмогенная кардиомиопатия правого желудочка (АКПЖ) — генетически детерминированное заболевание миокарда с высоким риском внезапной сердечной смерти. Наиболее частые генетические формы заболевания ассоциированы с мутациями в генах десмосом.

Цель. Изучение представленности десмосомных форм заболевания и анализ спектра генетических вариантов в генах *PKP2*, *DSG2*, *DSP*, *DSC2* и *JUP* в выборке российских больных с АКПЖ.

Материал и методы. Клиническое обследование и установление диагноза АКПЖ включало электрокардиограмму покоя, 24-ч мониторинг электрокардиограммы по Холтеру, эхокардиографию, рентгенографию органов грудной клетки, биопсию миокарда (по показаниям), магнитно-резонансную томографию сердца с контрастным усилением. Всем пациентам было проведено медико-генетическое консультирование. Поиск мутаций в генах *PKP2*, *DSG2*, *DSP*, *DSC2* и *JUP* был выполнен методом высокопроизводительного секвенирования на платформе IonTorrent с последующим прямым капиллярным секвенированием по Сенгеру непокрытых областей генов. Патогенность выявленных генетических вариантов была оценена согласно современным руководствам по интерпретации генетических вариантов.

Результаты. Диагноз АКПЖ был установлен 80 российским неродственным пациентам. Более половины пробандов (57%) в исследуемой выборке составили пробанды с достоверным диагнозом АКПЖ, пробанды с вероятным и возможным диагнозом АКПЖ — 30% и 13% выборки, соответственно. Семейный анамнез, отягощенный по заболеваниям сердца и/или случаям внезапной сердечной смерти, был отмечен в 30% семей. Варианты IV-V классов патогенности были выявлены у 15 (18,75%) пробандов в генах *PKP2*, *DSG2*, *DSP*. Выявляемость генетических вариантов IV-V классов патогенности различалась в подгруппах больных с различной степенью достоверности диагноза: 13 пробандов (28,3%) в подгруппе с достоверным и 2 пробанда (8,3%) в подгруппе с вероятным диагнозом АКПЖ. В подгруппе с возможным диагнозом генотип-положительных пробандов выявлено не было. Варианты с неизвестным клиническим значением были обнаружены у 13 (16,25%) пробандов.

Заключение. При молекулярно-генетическом исследовании десмосомных генов *PKP2*, *DSG2*, *DSP*, *DSC2* и *JUP* у пациентов с направляющим диагнозом АКПЖ диагностический выход составил 19%. Выявляемость мутаций была наибольшей среди пациентов с достоверным диагнозом АКПЖ и выраженными клиническими признаками заболевания.

Ключевые слова: аритмогенная кардиомиопатия правого желудочка, АКПЖ, медико-генетическое консультирование, десмосомы.

Отношения и деятельность: нет.

¹ФГБНУ Российский научный центр хирургии им. акад. Б. В. Петровского, Москва; ²Факультетская терапевтическая клиника им. В. Н. Виноградова, ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия.

Шестаков А. Г.* — н.с. лаборатории медицинской генетики, ORCID: 0000-0002-4596-8950, Благова О. В. — д.м.н., профессор кафедры факультетской терапии № 1 института клинической медицины, ORCID: 0000-0002-5253-793X, Лутохина Ю. А. — к.м.н., ассистент кафедры факультетской терапии № 1 института клинической медицины, ORCID: 0000-0002-7154-6794, Дземешкевич С. Л. — д.м.н., профессор, г.н.с. отделения хирургического лечения дисфункций миокарда и сердечной недостаточности, ORCID: 0000-0003-0939-1063, Заклязьминская Е. В. — д.м.н., зав. лабораторией медицинской генетики, ORCID: 0000-0002-6244-9546.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
anna.shestak87@gmail.com

АКПЖ — аритмогенная кардиомиопатия правого желудочка, ВСС — внезапная сердечная смерть, VUS — (variant of unknown significance) вариант с неизвестным клиническим значением.

Рукопись получена 16.09.2021

Рецензия получена 11.10.2021

Принята к публикации 16.10.2021



Для цитирования: Шестаков А. Г., Благова О. В., Лутохина Ю. А., Дземешкевич С. Л., Заклязьминская Е. В. Спектр генетических вариантов в десмосомных генах у пациентов с аритмогенной кардиомиопатией правого желудочка. *Российский кардиологический журнал*. 2021;26(10):4692. doi:10.15829/1560-4071-2021-4692

Spectrum of desmosomal gene variations in patients with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy

Shestakov A. G.¹, Blagova O. V.², Lutokhina Yu. A.², Dzemeshevich S. L.¹, Zaklyazminskaya E. V.¹

Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC) is a hereditary myocardial disease with a high risk of sudden cardiac death. The most common genetic forms of the disease are associated with desmosomal gene mutations.

Aim. To study the prevalence of desmosomal forms of ARVC and to analyze variations in the *PKP2*, *DSG2*, *DSP*, *DSC2* and *JUP* genes in a sample of Russian patients with ARVC.

Material and methods. Included patients with ARVC underwent resting electrocardiography (ECG), 24-hour Holter ECG monitoring, echocardiography, chest x-ray, myocardial biopsy (if indicated), contrast-enhanced cardiac magnetic resonance imaging. All patients underwent medical genetic counseling. Mutations in the *PKP2*, *DSG2*, *DSP*, *DSC2*, and *JUP* genes was detected using high-throughput sequencing on the IonTorrent platform, followed by Sanger sequencing of uncovered gene regions. The pathogenicity of identified genetic variations was assessed according to modern guidelines.

Results. ARVC was established in 80 Russian unrelated patients. More than half of the probands (57%) in the study sample had definite diagnosis of ARVC, while 30% and 13% — borderline and possible ARVC, respectively. A positive family history of heart disease and/or SCD was noted in 30%. Genetic variants of pathogenicity class IV-V were detected in 15 (18,75%) probands in the *PKP2*, *DSG2*, *DSP* genes. The detection of genetic variants of pathogenicity class IV-V was different in the subgroups of patients with varying degrees of diagnosis reliability: 13 probands (28,3%) in the subgroup with definite ARVC and 2 probands (8,3%) in the subgroup with borderline ARVC. No genotype-positive probands were found in the subgroup with possible ARVC. Variations of unknown clinical significance were found in 13 (16,25%) probands.

Conclusion. The diagnostic yield of the desmosomal genes *PKP2*, *DSG2*, *DSP*, *DSC2*, and *JUP* was 19% with initial diagnosis of ARVC. The detection of mutations was significantly higher in patients with definite ARVC and severe disease manifestations.

Keywords: arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy, ARVC, medical genetic counseling, desmosomes.

Relationships and Activities: none.

¹B. V. Petrovsky Russian Research Center of Surgery, Moscow; ²V. N. Vinogradov Faculty Therapy Clinic, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia.

Shestak A. G.* ORCID: 0000-0002-4596-8950, Blagova O. V. ORCID: 0000-0002-5253-793X, Lutokhina Yu. A. ORCID: 0000-0002-7154-6794, Dzemeshkevich S. L.

ORCID: 0000-0003-0939-1063, Zaklyazminskaya E. V. ORCID: 0000-0002-6244-9546.

*Corresponding author: anna.shestak87@gmail.com

Received: 16.09.2021 **Revision Received:** 11.10.2021 **Accepted:** 16.10.2021

For citation: Shestak A. G., Blagova O. V., Lutokhina Yu. A., Dzemeshkevich S. L., Zaklyazminskaya E. V. Spectrum of desmosomal gene variations in patients with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Russian Journal of Cardiology*. 2021;26(10):4692. doi:10.15829/1560-4071-2021-4692

Аритмогенная кардиомиопатия правого желудочка (АКПЖ) (OMIM #107970) — генетически детерминированное заболевание миокарда с высоким риском внезапной сердечной смерти (ВСС), характеризующееся фиброзным и/или жировым замещением кардиомиоцитов преимущественно правого желудочка, частыми желудочковыми нарушениями ритма, ведущее к развитию сердечной недостаточности [1].

По данным европейских и американских исследований, АКПЖ встречается в популяции с частотой от 1:2000 до 1:5000 человек [2–4], однако в России масштабных эпидемиологических исследований не проводилось. В разных этнических группах АКПЖ является причиной 10–25% случаев ВСС молодых людей в возрасте 17–40 лет [5–8]. АКПЖ характеризуется аутосомно-доминантным типом наследования с неполной пенетрантностью. Известны случаи аутосомно-рецессивного типа наследования (синдром Наксос, синдром Carvajal) [9–11].

Исторически АКПЖ рассматривали как “болезнь десмосом”, т.к. в большинстве случаев заболевание ассоциировано с потенциально патогенными вариантами в генах, кодирующих десмосомные белки: трансмембранные десмосомные кадгеринины (десмоколлин, десмоглеин) и адаптерные белки (десмоплакин, плакофилин, плакоглобин). Однако в настоящее время идентифицированы потенциально патогенные варианты в генах, кодирующих *area composita* (белки клеточной адгезии, также ассоциированные с десмосомами) [12, 13].

Десмосомы представляют собой сложные белковые структуры клеточной мембраны, которые обеспечивают структурную и функциональную целостность клеток в различных типах тканей, в т.ч. в миокарде. Десмосомы наиболее представлены в клетках и тканях органов, которые подвержены частым механическим воздействиям: кожа, сердце, слюнные железы, щитовидная железа, желудок, печень, поджелудочная железа, кишечник, желчный пузырь, матка, эпителиальные клетки нефронов [14].

Была сформулирована гипотеза, что нарушение сборки десмосом приводит к высвобождению и транслокации в ядро белка плакоглобина, где он действует как конкурент β -катенина и подавляет

канонический Wnt-сигнальный путь. Это приводит к усилению экспрессии генов адипогенеза и фиброгенеза и, таким образом, к доминированию адипогенеза над миогенезом [15]. Кроме того, была показана роль гликоген синтазы киназы 3 β (GSK3 β), супрессора Wnt-сигнального пути, подавление которой приводило к предотвращению или задержке развития аритмогенной кардиомиопатии в клеточных и мышечных моделях заболевания [16].

Недавние исследования подтверждают концепцию тесной функциональной связи между десмосомой и белком натриевого канала $Na_v1.5$. Это подтверждается экспериментами, в которых $Na_v1.5$ совместно осаждается с белком N-кадгеринном [17], а также результатами микроскопии сверхвысокого разрешения, демонстрирующей наличие узлов “адгезии/возбудимости”, образованных агрегатами $Na_v1.5$ и N-кадгерина [18].

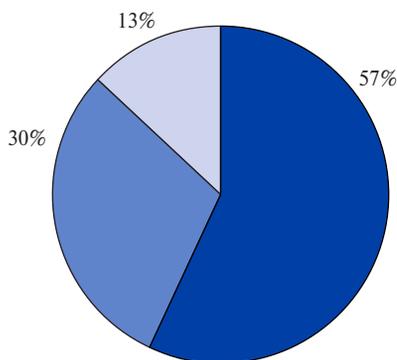
Целью нашего исследования было изучение представленности десмосомных форм заболевания и анализ спектра генетических вариантов в генах *PKP2*, *DSG2*, *DSP*, *DSC2* и *JUP* в выборке российских больных с АКПЖ.

Материал и методы

В исследование были включены 80 пробандов с направляющим диагнозом АКПЖ, установленным на основании диагностических критериев АКПЖ 2010г в специализированных кардиологических и кардиохирургических учреждениях [19]. От всех совершеннолетних пациентов было получено добровольное письменное информированное согласие на участие в исследовании и дальнейшее использование полученных данных в научных целях. За несовершеннолетних согласие было подписано родителем или официальным опекуном.

Клиническое и инструментальное обследование было выполнено по месту первичной постановки диагноза и включало электрокардиограмму покоя, 24-ч мониторинг электрокардиограммы по Холтеру, трансторакальную эхокардиографию, рентгенографию органов грудной клетки, биопсию миокарда (по показаниям), магнитно-резонансную томографию сердца с контрастным усилением. Достоверность диагноза была оценена при помощи

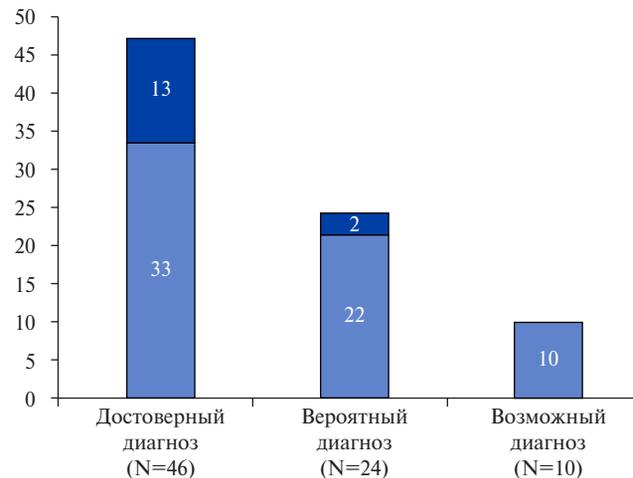
Достоверность диагноза АКПЖ на момент первого обращения



■ Достоверный диагноз
 ■ Вероятный диагноз
 ■ Возможный диагноз

Рис. 1. Выраженность клинических признаков АКПЖ и достоверность диагнозов у пробандов обследованной группы.

Сокращение: АКПЖ — аритмогенная кардиомиопатия правого желудочка.



■ Пробанды с мутациями (N=15)
 ■ Пробанды без выявленных мутаций (N=65)

Рис. 2. Выявляемость генетических вариантов IV-V классов патогенности в десмосомных генах в выборках больных с достоверным, вероятным и возможным диагнозами АКПЖ.

Приложение 1

Номера референсных последовательностей (NCBI) кДНК генов PKP2, DSG2, DSP, DSC2, JUP, TMEM43, LMNA, DES, TGFB3, PLN, SCN5A, CTNNA3, EMD, CRYAB, LDB3, FLNC, включенных в исследуемую панель генов

№	Ген	Изоформа кДНК (NCBI RefSeq)
1	PKP2	NM_004572.3
2	DSG2	NM_001943.5
3	DSP	NM_004415.4
4	DSC2	NM_024422.6
5	JUP	NM_001352773.1
6	TMEM43	NM_024334.3
7	LMNA	NM_170707.4
8	DES	NM_001927.4
9	TGFB3	NM_003239.4
10	PLN	NM_002667.5
11	SCN5A	NM_198056.2
12	CTNNA3	NM_013266.4
13	EMD	NM_000117.3
14	CRYAB	NM_001289807.1
15	LDB3	NM_007078.3
16	FLNC	NM_001458.4

диагностических критериев АКПЖ 2010г [19] до проведения ДНК-диагностики.

Всем пациентам было проведено медико-генетическое консультирование (первичная и повторная консультации). Средний срок динамического наблюдения 73 мес. (минимальный — 7 мес., максимальный 11 лет). Генетическое исследование было проведено в соответствии с протоколом, утвержден-

ным Локальным этическим комитетом ФГБНУ РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского (Протокол № 135), и с нормами Хельсинкской декларации (1964г), и ее последующими пересмотрами.

Поиск мутаций в “десмосомных” генах PKP2, DSG2, DSP, DSC2 и JUP в рамках целевой панели генов (Приложение 1) был выполнен методом высокопроизводительного секвенирования на платформе IonTorrent (прибор: Ion PGM™ System) (Thermo Fisher Scientific, США) с последующим прямым капиллярным секвенированием по Сенгеру непокрытых областей генов. Верификация выявленных методом NGS генетических вариантов и каскадный семейный скрининг для родственников пробандов с генетическими вариантами IV-V классов патогенности также были выполнены методом прямого секвенирования по Сенгеру.

Патогенность выявленных генетических вариантов была оценена *in silico* согласно руководствам по интерпретации генетических вариантов [20-22]. Каждому выявленному генетическому варианту был присвоен класс патогенности от I до V в соответствии с руководствами [20, 21]. В финальное заключение по результатам ДНК-диагностики, выданное пациентам, и последующий анализ были включены только генетические варианты V (патогенный), IV (вероятно патогенный), III (вариант с неизвестным клиническим значением) классов патогенности.

Для патогенных (V) и вероятно патогенных (IV) генетических вариантов мы далее в статье использовали исторический термин “мутации”.

Количественные показатели представлены в виде среднего ± SD.

Таблица 1

**Спектр генетических вариантов IV-V классов патогенности,
выявленных у пациентов с АКПЖ в генах, кодирующих белки десмосом**

Ген	Нуклеотидная замена	Изменение белка	Частота (gnomAD)	Класс патогенности	Число пробандов
<i>PKP2</i>	c.336+1G>T		н/д	V	1
<i>PKP2</i>	c.962_965del	p.Val321Alafs*30	н/д	IV	1
<i>PKP2</i>	c.1523_1538del	p.Asn508Thrfs*7	н/д	IV	2
<i>PKP2</i>	c.1613G>A	p.W538*	0,00001591	IV	1
<i>DSG2</i>	c.146G>A	p.R49H	0,000004008	IV	1
<i>DSG2</i>	c.523+1G>A		0,000004201	V	1
<i>DSG2</i>	c.581C>T (в гомозиготном состоянии)	p.S194L (в гомозиготном состоянии)	0,00002807	IV	2
<i>DSP</i>	c.1141-2A>G		0,000003981	V	1
<i>DSP</i>	c.1542dupT	p.Pro515Serfs*13	н/д	IV	1
<i>DSP</i>	c.1846C>T	p.Gln616*	н/д	IV	1
<i>DSP</i>	c.2130+1G>A		н/д	V	1
<i>DSP</i>	c.2672dup	p.Y891*	н/д	IV	1
<i>DSP</i>	c.3583delinsAATATAGT	p.Val1195Asnfs*8	н/д	IV	1

Сокращение: н/д — нет данных.

Результаты

Медико-генетическое консультирование и генетическое обследование было выполнено 80 пробандам (мужчин 36) с направляющим диагнозом АКПЖ, который был установлен в специализированных кардиологических и кардиохирургических центрах. Средний возраст пациентов на момент обращения за ДНК-диагностикой составил 38,7±14,4 лет.

Была оценена достоверность клинического диагноза АКПЖ, установленного до проведения ДНК-диагностики, на основании диагностических критериев АКПЖ 2010г [19]. Больше всего в исследуемой выборке было пациентов с достоверным диагнозом (N=46; средний возраст 40,7±15,1 лет; 24 М). Пробанды с вероятным (N=24; средний возраст 35,0±12,5 лет; 11 М) и возможным (N=10; средний возраст 37,8±14,4 лет; 1 М) диагнозами АКПЖ составили 30% и 13% выборки, соответственно (рис. 1).

Семейный анамнез, явно отягощенный по первичным заболеваниям сердца и/или случаям ВСС, был отмечен в 24 (30%) семьях. У 20 пробандов кардиомиопатии были выявлены у родственников 1 степени родства, в 4 семьях — также у родственников второй и более степеней родства. В двух семьях отмечалась внезапная смерть родственника молодого возраста (до 40 лет). Кроме того, в двух семьях с отягощенным семейным анамнезом была отмечена смерть родственника в младенчестве (до 1 года) по неизвестной причине. По утверждению 21 пробанда, они были единственными больными среди известных родственников, поэтому частоту спорадических случаев АКПЖ у российских больных мы оцениваем не ниже 26%. В остальных семьях (35 пробандов, 44%) информации о состоянии здоровья родственников (в т.ч. одного из родителей) было недостаточно для

заклучения о семейном или спорадическом характере заболевания.

Мы проанализировали спектр выявленных генетических вариантов в десмосомных генах *PKP2*, *DSG2*, *DSP*, *DSC2* и *JUP* в обследованной группе пациентов (n=80) (табл. 1). Варианты с высоким классом патогенности (IV-V) были выявлены у 15 пробандов, что составило 18,75% всей обследованной группы пациентов (табл. 1). Половина выявленных генетических вариантов были выявлены впервые.

Большинство мутаций было обнаружено в гетерозиготном состоянии, связаны с аутосомно-доминантным типом наследования. Наибольшее число мутаций (n=6) было выявлено в гене *DSP*. В гене *PKP2* было выявлено 4 мутации у 5 пробандов, в гене *DSG2* — 3 мутации у 4 пробандов. Делеция c.1523_1538del в гене *PKP2* была нами обнаружена у двоих неродственных пробандов. Миссенс-мутация p.S194L в гомозиготном состоянии в гене *DSG2* была также обнаружена у двоих неродственных пробандов.

В генах *DSC2* и *JUP* вариантов с высоким классом патогенности выявлено не было, что позволяет считать эти генетические формы АКПЖ достаточно редкими в группе российских больных.

Также мы проанализировали выявляемость генетических вариантов IV-V классов патогенности в десмосомных генах отдельно в подгруппах больных с различной степенью достоверности диагноза АКПЖ, оцененной только на основании клинических проявления заболевания, до проведения ДНК-диагностики (рис. 2).

Патогенные и вероятно патогенные генетические варианты в десмосомных генах преобладали в подгруппе пробандов с достоверным диагнозом АКПЖ,

Таблица 2

Спектр генетических вариантов III класса патогенности, выявленных у пациентов с АКПЖ в генах, кодирующих белки десмосом

№	Ген	Нуклеотидная замена	Изменение белка	Частота (gnomAD)	Класс патогенности	Число пробандов
1	<i>PKP2</i>	c.1576A>G	p.T526A	0,0001202	III	1
2	<i>PKP2</i>	c.1745T>C	p.L582P	н/д	III	1
3	<i>DSG2</i>	c.733A>C	p.N245H	0,00003183	III	1
4	<i>DSP</i>	c.273+5G>A		0,00028	III	1
5	<i>DSP</i>	c.1349C>T	p.P450L	0,00001769	III	1
6	<i>DSP</i>	c.2622C>G	p.I874M	0,00004248	III	1
7	<i>DSP</i>	c.3600T>G	p.N1200K	0,00007083	III	1
8	<i>DSP</i>	c.4018C>T	p.R1340C	0,00004389	III	1
9	<i>DSP</i>	c.7856T>C	p.I2619T	н/д	III	1
10	<i>DSC2</i>	c.601G>A	p.V201I	0,00001193	III	1
11	<i>DSC2</i>	c.1436G>A	p.R479H	0,000007077	III	1
12	<i>JUP</i>	c.884_886del	p.Leu295_Ala296delinsPro	н/д	III	1
13	<i>JUP</i>	c.1916A>G	p.E639G	н/д	III	1

Сокращение: н/д — нет данных.

включая пробандов-носителей >1 потенциально патогенного генетического варианта (13 пробандов; 28,3% в подгруппе) (рис. 2). В подгруппе пробандов с вероятным диагнозом мутации были обнаружены у 2 пробандов (8,3% в подгруппе). Среди пробандов с минимальным набором диагностических признаков (диагноз АКПЖ — возможный) генотип-позитивных пациентов выявлено не было (рис. 2).

Нами были также выявлены 13 редких генетических вариантов, которым на основании критериев ACMG2015 и POMG [20, 21] был присвоен III класс патогенности (варианты с неизвестным клиническим значением (далее — VUS) (табл. 2). Эти варианты были выявлены у 13 пробандов (16,25%). Трое из этих пробандов имели также выявленные патогенные/вероятно патогенные генетические варианты и 10 (12,5%) пробандов — только варианты с неизвестным клиническим значением. Наибольшее число вариантов с неизвестным клиническим значением было выявлено в гене *DSP*, который также доминировал по количеству выявленных мутаций. К сожалению, статус находок III класса патогенности не позволяет проводить какой-либо убедительный сравнительный анализ клинической картины у пациентов — носителей этих вариантов.

Обсуждение

Первоначально АКПЖ считали “болезнью десмосом”, однако, с учетом новых диагностических возможностей ДНК-диагностики, описания мутаций в других генах показали генетическую гетерогенность заболевания. Можно предположить, что десмосомные генетические варианты вызывают чаще выраженный фенотип АКПЖ, в то время как мутации в других генах приводят к спектру заболеваний,

включая другие типы кардиомиопатий и фенокопий АКПЖ.

Фенотип “десмосомной” АКПЖ связывают с поражением как правого, так и левого желудочка, в ряде случаев возможны кожные проявления заболевания, например, при синдроме Наксос [13].

На сегодняшний день основными подходами к ДНК-диагностике АКПЖ являются NGS-секвенирование таргетных панелей генов и полноэкзомное секвенирование [2]. Несмотря на расширение возможностей генетического тестирования, молекулярная причина заболевания остается не выявленной примерно у 50% пациентов, а часть находок представляет собой генетические варианты с неизвестным клиническим значением [2]. Рассматривается возможность полногеномного секвенирования, однако оно не приводит к заметному увеличению выявляемости мутаций, поэтому соотношение стоимость/эффективность такого подхода остаётся субоптимальным.

Согласно современным руководствам [19, 23], идентификация патогенного/вероятно патогенного генетического варианта, ассоциированного с фенотипами АКПЖ и/или аритмогенной кардиомиопатии левого желудочка, является большим диагностическим критерием заболевания. Поэтому одно из основных назначений этого исследования — уточнение диагноза АКПЖ у пробанда. Но только у 2 (2,5% обследованной когорты) пробандов с вероятным диагнозом АКПЖ в результате ДНК-диагностики нами были выявлены варианты IV-V класса патогенности, и удалось поднять статус диагноза до достоверного. Данные нашего исследования показывают, что наибольшая выявляемость мутаций наблюдается у пробандов, имеющих развёрнутую клиническую

картину заболевания, для которых появление дополнительного большого критерия не меняет уровня достоверности диагноза. Это может создать впечатление о снижении актуальности ДНК-диагностики для больных с достоверным диагнозом АКПЖ. Однако значение положительных результатов генетического тестирования остаётся высоким для членов семьи пробанда (1 и 2 степени родства, а также более отдаленных родственников) и для системы здравоохранения в целом. Во всех современных рекомендациях подчёркивается необходимость регулярного динамического наблюдения и инструментального обследования для родственников 1 и 2 степени родства, если в семье уже есть пациент с диагнозом АКПЖ. Срок начала динамического наблюдения родственников совпадает с постановкой диагноза пробанду. Однако сроки выхода из динамического наблюдения не оговорены. Учитывая неполную пенетрантность мутаций и различные сроки манифестации, динамическое наблюдение подразумевается пожизненным. Это значит, что даже в отсутствии проявлений заболевания родственники должны регулярно обследоваться, что является временной, психологической, а зачастую и финансовой нагрузкой на семью, а также на систему здравоохранения. В ряде европейских стран, например, в Швеции, роль каскадного семейного скрининга и выявление *генотип-негативных* родственников, которым не нужна программа динамического наблюдения, рассматривается как приоритетная цель, более значимая для системы здравоохранения, чем собственно подтверждение диагноза у пробанда [24].

В нашей группе больных мутации были обнаружены в генах *PKP2*, *DSG2* и *DSP*. Типы АКПЖ, обусловленные мутациями в этих генах, относят к наиболее частым во всех этнических группах, кроме жителей острова Наксос (Греция) [9]. Обычно наибольшее число мутаций выявляются в гене плакофилина (*PKP2*) — 20-46% [2]. В европейских странах носители мутаций в гене *PKP2* составляют до 70% среди носителей мутаций в генах десмосом [25]. В гене десмоглеина (*DSG2*) у европейских больных выявляют 3-20% мутаций [2]. В странах Азии частота мутаций в гене *DSG2* выше, чем в европейских: 15,8% в Японии [26] vs 4% в Нидерландах [25].

Определена частота мутаций также для генов десмоплакина (*DSP*) — 3-20% и десмоколлина (*DSC2*) — 1-15% [2]. В нашем исследовании больше всего мутаций было выявлено в гене *DSP*, а не в *PKP2*, что отличает нашу выборку больных от европейских выборок.

Фенотип пациентов с мутацией в гене *DSP* имеет свои особенности: у этих пациентов достоверно чаще встречается бивентрикулярный вариант АКПЖ, развиваются систолическая дисфункция ЛЖ (40%) и хроническая сердечная недостаточность (13%), по

сравнению с больными с мутацией в гене *PKP2* [27, 28]. Кроме того, есть данные, что мутации в гене *DSP* ассоциированы с присоединением миокардита [29], что подтверждается нашими собственными данными [30, 31].

Мутации в гене *JUP* выявляются редко во всех этнических группах, их выявляемость достоверно не известна. В нашем исследовании нам также не удалось выявить ни одного варианта в этом гене, достоверно связанного с заболеванием.

Для некоторых мутаций при АКПЖ известен “эффект основателя”, например, для мутации p.C796R в гене *PKP2*, обнаруженной у 9 неродственных пациентов, все голландского происхождения [32]. Ни одной из “европейских” мутаций с эффектом основателя не было найдено у российских пациентов. Подавляющее большинство мутаций встретились только один раз и были уникальными для семьи. Только 2 мутации встретились более, чем однажды: мутация p.S194L в гомозиготном состоянии в гене *DSG2* была обнаружена в двух семьях кавказского происхождения, и мутация c.1523_1538del в гетерозиготном состоянии в гене *PKP2* также была обнаружена у двух неродственных пробандов. На сегодняшний день информации о родстве двух пробандов-носителей одной и той же мутации нет, однако нельзя исключить, что оба пробанда могут иметь общего предка.

В нашем исследовании в генах десмосом были выявлены 15 мутаций и 10 вариантов с неизвестным клиническим значением. Соотношение “мутация:VUS” составило 1:0,86. Таким образом, около 1/3 больных имели хотя бы один выявленный редкий десмосомный вариант. Однако *диагностическая* эффективность проведенного генетического исследования составила только 19%, т.к. обоснованный вклад в диагностику имеют только варианты IV-V класса патогенности. Интересно, что в нашей выборке больных пробандов-носителей десмосомных вариантов III-V классов патогенности было в 2 раза больше в подгруппе с достоверным диагнозом АКПЖ (41,3%) по сравнению с подгруппами с вероятным (16,6%) и возможным (20,0%) диагнозами. На наш взгляд, это является косвенным подтверждением того, что многие варианты, квалифицированные как VUS, имеют патогенетическое значение, однако недостаточная изученность молекулярного патогенеза не позволяет корректно использовать эти данные в диагностических целях.

В нашей лаборатории существует правило вынесения вариантов III класса патогенности в генах, достоверно ассоциированных с АКПЖ, в финальное заключение. Поэтому большое внимание уделяется корректному медико-генетическому консультированию семей, где такие варианты были выявлены. В протокол врачебной консультации стандартно вносится фраза “Выявление вариантов III класса пато-

генности не может использоваться для подтверждения или исключения какого-либо диагноза, а также служить основанием для назначения, изменения или отмены ранее назначенного лечения или обследования”. Прямое указание на это позволяет избежать нежелательных ятрогенных воздействий на семью и родственников, а также избежать назначения необоснованных инструментальных обследований. Однако вынесение этих вариантов в заключение имеет важный аспект — открывает перед семьёй возможность повторной интерпретации выявленных вариантов. Генетические и фундаментальные исследования активно развиваются, данные о генетической природе заболеваний и функциональной значимости отдельных генетических вариантов накапливаются и обновляются очень быстро. Неоднократно подчеркивалась необходимость периодического ре-анализа и повторных контактов с пациентами при получении новых данных в отношении выявленных у них генетических вариантов [33, 34]. Оптимальная частота ре-контактов и ре-интерпретации таких вариантов всё ещё является предметом обсуждения, но большинство экспертов рекомендуют повторно оценивать значение вариантов через 1–2 года после выдачи первичного заключения. Поэтому корректно проведенное медико-генетическое консультирование таких семей включает в себя обсуждение значимости, возможности, периодичности и процедуры повторного обращения за ре-интерпретацией вариантов с неизвестным клиническим значением.

Литература/References

- Corrado D, Wichter T, Link MS, et al. Treatment of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: An international task force consensus statement. *Eur Heart J*. 2015;36(46):3227-37. doi:10.1093/eurheartj/ehv162.
- James CA, Calkins H. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: Evidence for progression increases. *Eur. Heart J*. 2020;14(41):1411-3. doi:10.1093/eurheartj/ehz705.
- Oomen AWGJ, Semsarian C, Puranik R, et al. Diagnosis of Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy: Progress and Pitfalls. *Hear. Lung Circ*. 2018;27(11):1310-7. doi:10.1016/j.hlc.2018.03.023.
- Calkins H, Corrado D, Marcus F. Risk stratification in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Circulation*. 2017;21(136):2068-82. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.117.030792.
- Dalal D, Nasir K, Bomma C, et al. Arrhythmogenic right ventricular dysplasia: A United States experience. *Circulation*. 2005;112(25):3823-32. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.105.542266.
- Marcus FI, Fontaine GH, Guiraudon G, et al. Right ventricular dysplasia: a report of 24 adult cases. *Circulation*. 1982;65(2):384-98.
- Tabib A, Loire R, Chababreysse L. Circumstances of death and gross and microscopic observations in a series of 200 cases of sudden death associated with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy and/or dysplasia. *ACC Current Journal Review*. 2004;3(4):3000-5. doi:10.1161/01.CIR.000.108396.65446.21.
- Gordeeva MV, Mitrofanova LB, Pakhomov AV, et al. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia as a cause of sudden cardiac death of young adults. *J Arrhythmology*. 2012;69:38-48. (In Russ.) Гордеева М.В., Митрофанова Л.Б., Пахомов А.В. и др. Аритмогенная кардиомиопатия/дисплазия правого желудочка как причина внезапной сердечной смерти молодых людей. *Вестник аритмологии*. 2012;69:38-48.
- McKoy G, Protonotarios N, Crosby A, et al. Identification of a deletion in plakoglobin in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy with palmoplantar keratoderma and woolly hair (Naxos disease). *The Lancet*. 2000;355(9221):2119-24. doi:10.1016/S0140-6736(00)02379-5.
- Carvajal-Huerta L. Epidermolytic palmoplantar keratoderma with woolly hair and dilated cardiomyopathy. *J. Am. Acad. Dermatol*. 1998;3(39):418-21. doi:10.1016/s0190-9622(98)70317-2.
- Norgett EE, Hatsell SJ, Carvajal-Huerta L, et al. Recessive mutation in desmoplakin disrupts desmoplakin-intermediate filament interactions and causes dilated cardiomyopathy, woolly hair and keratoderma. *Hum. Mol. Genet*. 2000;9(18):2761-6. doi:10.1093/hmg/9.18.2761.
- Rampazzo A. Regulatory mutations in transforming growth factor-β3 gene involved in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Cardiovasc. Res*. 2012;2(96):191-4. doi:10.1016/j.cardiores.2004.10.005.
- Towbin JA, McKenna WJ, Abrams DJ, et al. 2019 HRS expert consensus statement on evaluation, risk stratification, and management of arrhythmogenic cardiomyopathy. *Heart Rhythm*. 2019;16(11):e301-e372. doi:10.1016/j.hrthm.2019.05.007.
- Cirillo N. 150th anniversary series: Desmosomes in physiology and disease. *Cell Commun. Adhes*. 2014;2(21):85-8. doi:10.3109/15419061.2013.863281.
- Garcia-Gras E, Lombardi R, Giocondo MJ, et al. Suppression of canonical Wnt/β-catenin signaling by nuclear plakoglobin recapitulates phenotype of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *The Journal of clinical investigation*. 2006;116(7):2012-21. doi:10.1172/JCI27751.
- Chelko SP, Asimaki A, Andersen P, et al. Central role for GSK3β in the pathogenesis of arrhythmogenic cardiomyopathy. *JCI Insight*. 2016;1(5):e85923. doi:10.1172/jci.insight.85923.
- Sato PY, Coombs W, Lin X, et al. Interactions between ankyrin-G, Plakophilin-2, and Connexin43 at the cardiac intercalated disc. *Circ Res*. 2011;109(2):193-201. doi:10.1161/CIRCRESAHA.111.247023.
- Leo-Macias A, Agullo-Pascual E, Sanchez-Alonso JL, et al. Nanoscale visualization of functional adhesion/excitability nodes at the intercalated disc. *Nat Commun*. 2016;7:10342. doi:10.1038/ncomms10342.
- Marcus FI, McKenna WJ, Sherrill D, et al. Diagnosis of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia. *Eur. Heart J*. 2010;31(7):806-14. doi:10.1093/eurheartj/ehq025.
- 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;5(17):405-24. doi:10.1038/gim.2015.30.

Заключение

При молекулярно-генетическом исследовании десмосомных генов *PKP2*, *DSG2*, *DSP*, *DSC2* и *JUP* у пациентов с направляющим диагнозом АКПЖ диагностический выход составил 19%. При этом выявляемость мутаций зависела от выраженности клинических признаков заболевания, и была наибольшей среди пациентов с наибольшей достоверностью диагноза. Выявляемость вариантов с неизвестным клиническим значением также была высокой, соотношение “мутация:VUS” составило почти 1:1. Хотя эти генетические варианты в настоящее время являются *клинически не используемыми* и не позволяют принимать никаких действий, мы считаем возможным выносить их в заключения о результатах ДНК-диагностики. Однако эта тактика оправдана только в том случае, если пациенты получают соответствующее медико-генетическое консультирование, и они смогут обратиться за переинтерпретацией этих вариантов через 1–2 года.

Учитывая центральную роль десмосом в процессе клеточной адгезии, дальнейшие функциональные исследования мутантных белков могут пролить свет не только на уточнение молекулярного патогенеза заболевания, но и способствовать корректной переинтерпретации генетических вариантов.

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

21. Ryzhkova OP, Kardymon OL, Prohorchuk EB, et al. Guidelines for the interpretation of massive parallel sequencing variants. *Meditsinskaya genetika*. 2019;18(2):3-23. (In Russ.) Рызжкова 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.
22. Abou Tayoun AN, Pesaran T, DiStefano MT, et al. Recommendations for interpreting the loss of function PVS1 ACMG/AMP variant criterion. *Hum. Mutat.* 2018;11(39):1517-24. doi:10.1002/humu.23626.
23. Corrado D, Perazzolo Marra M, Zorzi A, et al. Diagnosis of arrhythmogenic cardiomyopathy: The Padua criteria. *Int J Cardiol.* 2020;319:106-14. doi:10.1016/j.ijcard.2020.06.005.
24. Baturova MA, Haugaa KH, Jensen HK, et al. Atrial fibrillation as a clinical characteristic of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: experience from the Nordic ARVC Registry. *International journal of cardiology.* 2020;298:39-43. doi:10.1016/j.ijcard.2019.07.086.
25. Groeneweg JA, Bhonsale A, James CA, et al. Clinical Presentation, Long-Term Follow-Up, and Outcomes of 1001 Arrhythmogenic Right Ventricular Dysplasia/Cardiomyopathy Patients and Family Members. *Circ. Cardiovasc. Genet.* 2015;3(8):437-46.
26. Ohno S, Nagaoka I, Fukuyama M, et al. Age-dependent clinical and genetic characteristics in Japanese patients with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia. *Circ. J.* 2013;6(77):1534-42. doi:10.1253/circj.CJ-66-0185.
27. Baucé B, Rampazzo A, Basso C, et al. Clinical phenotype and diagnosis of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in pediatric patients carrying desmosomal gene mutations. *Heart Rhythm.* 2011;8(11):1686-95.
28. Sen-Chowdhry S, Syrris P, Ward D, et al. Clinical and genetic characterization of families with arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy provides novel insights into patterns of disease expression. *Circulation.* 2007;115(13):1710-20.
29. Lopez-Ayala JM, Pastor-Quirante F, Gonzalez-Carrillo J, et al. Genetics of myocarditis in arrhythmogenic right ventricular dysplasia. *Heart Rhythm.* 2015;12(4):766-73. doi:10.1016/j.hrthm.2015.01.001.
30. Blagova OV, Lutokhina YA, Kogan EA, et al. Myocarditis in right ventricular arrhythmogenic dysplasia/cardiomyopathy: frequency, role in phenotype development, results of treatment. *Clinical and Experimental Surgery. Petrovsky Journal.* 2020;8(3):59-72. (In Russ.) Благова О.В., Лутохина Ю.А., Коган Е.А. и др. Миокардит при аритмогенной дисплазии/кардиомиопатии правого желудочка: частота, роль в формировании фенотипа, результаты лечения. 2020;8(3):59-72. doi:10.33029/2308-1198-2020-8-3-59-72.
31. Lutokhina YA, Blagova OV, Nedostup AV, et al. Contribution of concomitant myocarditis to the development of various clinical types of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2021;20(5):2781. (In Russ.) Лутохина Ю.А., Благова О.В., Недоступ А.В. и др. Вклад сопутствующего миокардита в формирование различных клинических форм аритмогенной кардиомиопатии правого желудочка. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2021;20(5):2781. doi:10.15829/1728-8800-2021-2781.
32. Kapplinger JD, Landstrom AP, Salisbury BA, et al. Distinguishing arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia-associated mutations from background genetic noise. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2011;23(57):2317-27. doi:10.1016/j.jacc.2010.12.036.
33. David KL, Best RG, Brenman LM, et al. Patient re-contact after revision of genomic test results: points to consider—a statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med.* 2019;21:769-71. doi:10.1038/s41436-018-0391-z.
34. El Mecky J, Johansson L, Plantinga M, et al. Reinterpretation, reclassification, and its downstream effects: challenges for clinical laboratory geneticists. *BMC Med Genomics.* 2019;12(1):170. doi:10.1186/s12920-019-0612-6.