

ОПЫТ ПРАКТИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДНК-ДИАГНОСТИКИ ПРИ АРИТМОГЕННОЙ КАРДИОМИОПАТИИ ПРАВОГО ЖЕЛУДОЧКА

Шестак А. Г.¹, Благова О. В.², Лутохина Ю. А.², Фролова Ю. В.¹, Дземешкевич С. Л.¹, Заклязьминская Е. В.^{1,3}

Цель. Анализ результатов практического применения ДНК-диагностики двух наиболее частых форм аритмогенной кардиомиопатии правого желудочка (АКПЖ) в работе кардиологического и кардиохирургического стационаров.

Материал и методы. Клиническое, лабораторное обследование выборки из 38 больных с направляющим диагнозом АКПЖ с последующим медико-генетическим консультированием и ДНК-диагностикой двух наиболее частых форм АКПЖ.

Результаты. Мутации в двух генах, ответственных за самые частые формы АКПЖ, были выявлены у 22,9% больных. Проведен анализ выявляемости мутаций в группах с достоверным, вероятным и возможным диагнозом АКПЖ и суммарного вклада генетических данных в диагностику заболевания.

Заключение. Полученные на российской выборке больных результаты согласуются с данными о представленности двух частых генетических форм АКПЖ в других этнических группах.

Российский кардиологический журнал 2016, 10 (138): 21–27

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2016-10-21-27>

Ключевые слова: аритмогенная кардиомиопатия правого желудочка, медико-генетическое консультирование, каскадный семейный скрининг.

¹ФГБУ Российский научный центр хирургии имени академика Б. В. Петровского, Москва; ²Факультетская терапевтическая клиника им. В. Н. Виногра-

дова Первого МГМУ им. И. М. Сеченова, Москва; ³ФГБОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия.

Шестак А. Г.* — н.с. лаборатории медицинской генетики, Благова О. В. — д.м.н., профессор кафедры факультетской терапии №1 лечебного факультета, Лутохина Ю. А. — аспирант по специальности “Кардиология” кафедры факультетской терапии №1 лечебного факультета, Фролова Ю. В. — д.м.н., в.н.с. отделения хирургического лечения дисфункций миокарда и сердечной недостаточности, Дземешкевич С. Л. — д.м.н., профессор, зав. отделением хирургического лечения дисфункций миокарда и сердечной недостаточности, Заклязьминская Е. В. — д.м.н., профессор, зав. лабораторией медицинской генетики.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

anna.shestak87@gmail.com

АКПЖ — аритмогенная кардиомиопатия правого желудочка, ВСС — внезапная сердечная смерть, МРТ — магнитно-резонансная томография, ПЖ — правый желудочек, ЭКГ — электрокардиография, Эхо-КГ — эхокардиография.

Рукопись получена 10.10.2016

Рецензия получена 12.10.2016

Принята к публикации 17.10.2016

A CASE OF DNA-DIAGNOSTICS APPLICATION FOR ARRHYTHMOGENIC RIGHT VENTRICLE CARDIOMYOPATHY

Shestak A. G.¹, Blagova O. V.², Lutokhina Yu. A.², Frolova Yu. V.¹, Dzemeshkevich S. L.¹, Zaklyazminskaya E. V.^{1,3}

Aim. Analysis of the results of DNA-diagnostics in practice, for the two most common types of arrhythmogenic cardiomyopathies of the right ventricle (ACRV) in cardiovascular and surgery setting.

Material and methods. Clinical and laboratory study performed, of the selection of 38 patients with a diagnosis at presentation — ACRV, with consequent genetic counseling and DNA-diagnostics for 2 most common types of ACRV.

Results. Mutations in two genes responsible for the most common ACRV types, were found in 22,9% of patients. Analysis of occurrence rate was done for mutations in groups with definite, probable and possible diagnoses of ACRV, and of total impact of genetic data on diagnostics of the disease.

Conclusion. Data obtained on the Russian selection of patients shows similarity with the data on prevalence of two most common genetic forms of ACRV in other ethnicities.

Russ J Cardiol 2016, 10 (138): 21–27

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2016-10-21-27>

Key words: right ventricle arrhythmogenic cardiomyopathy, medical genetic counseling, cascade family screening.

¹V.B. Petrovskiy Russian National Research Centre of Surgery, Moscow;

²V.N. Vinogradov Faculty Clinics of I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health, Moscow; ³N.I. Pirogov Russian National Research Medical University (RNRMU), Moscow, Russia.

Аритмогенная кардиомиопатия правого желудочка (АКПЖ, МIM*#107970) — генетически детерминированное заболевание миокарда с высоким риском внезапной сердечной смерти (ВСС), характеризующееся фиброзным и/или жировым замещением кардиомиоцитов преимущественно правого желудочка (ПЖ), частыми желудочковыми нарушениями ритма, ведущее к развитию сердечной недостаточности. В ряде случаев жизнеугрожающие желудочковые аритмии могут возникнуть до развития

явного структурного и функционального ремоделирования миокарда (так называемая “скрытая” фаза АКПЖ), что значительно затрудняет раннюю диагностику заболевания. Нередко первым и единственным симптомом болезни является ВСС. Патоморфологическая диагностика лиц, умерших внезапно в возрасте до 35 лет показала, что на долю недиагностированной АКПЖ приходится значительная часть случаев ВСС: 12,5–25% в Италии, 17% в США, 14,1% в России [1, 2].

Таблица 1

Гены, ответственные за развитие АКПЖ и доступность ДНК-диагностики для пациентов

Ген	Локус	Белок	Частота мутаций	Выполняется в ФГБНУ РНЦХ
<i>TGFB3</i>	14q23-q24	Трансформирующий фактор роста бета-3	Редкая	Доступна
<i>CTNNA3</i>	10q21.3	α T-катенин	Редкая	Доступна
?	14q12-q22	-	Неизвестна	Невозможна
?	2q32.1-32.3	-	Неизвестна	Невозможна
<i>TMEM43</i>	3p21.3	Трансмембранный белок 43	Частая в Канаде	Доступна
<i>PLN</i>	6q22.1	Фосфоламбан	Редкая	Доступна
<i>DES</i>	2q35	Десмин	Редкая	Доступна
<i>DSP</i>	6p24	Десмоплакин	6-16%	Доступна
<i>PKP2</i>	12p11	Плакофилин	25-40%	Доступна
<i>DSG2</i>	18q12.1	Десмоглеин	12-40%	Доступна
<i>DSC2</i>	18q21	Десмоколлин	2-7%	Доступна
<i>JUP</i>	17q21	Плакоглобин	Редкая	Доступна
<i>LMNA</i>	1q22	Ламин А и С	Редкая	Доступна
<i>TTN</i>	2q31.2	Титин	Редкая	Доступна

По разным оценкам, распространенность этого вида кардиомиопатии в мире варьирует от 1:1000 до 1:5000 населения [3]. В России масштабных эпидемиологических исследований проблемы не проводилось, поэтому частота встречаемости АКПЖ достоверно неизвестна. В российских медицинских изданиях опубликованы серии наблюдений за пациентами и описаны отдельные клинические случаи [4-7].

Более 50% случаев АКПЖ носят семейный характер [8]. В большинстве семейных случаев заболевание наследуется по аутосомно-доминантному типу, что заставляет ожидать высокой частоты случаев болезни среди кровных родственников пробанда. Аутосомно-рецессивные формы встречаются значительно реже [9, 10]. Наличие двух мутаций в заинтересованных генах часто сопровождается бивентрикулярным поражением сердца и, как правило, ассоциировано с более серьезным прогнозом [11]. Соотношение по полу М:Ж составляет 2-3:1, хотя ни одного гена, локализованного на половых хромосомах, до сих пор не известно [1].

АКПЖ — генетически гетерогенное заболевание. В настоящее время идентифицированы 14 локусов, в которых картированы 12 генов, ответственных за АКПЖ (табл. 1), большая часть которых кодирует белки десмосом. В последние годы было показано, что причиной АКПЖ могут служить мутации и в других, не-десмосомных, генах. Однако имеющийся на сегодня список из 12 заинтересованных генов явно не исчерпывает генетического разнообразия заболевания, так как скрининг всех известных генов позволяет выявить мутации только у 60-65% больных с АКПЖ [12].

В настоящее время для постановки диагноза используют Модифицированные критерии диагностики АКПЖ (Marcus, et al. 2010) [13]. Выявление

мутаций в генах, ответственных за АКПЖ, учитывается в качестве большого диагностического критерия заболевания. Наиболее часто мутации выявляются в гене плакофилина (*PKP2*) — 25-40%, и гене десмоглеина (*DSG2*) — в 12-40% [14].

Нами были выполнены анализ спектра мутаций в генах *PKP2* и *DSG2* и анализ результатов практического применения ДНК-диагностики двух наиболее частых генетических форм АКПЖ в работе кардиологического и кардиохирургического стационаров.

Материал и методы

Клиническое и лабораторное обследование включало: сбор семейного анамнеза, общий и биохимический анализ крови, определение титров антикардиальных антител, ЭКГ, суточное мониторирование ЭКГ по Холтеру, Эхо-КГ, рентгенографию органов грудной клетки, биопсию миокарда (по показаниям), МРТ сердца (по показаниям).

Для проведения молекулярно-генетического исследования была сформирована выборка, включающая 38 больных из 35 неродственных семей с диагнозом АКПЖ: достоверным, вероятным либо возможным, поставленным на основании Модифицированных критериев диагностики АКПЖ (2010г) [13].

Все пациенты дали информированное согласие на проведение генетического исследования. Средний возраст пробандов на момент обращения за медико-генетическим консультированием составил 38,2 лет, минимальный возраст 14 лет, максимальный — 71 год. Соотношение пробандов по полу 22Ж:13М. Контрольную группу составили образцы ДНК 100 неродственных здоровых российских добровольцев.

Генетическое обследование включало: выделение ДНК из цельной крови стандартным методом; прямое секвенирование по Сенгеру кодирующих и при-

лежащих интронных последовательностей генов *PKP2* и *DSG2*, анализ результатов секвенирования, оценку частот встречаемости выявленных генетических вариантов в группе здоровых добровольцев, биоинформатический анализ эффекта выявленных мутаций.

По запросу семьи была проведена ранняя ДНК-диагностика и медико-генетическое консультирование в возрасте 10 месяцев сыну пробанда с выявленной мутацией в гене *PKP2* для подтверждения или исключения диагноза АКПЖ.

Результаты

В нашем исследовании поиск мутаций в генах *PKP2* и *DSG2* был выполнен 35-ти пробандам с направляющим диагнозом АКПЖ.

Клинический диагноз ставился согласно критериям 2010г [13] и до проведения ДНК-диагностики был расценен как достоверный у 18 больных, как вероятный у 7 больных и как возможный — у 10 больных. Помимо разной степени достоверности диагноза, пациенты характеризовались выраженным разнообразием клинической картины заболевания. Так, согласно предложенной нами в 2012г клинической классификации АКПЖ [4], отчетливо выделялись три основных клинических варианта болезни:

1) латентный аритмический вариант — встречался наиболее часто, основным проявлением являлась частая желудочковая экстрасистолия, у части больных в сочетании с пробежками неустойчивой желудочковой тахикардии, но без документированных пароксизмов устойчивой тахикардии, фибрилляции желудочков, клинической смерти; аритмия исходно расценивалась как “идиопатическая”, дифференциальная диагностика проводилась главным образом с латентным миокардитом, у части больных нами диагностировано его сочетание с АКПЖ; из критериев АКПЖ в этой подгруппе определялись, главным образом, нарушения ре — и деполяризации на ЭКГ в отсутствие диагностически значимой дилатации ПЖ, что могло расцениваться и как ранняя фаза болезни, и как более благоприятный вариант течения (возможно, за счет менее злокачественных мутаций); генетическое исследование у больных с данным вариантом рассматривалось как важный и необходимый этап уточнения диагноза, при этом можно было ожидать значительной доли негативных результатов;

2) развернутый аритмический вариант — его главным проявлением были пароксизмы устойчивой желудочковой тахикардии с потерей сознания и клиническая смерть в отсутствие признаков застойной сердечной недостаточности; дифференциальный диагноз проводился не только с миокардитом, но и с ишемической болезнью сердца, одной пациентке была выполнена эндомиокардиальная биопсия, которая позволила полностью исключить воспаление

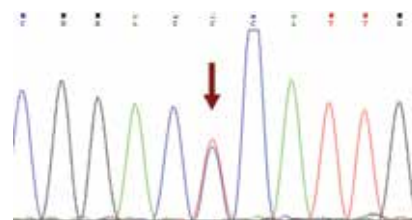


Рис. 1. Фрагмент прямого секвенирования по Сенгеру последовательности экзона 8 гена *PKP2* у пациента ARVD37. Стрелкой обозначена замена p.L582P (с.1745T>C).

и выявила типичное для АКПЖ фиброзно-жировое замещение миокарда; ни в одном случае данных за миокардит получено не было, что позволяет рассматривать данный вариант как наиболее “чистое” и типичное проявление АКПЖ, но встретился он реже других; именно у этих больных можно было в первую очередь ожидать позитивных результатов ДНК-диагностики, хотя диагноз был достоверным еще до ее завершения;

3) вариант с бивентрикулярной сердечной недостаточностью — входным диагнозом у этих больных был, как правило, синдром дилатационной кардиомиопатии, о наличии АКПЖ заставляли думать признаки выраженной дилатации ПЖ с дискинезами и снижением ФВ (МР — и Эхо-критерии) в сочетании с желудочковыми аритмиями различной степени выраженности (от умеренной экстрасистолии до устойчивой тахикардии и ВСС); у большинства пациентов предполагалось сочетание АКПЖ с миокардитом, а в двух случаях также с некомпактным миокардом; у двух пациентов сочетание АКПЖ и активного вирусного миокардита было подтверждено при аутопсии, еще у одной — при биопсии; в этой подгруппе генетическая диагностика могла бы не только подтвердить наличие мутаций, типичных для АКПЖ, но и объяснить ее злокачественное течение с вовлечением левого желудочка и наличие второй кардиомиопатии (некомпактной) у отдельных больных.

Таким образом, необходимость в генетической верификации была особенно высока у пациентов со сложным дифференциальным диагнозом и, с другой стороны, особенности клинической картины позволяли отчасти прогнозировать результаты ДНК-диагностики.

В гене *PKP2* у четырех пробандов были выявлены мутации: p.W538*, c.1523_1538del, c.IVS2+1G>T, p.L582P. Частота мутаций в *PKP2* в исследуемой выборке составила 11,4%. Пример выявления мутации в гене *PKP2* у пациента с АКПЖ представлен на рисунке 1.

В гене *DSG2* у четырех пробандов были выявлены миссенс-мутации p.S194L, p.V533I, p.N245H и p.R49H.

Таблица 2

Результаты биоинформатического анализа эффекта выявленных миссенс-мутаций

Ген	Замена	Оценка PolyPhen2	Оценка SIFT
<i>PKP2</i>	p.L582P	вероятно патогенная	патогенная
<i>DSG2</i>	p.S194L	вероятно патогенная	патогенная
<i>DSG2</i>	p.V533I	мягкая	мягкая
<i>DSG2</i>	p.N245H	возможно патогенная	патогенная
<i>DSG2</i>	p.R49H	вероятно патогенная	патогенная

Таблица 3

Выявляемость мутаций в группах больных с достоверным, вероятным и возможным диагнозами

Диагноз	Общее число пробандов	Число пробандов с выявленными мутациями (%)
Достоверный	18	7 (38,9%)
Вероятный	7	0 (0%)
Возможный	10	1 (10%)
Всего	35	8 (22,9%)

Таблица 4

Клинико-генетическая характеристика пробандов с выявленными мутациями

КОД ПАЦИЕНТА	ПОЛ/ВОЗРАСТ	1. Глобальная/региональная дисфункция и структурные изменения	2. Биопсия	3. Нарушения реполяризации	4. Нарушения деполаризации/проводимости	5. Аритмии	Достоверность диагноза до ДНК-диагностики, клинический вариант	МУТАЦИЯ (ГЕН)	Диагноз после ДНК-диагностики
ARVD4	М/71	1 БОЛЬШОЙ		1 БОЛЬШОЙ	1 БОЛЬШОЙ	1 МАЛЫЙ	ДОСТОВЕРНЫЙ, Развёрнутый	p.W538X (<i>PKP2</i>)	ДОСТОВЕРНЫЙ
ARVD25	М/34	2 БОЛЬШИХ		1 БОЛЬШОЙ	1 БОЛЬШОЙ + 1 МАЛЫЙ	1 БОЛЬШОЙ + 1 МАЛЫЙ	ДОСТОВЕРНЫЙ, Развёрнутый	c.1523_1538del (<i>PKP2</i>)	ДОСТОВЕРНЫЙ
ARVD25-I (сын)	М/10 мес.						ВОЗМОЖНЫЙ	Мутации, выявленной у отца, нет	ИСКЛЮЧЕН
ARVD36	Ж/25	1 БОЛЬШОЙ		1 МАЛЫЙ		1 МАЛЫЙ	ДОСТОВЕРНЫЙ, Развёрнутый	c.IVS2+1G>T (<i>PKP2</i>)	ДОСТОВЕРНЫЙ
ARVD37	М/45	2 БОЛЬШИХ			1 МАЛЫЙ	1 МАЛЫЙ	ДОСТОВЕРНЫЙ, Развёрнутый	p.L582P (<i>PKP2</i>)	ДОСТОВЕРНЫЙ
NRF13	М/26			1 БОЛЬШОЙ	1 БОЛЬШОЙ	1 БОЛЬШОЙ + 1 МАЛЫЙ	ДОСТОВЕРНЫЙ, С бивентрикулярной ХСН	p.S194L (<i>DSG2</i>)	ДОСТОВЕРНЫЙ
ARVD13	Ж/36		1 МАЛЫЙ	1 БОЛЬШОЙ	1 БОЛЬШОЙ	1 МАЛЫЙ	ДОСТОВЕРНЫЙ, Развёрнутый	p.V533I (<i>DSG2</i>)	ДОСТОВЕРНЫЙ
ARVD26	М/22	1 МАЛЫЙ				2 МАЛЫХ	ВОЗМОЖНЫЙ, Развёрнутый	p.N245H (<i>DSG2</i>)	ДОСТОВЕРНЫЙ
ARVD23	М/19	1 БОЛЬШОЙ		1 БОЛЬШОЙ	2 БОЛЬШИХ		ДОСТОВЕРНЫЙ, Латентный аритмический	p.R49H (<i>DSG2</i>)	ДОСТОВЕРНЫЙ

Частота мутаций в *DSG2* в исследуемой выборке составила 11,4%.

Был проведен биоинформатический анализ всех выявленных несинонимичных замен с помощью программ PolyPhen2 и SIFT [15, 16]. Результаты анализа миссенс-мутаций представлены в таблице 2.

Выявленные мутации не были обнаружены в контрольной группе.

Большинство носителей мутаций в генах *PKP2* и *DSG2* в нашей выборке составили больные с достоверным клиническим диагнозом (38,9%). Выявляемость мутаций в группах больных с достоверным, вероятным и возможным диагнозами представлена в таблице 3.

Клиническая характеристика пациентов с выявленными мутациями и вклад генетических данных в диагностику заболевания представлены в таблице 4.

Мутации были выявлены в первую очередь у пациентов с развернутым аритмическим вариантом АКПЖ, преимущественно в гене *PKP2*. Диагноз АКПЖ генетически верифицирован также у пациента с картиной тяжелой дилатационной кардиомиопатии, преобладанием правожелудочковой недостаточности и наличием больших ЭКГ-критериев заболевания. В итоге, при всех клинических вариантах получены положительные результаты ДНК-диагностики.

Обсуждение

В настоящее время результаты генетических исследований всё шире используются в кардиологической практике для уточнения диагноза АКПЖ. Развитие методов молекулярной генетики, накопление данных о генетической природе заболевания позволили повысить чувствительность диагностики

АКПЖ. На сегодняшний день наличие мутаций в генах, ответственных за развитие заболевания, рассматривается как “большой” критерий в Модифицированных критериях диагностики АКПЖ [13].

Мутации в двух генах, ответственных за самые частые формы АКПЖ, были выявлены у 8-ми пробандов из 35-ти, что составило 22,9% обследованной группы больных. Полученные на российской выборке больных результаты согласуются с данными о представленности этих генетических форм в Европе [14]. Мы считаем необходимым расширить спектр рутинно анализируемых генов для повышения эффективности ДНК-диагностики.

Вместе с тем, несмотря на успешный скрининг генов-кандидатов АКПЖ, имеющийся на сегодня список из 12 заинтересованных генов явно не исчерпывает генетического разнообразия заболевания. На сегодняшний день, скрининг всех известных генов позволяет выявить мутации только у 60-65% больных с АКПЖ [12].

Некоторые исследования демонстрируют, что лишь 30% пациентов с верифицированными мутациями в генах десмосом удовлетворяют Модифицированным критериям диагностики АКПЖ [17]. Это связано с тем, что экспрессивность и пенетрантность заболевания очень вариабельны даже у членов одной семьи — носителей мутации. Кроме того, по всей видимости, значительную роль в формировании фенотипа играют различные факторы, такие как пол (мужской пол является дополнительным фактором риска ВСС [18, 19]), возраст, уровень физических нагрузок, сопутствующие инфекционные заболевания, гормональный фон, эмоциональный стресс [20].

Роль ДНК-диагностики АКПЖ особенно важна в сомнительных диагностических случаях. При выявлении мутации (добавлении большого диагностического критерия) пациенты переходят из категории “возможный” или “вероятный” диагноз в категорию “достоверный”, что влияет на дальнейшую тактику ведения больного, в особенности, на мероприятия, направленные на профилактику ВСС.

Мы оценили количество диагностических критериев до и после проведения ДНК-диагностики у пациентов в нашей выборке. Выявленные мутации и имевшиеся комбинации диагностических критериев представлены в таблице 4. Как видно из данных таблицы, выявление мутации, характерной для АКПЖ, у пробанда ARVD26 позволило увеличить достоверность диагноза. Даже в случае достоверного клинического диагноза проведение ДНК-диагностики является необходимым для окончательного подтверждения диагноза наследственного заболевания, “золотым стандартом” обследования и позволяет перейти к обследованию членов семьи.

В последние годы накоплены описания больных с несколькими мутациями в генах десмосом: наличие

двух мутаций в одном гене (компаунд-гетерозиготы), мутации в более чем одном гене (дигенное и полигенное наследование). В 2009г Bhuiyan, et al. описали дигенные формы АКПЖ, вызванные мутациями в генах *DSC2* и *DSG2* [21]. Дальнейшие исследования подтвердили, что множественные мутации в генах десмосом ассоциированы с более тяжелым течением заболевания и являются дополнительным фактором риска ВСС, выявление которого, в сочетании с другими факторами, расширяет показания к имплантации ИКД [19]. Описано, что у имеющих мутации в гене десмоплакина достоверно чаще развивается систолическая дисфункция ЛЖ (40%) и ХСН (13%), нежели у лиц с мутацией в гене плакофилина [22]. Кроме того, есть данные, что трансплантация сердца требуется достоверно чаще тем пациентам, у которых выявлено 2 и более мутации [22, 23].

Таким образом, выявление двух мутаций в заинтересованных генах может рассматриваться как независимый генетический фактор риска ВСС. Результаты ДНК-диагностики в ряде случаев необходимы для прогнозирования течения заболевания и, соответственно, выбора тактики лечения.

Большинство выявляемых в генах десмосом патогенных мутаций — это инсерции, делеции, нонсенс-мутации, приводящие к синтезу укороченного белка или недостаточному синтезу белка дикого типа (гаплонедостаточность). Такие мутации значимо нарушают функцию белка, и их патогенетическое значение, как правило, не вызывает сомнений. Миссенс-мутации, т.е. приводящие к замене одной аминокислоты на другую в полипептидной цепи, составляют до 20% всех выявляемых мутаций в гене *PKP2*, и до 60% — в гене *DSG2* [24]. Корректная оценка роли таких мутаций в развитии заболевания, как правило, очень сложна, особенно если генетическое изменение было обнаружено впервые. Гены, ответственные за АКПЖ, высокополиморфны и содержат большое количество несинонимичных замен, часто встречающихся и у здоровых лиц [25], поэтому интерпретация каждой находки проводится с привлечением популяционных, биоинформатических и, по возможности, экспериментальных данных. Результаты биоинформатического анализа эффекта выявленных миссенс-мутаций у пациентов представлены в таблице 2.

Проблема интерпретации является первоочередной задачей: наличие вариантов с неясным клиническим значением (variant of unknown significance — VUCS) без больших оснований не является подтверждением диагноза и не позволяет выполнять пренатальную диагностику. На сегодняшний день, по данным HRS/ENRA Consensus Statement [12], скрининг шести основных генов-кандидатов позволяет выявить мутации примерно у 60% больных с АКПЖ, еще у 16% выявляются варианты с неясным клиническим значением (VUCS), т.е. на 4 мутации приходится

1 VUCS [12]. Такой высокий процент VUCS на момент публикации руководства (2011г) объясняется тем, что скрининг генов-кандидатов АКПЖ был начат не так давно, а функциональный анализ замен требует времени и средств, но ежегодное число публикаций на эту тему растёт. В дальнейшем, с расширением экспериментальных и биоинформатических возможностей анализа замен, число вариантов, не подлежащих корректной клинической интерпретации, будет снижаться, и информативность результатов ДНК-диагностики будет расти. В настоящей работе, спустя 6 лет после первой публикации руководства, на восемь выявленных мутаций, данные по которым мы представляем, был выявлен один VUCS (то есть соотношение сигнал:шум составило 8:1).

Важное значение опубликованного HRS/EHRA Consensus Statement [12] состоит также в том, что нём подробно обсуждаются показания к ДНК-диагностике, отдельно для пробандов и для членов их семей.

Во всех семьях, где была выявлена генетическая причина заболевания, появилась возможность провести ДНК-диагностику АКПЖ у родственников (включая раннюю и пресимптоматическую). Пресимптоматическая ДНК-диагностика среди членов семьи пробанда выполняется каскадным способом (каскадный семейный скрининг): в первую очередь тестируются родственники первой степени родства (родители и дети), затем — ближайшие родственники облигатных носителей, братья и сестры. Дальнейшему тестированию подлежат только родственники носителей мутации. Учитывая возможность длительного бессимптомного течения заболевания и высокий риск внезапной смерти, выявление носителей мутации позволяет проводить эффективную первичную профилактику ВСС. Родственникам пациентов с АКПЖ и клинически здоровым носителям мутаций необходимо выполнять кардиологическое обследование, включающее в себя ЭКГ в покое в 12 отведениях, суточное мониторирование ЭКГ по Холтеру, трансторакальную ЭхоКГ и нагрузочную пробу, каждые 2-3 года, в особенности в подростковом и молодом возрасте [26, 27]. Кроме того, целесообразно рекомендовать ограничение участия в соревновательных видах спорта здоровым носителям мутаций (класс IIa). Согласно рекомендациям по ведению пациентов с АКПЖ от 2015г, профилактическая имплантация ИКД не рекомендована асимптомным пациентам с АКПЖ без факторов риска и клинически здоровым носителям мутации (класс III) [28].

Таким образом, для родственников очень важны не только положительные, но и отрицательные результаты ДНК-диагностики, которые позволяют избежать затратного многолетнего мониторинга без клинической необходимости.

Одним из таких примеров является выполненная ранняя ДНК-диагностика АКПЖ по запросу семьи для ребенка 10 месяцев, сына пациента с выявленной

делецией с.1523_1538del в гене *PKP2* [29]. Нам удалось исключить носительство делеции у ребенка. Важно отметить, что снятие диагноза наследственного заболевания с серьёзным прогнозом имело важное психологическое значение для членов семьи и избавило их от тревоги, связанной с неопределённостью в отношении здоровья ребёнка.

В последнее десятилетие достижения в генетике позволили быстро и эффективно секвенировать геном человека и получать данные, затрачивая меньше времени и средств. Технология Секвенирования нового поколения (Next Generation Sequencing, NGS) позволяет одномоментно анализировать большое количество генов, идентифицировать мутации в новых генах-кандидатах, что находит всё большее применение в клинической практике. Так, например, с помощью технологии NGS в семье с АКПЖ идентифицировали первую мутацию в гене десмина (*DES*), который не входил ранее в список генов, ассоциированных с заболеванием [30]. Полагаем, что в дальнейшем список генов, ответственных за развитие АКПЖ, будет расширяться.

Заключение

Нами был проведен анализ результатов практического применения ДНК-диагностики двух наиболее частых форм АКПЖ.

Мутации в двух генах, ответственных за самые частые формы АКПЖ, были выявлены у 22,9% больных. Полученные на российской выборке больных результаты согласуются с данными о представленности двух частых генетических форм АКПЖ в других этнических группах. Результаты ДНК-диагностики имели весомое значение для верификации диагноза у пробандов и членов их семей, в том числе на доклинических стадиях развития заболевания. Положительные результаты (выявление мутаций) были использованы для стратификации риска ВСС и влияли на последующее принятие решения о необходимости имплантации ИКД. В настоящее время недостаточно данных для точной оценки прогностического значения каждой конкретной мутации. Однако мы считаем, что верификация у пациента генетически детерминированной кардиомиопатии как неуклонно прогрессирующего заболевания, повышает настороженность и врачей, и пациентов, позволяя сосредоточить внимание на профилактике экзогенных факторов и своевременном лечении сопутствующих заболеваний, которые в комбинации могут существенно ухудшить прогноз. Такими факторами бесспорно являются профилактика и своевременное лечение миокардита, а также контроль физических и спортивных нагрузок у пациентов с субъективно хорошим самочувствием.

Благодарности. Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 16-15-10421.

Литература

1. Azaouagh A, Churzidse S, Konorza T, et al. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: a review and update. *Clin. Res. Cardiol.* 2011; 100(5): 383-94.
2. Gordеева 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. Russian. (Гордеева М.В., Митрофанова Л.Б., Пахомов А.В. др. Аритмогенная кардиомиопатия/дисплазия правого желудочка как причина внезапной сердечной смерти молодых людей. *Вестник аритмологии.* 2012; 69: 38-48).
3. Quartaa G, Elliott PM. Diagnostic criteria for arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed).* 2012; 65(7): 599-605.
4. Blagova OV, Nedostup AV, Morozova NS, et al. Arrhythmogenic right ventricular dysplasia: polymorphism of clinical manifestations. *Kardiologiya.* 2012; 52(4): 85-94. Russian. (Благова О.В., Недоступ А.В., Морозова Н.С. и др. Аритмогенная дисплазия правого желудочка: полиморфизм клинических проявлений. *Кардиология.* 2012; 4: 85-94).
5. Fomina IG, Sinitsyn VE, Sinitsyna MG, et al. *J Arrhythmology.* 2003; 31: 80-6. Russian. (Фомина И.Г., Синицын В.Е., Синицына М.Г. и др. Аритмогенная дисплазия правого желудочка. *Вестник аритмологии.* 2003; 31: 80-6).
6. Mitrofanova LV, Beschuk OV, Tatarsky RB, et al. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy and viral infection: possible combinations and role in pathogenesis of ventricular tachyarrhythmias. *J Arrhythmology.* 2010; 58: 15-20. Russian. (Митрофанова Л.Б., Бещук О.В., Татарский Р.Б. и др. Аритмогенная кардиомиопатия правого желудочка и вирусная инфекция: возможные сочетания и роль в патогенезе желудочковых тахикардий. *Вестник аритмологии.* 2010; 58: 15-20).
7. Shapieva AN, Zaklyazminskaya EV, Frolova YuV, et al. Arrhythmogenic cardiomyopathy of the right ventricle comorbid with hemodynamically significant secondary interatrial septal defect. *Russ J Cardiol* 2014; 5 (109): 61-5. Russian. (Шапиева А.Н., Заклязьминская Е.В., Фролова Ю.В. и др. Аритмогенная кардиомиопатия правого желудочка в сочетании с гемодинамически значимым вторичным дефектом межпредсердной перегородки. *Российский кардиологический журнал* 2014; 5 (109): 61-5).
8. Ellinor PT, MacRae CA, Thierfelder L. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Heart Fail Clin.* 2010; 6(2): 161-77.
9. 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). *Lancet* 2000; 355: 2119-24.
10. 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; 1; 9(18): 2761-6.
11. Lazzarini E, Jongbloed JD, Pilichou K, et al. The ARVD/C Genetic Variants Database: 2014 Update. *Hum Mutat.* 2015; 36(4): 403-10.
12. HRS/EHRA Expert Consensus Statement on the State of Genetic Testing for the Channelopathies and Cardiomyopathies. *Europace.* 2011; 13(8): 1077-109.
13. Marcus FI, McKenna WJ, Sherrill D, et al. Diagnosis of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: proposed modification of the Task Force Criteria. *Eur Heart J.* 2010; 31(7): 806-14.
14. 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; 57: 2317-27.
15. Adzhubei IA, Schmidt S, Peshkin L, et al. *Nat Methods* 2010; 7(4): 248-9.
16. Kumar P, Henikoff S, Ng PC. Predicting the effects of coding non-synonymous variants on protein function using the SIFT algorithm. *Nat Protoc.* 2009; 4(7): 1073-81.
17. Towbin JA. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: a paradigm of overlapping disorders. *Ann Noninvasive Electrocardiol.* 2008; 13(4): 325-6.
18. Bhonsale A, James CA, Tichnell C, et al. Risk stratification in arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy-associated desmosomal mutation carriers. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2013; 6: 569-78.
19. Rigato I, Baucé B, Rampazzo A, et al. Compound and digenic heterozygosity predicts lifetime arrhythmic outcome and sudden cardiac death in desmosomal gene-related arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet* 2013; 6: 533-42.
20. Sen-Chowdhry S, Syrris P, Pantazis A, et al. Mutational heterogeneity, modifier genes, and environmental influences contribute to phenotypic diversity of arrhythmogenic cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet.* 2010; 3(4): 323-30.
21. Bhuiyan ZA, Jongbloed JD, vanderSmagt J, et al. Desmoglein-2 and desmocollin-2 mutations in dutch arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy patients: results from a multicenter study. *Circ Cardiovasc Genet.* 2009; 2: 418-27.
22. Bhonsale A, Groeneweg JA, James CA, et al. Impact of genotype on clinical course in arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy-associated mutation carriers. *Eur Heart J.* 2015; 7; 36(14): 847-55.
23. Calkins H. Arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy-three decades of progress. *Circ J.* 2015; 79(5): 901-13.
24. Campuzano O, Alcalde M, Allegue C, et al. Genetics of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *J Med Genet.* 2013; 50(5): 280-9.
25. Koopmann TT, Walker S, Kaur G, et al. The spectrum and prevalence of genetic background noise in patients with arrhythmogenic (right ventricular) cardiomyopathy. (Abstract f130122537). Presented at the 63rd Annual Meeting of The American Society of Human Genetics, October 23, 2013 in Boston, MA).
26. Rampazzo A, Nava A, Malacrida S, et al. Mutation in human desmoplakin domain binding to plakoglobin causes a dominant form of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Am J Hum Genet.* 2002; 71(5): 1200-6.
27. te Riele AS, James CA, Rastegar N, et al. Yield of Serial Evaluation in At-Risk Family Members of Patients With ARVD/C. *J Am Coll Cardiol* 2014; 64: 293-301.
28. 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.
29. Zaklyazminskaya EV, Shestak AG, Noskova MV, et al. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: DNA diagnostics development and clinical case. *Clin Experiment Surg Petrovsky J.* 2013; 1: 91-6. Russian. (Заклязьминская Е.В., Шестак А.Г., Носкова М.В. и др. Аритмогенная кардиомиопатия правого желудочка: разработка ДНК-диагностики и клиническое применение. *Клиническая и экспериментальная хирургия.* 2013; 1: 91-6).
30. Hedberg C, Melberg A, Kuhl A, et al. Autosomal dominant myofibrillar myopathy with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy 7 is caused by a des mutation. *Eur J Hum Genet* 2012; 20: 984-5.

ОПЕЧАТКА

В статье Евсиков Е.М., Теплова Н.В., Майтесян Д.А., Шарипов Р.А., Жапуева М.Х., Левчук Н.Н., Каширин В.В., Червякова Г.А., Курумлидзе Е.Г., Абдурагимов С.А. ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У БОЛЬНЫХ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ АОРТЫ ПРИ ОСЛОЖНЕНИИ ОСТРОЙ ТРОМБОТИЧЕСКОЙ ОККЛЮЗИЕЙ. *Российский кардиологический журнал.* 2016;(9):14-18. DOI:10.15829/1560-4071-2016-9-14-18

Должность и научное звание автора читать: Теплова Н.В. — д.м.н., профессор кафедры госпитальной терапии №1 лечебного факультета.