

Некомпактный миокард левого желудочка, ассоциированный с укорачивающими вариантами в гене тайтина (*TTN*)

Вахрушев Ю. А., Вершинина Т. Л., Федотов П. А., Козырева А. А., Киселев А. М., Фомичева Ю. В., Васичкина Е. С., Первунина Т. М., Костарева А. А.

Цель. Проанализировать возможную ассоциацию генетических вариантов в гене тайтина (*TTN*) с развитием и клиническим течением некомпактного миокарда в различных возрастных группах.

Материал и методы. В статье рассмотрены три клинических случая пациентов с диагнозом некомпактного миокарда, проходивших лечение в НМИЦ им. В. А. Алмазова. Для проведения генетического обследования было использовано секвенирование нового поколения с использованием кардиопа-нели, включающей 108 генов, ассоциированных с развитием кардиомиопатий, а также полногеномное секвенирование и секвенирование по Сэнгеру для подтверждения выявленных генетических вариантов.

Результаты. При проведении генетического обследования были выявлены генетические варианты в гене *TTN*, приводившие к синтезу укороченных форм белка: в первых двух случаях причиной некомпактного миокарда была делеция размером в тринадцать нуклеотидов со сдвигом рамки считывания, во втором — нонсенс-мутация. Приведен алгоритм оценки патогенности выявленных вариантов и схема диагностического генетического поиска, позволившая установить их причинную роль в отношении развития заболевания.

Заключение. Определение причинной роли укорачивающих форм гена *TTN* в отношении развития кардиомиопатий и, в частности, некомпактного миокарда левого желудочка, требует проведения комплексного клинического, сегрегационного и биоинформатического анализа с использованием международных баз данных и применением биоинформатических программных ресурсов.

Ключевые слова: некомпактный миокард, тайтин, кардиомиопатия.

Отношения и деятельность. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 18-75-00006).

ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия.

Вахрушев Ю. А.* — ассистент кафедры лабораторной медицины и генетики, ORCID: 0000-0001-8911-1927, Вершинина Т. Л. — зав. отделением детской

кардиологии и медицинской реабилитации, ORCID: 0000-0003-1311-2020, Федотов П. А. — к.м.н., зав. научно-исследовательской лаборатории высокотехнологичных методов лечения хронической 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, Киселев А. М. — к.б.н., н.с. научно-исследовательской лаборатории молекулярной кардиологии и генетики, ORCID: 0000-0002-5524-6900, Фомичева Ю. В. — врач-генетик Центральной клинико-диагностической лаборатории, ORCID: 0000-0001-8950-8617, Васичкина Е. С. — д.м.н., профессор, г.н.с. научно-исследовательского отдела сердечно-сосудистых заболеваний, ORCID: 0000-0001-7336-4102, Первунина Т. М. — к.м.н., директор Института перинатологии и педиатрии, ORCID: 0000-0001-9948-7303, Костарева А. А. — к.м.н., директор Института молекулярной биологии и генетики, ORCID: 0000-0002-9349-6257.

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

ГКМП — гипертрофическая кардиомиопатия, ДКМП — дилатационная кардиомиопатия, ДМПП — дефект межпредсердной перегородки, КМП — кардиомиопатия, ЛЖ — левый желудочек, МРТ — магнитно-резонансная томография, НМ — некомпактный миокард, ПБЛНПГ — полная блокада левой ножки пучка Гиса, СН — сердечная недостаточность, ЭКГ — электрокардиография, ЭхоКГ — эхокардиография, ACMG — Американский колледж медицинской генетики.

Рукопись получена 20.07.2020

Рецензия получена 25.08.2020

Принята к публикации 01.09.2020



Для цитирования: Вахрушев Ю. А., Вершинина Т. Л., Федотов П. А., Козырева А. А., Киселев А. М., Фомичева Ю. В., Васичкина Е. С., Первунина Т. М., Костарева А. А. Некомпактный миокард левого желудочка, ассоциированный с укорачивающими вариантами в гене тайтина (*TTN*). *Российский кардиологический журнал*. 2020;25(10):4027. doi:10.15829/1560-4071-2020-4027

Left ventricular noncompaction associated with titin-truncating variants in the *TTN* gene

Vakhrushev Yu. A., Vershinina T. L., Fedotov P. A., Kozyreva A. A., Kiselev A. M., Fomicheva Yu. V., Vasichkina E. S., Pervunina T. M., Kostareva A. A.

Aim. To study the association of genetic variants in the titin gene (*TTN*) with the development and clinical course of left ventricular noncompaction in different age groups.

Material and methods. The article discusses three clinical cases of patients with left ventricular noncompaction who were treated at the Almazov National Medical Research Center. We performed a new-generation sequencing of 108 genes associated with cardiomyopathies, as well as whole exome sequencing and Sanger sequencing.

Results. We identified genetic variants in the *TTN* gene leading to the synthesis of truncated protein: in the first two cases, the cause of noncompaction was a thirteen nucleotide deletion with a reading frame shift, in the second, a nonsense mutation. An algorithm for assessing the pathogenicity of the identified variants and a scheme of diagnostic genetic search are presented.

Conclusion. Causal role of *TTN*-truncating variants in development of cardiomyopathies and, in particular, left ventricular noncompaction, requires a com-

prehensive clinical, segregation and bioinformatic analysis using international databases and the use of bioinformatics software.

Key words: left ventricular noncompaction, titin, cardiomyopathy.

Relationships and Activities. The study was supported by a grant from the Russian Science Foundation (project № 18-75-00006).

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

Vakhrushev Yu. A.* ORCID: 0000-0001-8911-1927, Vershinina T. L. ORCID: 0000-0003-1311-2020, Fedotov P. A. ORCID: 0000-0002-7452-1971, Kozyreva A. A. ORCID: 0000-0003-0656-7967, Kiselev A. M. ORCID: 0000-0002-5524-6900,

Fomicheva Yu. V. ORCID: 0000-0001-8950-8617, Vasichkina E. S. ORCID: 0000-0001-7336-4102, Pervunina T. M. ORCID: 0000-0001-9948-7303, Kostareva A. A. ORCID: 0000-0002-9349-6257.

*Corresponding author: thevakhr@gmail.com

For citation: Vakhrushev Yu. A., Vershinina T. L., Fedotov P. A., Kozyreva A. A., Kiselev A. M., Fomicheva Yu. V., Vasichkina E. S., Pervunina T. M., Kostareva A. A. Left ventricular noncompaction associated with titin-truncating variants in the *TTN* gene. *Russian Journal of Cardiology*. 2020;25(10):4027. (In Russ.) doi:10.15829/1560-4071-2020-4027

Received: 20.07.2020 **Revision Received:** 25.08.2020 **Accepted:** 01.09.2020

Некомпактный миокард (НМ) — редкая форма кардиомиопатии (КМП), характеризующаяся гипертрофией миокарда и глубокими межтрабекулярными полостями, сообщающимися с полостью желудочка [1]. В подавляющем большинстве случаев в патологический процесс вовлекается миокард левого желудочка (ЛЖ), однако известны случаи как изолированных правожелудочковых форм, так и бивентрикулярных. Клинически данная патология характеризуется классической “триадой” признаков, включающей в себя сердечную недостаточность (СН), желудочковые нарушения ритма и тромбоэмболический синдром. Признаки НМ часто определяются и при других вариантах КМП, наиболее часто при гипертрофической (ГКМП) и дилатационной (ДКМП) [2]. В то же время у значительной части пациентов заболевание протекает асимптоматично и может являться случайной находкой при проведении эхокардиографического (ЭхоКГ) скрининга. Показано, что в общей популяции ЭхоКГ-признаки НМ определяются у 0,014% населения, что позволяет некоторым авторам оспаривать существование НМ как отдельной изолированной формы КМП [3]. Считается, что в основе патогенеза НМ лежит нарушение эмбрионального развития сердца, при котором не происходит эффективно процесс компактизации миокарда, распространяющийся от основания к верхушке. Гипотеза о нарушении процессов эмбриогенеза подтверждается частым сочетанием НМ с врожденными пороками сердца [4].

Диагноз НМ ставится на основе клинических данных, ЭхоКГ и магнитно-резонансной томографии (МРТ). Однако при некоторых заболеваниях, таких как синдромы Андерсона-Фабри и синдром Данон, использование данных индексов становится неинформативным из-за комплексных морфологических изменений в миокарде. Поэтому генетическое обследование может рекомендоваться большинству пациентов с признаками НМ и других КМП, а также наследственных синдромов, таких как синдром Бругада, синдром Барта, синдром Коффи-Лоури, при которых НМ может быть одним из симптомов [5]. Желательно также проведение каскадного скрининга родственников пациента для достоверной интерпретации функционального значения выявленных генетических вариантов, проведения сегрегационного анализа, а также для выявления бессимптомных носителей патогенного генотипа. Стоит учитывать,

что фенотипическая реализация патогенного генотипа может быть достаточно вариабельной: от изолированной формы НМ до врожденного порока сердца без признаков НМ [5]. Патогенные и вероятно-патогенные генетические варианты удается обнаружить примерно у 30% пациентов с НМ, в оставшихся случаях определяются варианты неопределенной значимости, патогенетическая роль которых требует дальнейшей расшифровки и уточнения [2]. Наиболее частыми причинами НМ являются патогенные варианты в генах саркомерных белков, которые также вовлечены в патогенез ГКМП и ДКМП, таких как *MYH7*, *MYBPC3*, *TTN* [4], большинство из которых наследуются по аутосомно-доминантному типу. Также НМ может быть обусловлен хромосомными мутациями, приводящим к множественным порокам развития, или нарушениями в генах, наследуемых по Х-сцепленному или митохондриальному типу. Всего на сегодняшний день описано >80 генов, патогенные варианты в которых приводят к развитию НМ. При этом генетические причины, вызывающие развитие НМ у детей и взрослых, в значительной степени отличаются: у детей значительно чаще встречаются хромосомные aberrации и патогенные варианты с Х-сцепленным типом наследования (синдром Барта, ассоциированный с мутациями в гене *TAZ*) [6]. Это в значительной степени объясняет более высокую частоту тяжелых клинических форм у детей по сравнению со взрослыми (39% и 18%, соответственно), их частое сочетание с нейромышечной симптоматикой и врожденными пороками сердца [2].

Одной из наиболее частых причин развития НМ являются патогенные варианты в гене тайтина (*TTN*), большинство из которых наследуются по аутосомно-доминантному типу. Данный ген, состоящий из 364 экзонов, кодирует гигантского размера белок, который простирается на половину длины саркомера и, выступая в качестве механической пружины, обеспечивает его пассивную жесткость. Тайтин состоит из четырех структурных частей: Z-полосной части, выступающей в качестве якоря, закрепляя молекулу в структуре Z-диска; I-полосной части, состоящей из повторяющихся иммуноглобулиновых последовательностей (Ig-regions), которые способны к растяжению, обеспечивая его основную “пружинную” функцию; А-полосной части, связывающейся с миозином и миозин-связывающимся белком С (MyBP-C), и М-полосной части, заканчивающейся карбоксиль-

ной группой и имеющей в своем составе тайтин-киназные домены, осуществляющие функцию сигналинга и механочувствительности. Молекула тайтина подвержена сложно-регулируемому процессу альтернативного сплайсинга: на сегодняшний день известно семь изоформ, описанных в базе данных National Center for Biotechnology Information (NCBI). Основными из них являются N2A, N2B и N2BA изоформы, при этом N2A экспрессируется только в скелетных мышцах. В целом, мышечные изоформы длиннее, чем миокардиальные, причем их длина коррелирует со степенью удлинения саркомера и степенью эластичности мышцы. Модулирование пассивной жесткости тайтина также осуществляется путем его фосфорилирования. Оно происходит при помощи различных протеинкиназ, таких как протеинкиназа А (РКА), цГМФ (цистеин-гуанозин монофосфат) зависимая протеинкиназа G (PKG), Ca^{2+} -зависимая протеинкиназа Ca (PKC α), Ca^{2+} /кальмодулин-зависимая протеинкиназа II δ (CaMKII δ) и ERK2 [7].

Мутации в гене *TTN* приводят к аномальной сборке миофибрилл, неправильному формированию саркомера и снижению его механической устойчивости. Однако поиск и клиническая интерпретация результатов генетического анализа *TTN* крайне затруднены вследствие большого размера гена и невозможности его секвенирования методом Сэнгера. Это затрудняет накопление информации о полиморфных вариантах гена в контрольной популяции и осложняет последующую трактовку результатов.

Впервые ассоциация генетических вариантов в гене *TTN* с развитием КМП была показана на примере ДКМП. На сегодняшний день, по данным разных исследований, патогенные варианты *TTN* являются причиной развития ДКМП в 11-22% случаев. В дальнейшем была показана связь мутаций *TTN* с другими типами КМП, такими как ГКМП, рестриктивная и аритмогенная КМП, а также НМ. При изучении вышеуказанных патологических состояний было обнаружено, что основной их причиной являются тайтин-укорачивающие варианты (TTNtv). TTNtv — варианты гена, приводящие к синтезу укороченного белка в результате нарушения транскрипции и трансляции. По механизму действия они включают нонсенс мутации, инсерции и делеции со сдвигом рамки считывания, а также сплайсинговые мутации. Функциональное значение укорачивающих форм тайтина изучено в моделях кардиогенно-дифференцированных индуцированных плюрипотентных клеток и моделях трансгенных животных. Так, показано, что в результате синтеза укороченных форм тайтина происходит метаболический сдвиг от окисления свободных жирных кислот к окислению глюкозы [8]. В 2017г на группе из 95 пациентов с НМ было показано, что патогенные и вероятно-патогенные

TTNtv определяются у 19% пациентов и преимущественно локализируются в А-полосной части тайтина. В то же время известно, что укорачивающие формы тайтина встречаются в здоровой популяции с частотой примерно 2%, что в 5 раз превышает частоту возникновения ДКМП, в связи с чем трактовка патогенетической значимости данных вариантов не всегда однозначна. Помимо TTNtv, которые чаще всего являются причиной развития различных КМП и миопатий, в гене *TTN* описано >60 тыс. миссенс-вариантов, при которых происходит единичная замена аминокислоты в структуре белка. Большинство из них являются доброкачественными или их патологического эффекта недостаточно для развития заболевания. Однако они могут выступать в качестве модифицирующих факторов при наличии мутаций в других генах. Именно поэтому трактовка клинической значимости TTNtv требует в каждом клиническом случае глубокого анализа клинической картины, соотнесения с международными базами данных, исключения других возможных генетических причин и проведения сегрегационного анализа. В данной работе мы демонстрируем два клинических случая, при которых многоступенчатый анализ клинической картины, сегрегационный анализ, целевое и экзомное секвенирование, а также соотнесение полученной информации с международными базами данных позволили сделать вывод о причинной роли вариантов в гене *TTN* в отношении развития НМ.

Материал и методы

Исследование было проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией 1964г и одобрено локальным этическим комитетом НМИЦ им. В.А. Алмазова. Для двух несовершеннолетних пациентов клиническое и генетическое обследование было проведено с разрешения их законных представителей. Для всех пациентов помимо рутинного клинического обследования были выполнены электрокардиография (ЭКГ), ЭхоКГ, суточное мониторирование ЭКГ, МРТ сердца, консультация невролога. Постановка диагноза НМ основана на критериях Столлбергера [9] и Дженни [10]. Оценка МРТ сердца была осуществлена при помощи критериев Петерсена [11]. Генетическое исследование методом целевого секвенирования нового поколения проводилось с использованием целевой кардио-панели, включающей 108 генов, ассоциированных с развитием КМП. Приготовление библиотек и секвенирование были проведены с использованием набора для целевого обогащения SureSelect Human All Exon V6 r2 (60Mb) (Agilent Technologies, США) при помощи секвенатора Illumina HiSeq и SBSv4 реактивов (Illumina; San Diego, США). Выравнивание, обработка данных и аннотации были выполнены с использованием референса генома человека hg19. Все новые и ранее описанные

генетические варианты с частотой ниже 0,01% были классифицированы согласно рекомендациям Американского колледжа медицинской генетики (ACMG). Для более углубленного анализа использовались патогенные, вероятно-патогенные варианты и варианты неопределенной значимости в генах с высокой степенью экспрессии в миокарде.

Результаты

Пациент Р. находился под наблюдением кардиолога с рождения в связи с выявленным гемодинамически значимым дефектом межпредсердной перегородки (ДМПП). В течение первого года жизни были зарегистрированы расширение правых камер сердца, снижение сократительной способности миокарда, формирование легочной гипертензии. При холтеровском мониторировании была зарегистрирована транзиторная атриовентрикулярная блокада 2 степени 1 типа. В возрасте 4 лет пациенту было проведено оперативное вмешательство: закрытие ДМПП в условиях искусственного кровообращения. К семи годам отмечалось нарастание клиники СН, расширение правого предсердия, правого желудочка и ЛЖ (фракция выброса ЛЖ по Тейхольцу 49%, по Симпсону 36%, TAPSE 11,6 см, TASV 13 см/сек), появление пароксизмов наджелудочковой тахикардии с частотой сердечных сокращений от 115 до 208 уд./мин. Появились безболевые эпизоды косонисходящей депрессии сегмента ST в отведениях от нижне-боковой стенки ЛЖ во время физической активности. При осмотре неврологом выставлен диагноз: детский церебральный паралич, атонически-астатическая форма, псевдобульбарный синдром. Заподозрено наличие наследственной митохондриальной или нервно-мышечной патологии. При биохимическом исследовании — уровни лактата и креатинфосфокиназы в норме. При проведении МРТ головного мозга в возрасте 7 лет выявлены признаки умеренного расширения боковых желудочков мозга и ретроцереbellарной кисты, при электронейромиографии — поражения периферических нервов верхних и нижних конечностей; первичного мышечного поражения не выявлено. При проведении МРТ сердца в возрасте 10 лет выявлена повышенная трабекулярность апикальных отделов боковой стенки ЛЖ и верхушки ЛЖ. Толщина некомпактной части на уровне боковой стенки составляет 7 мм, компактной 4 мм; на уровне верхушки 13 мм и 3,5 мм, соответственно. В настоящее время пациент наблюдается с диагнозом: врожденный порок сердца, состояние после коррекции ДМПП. ДКМП, некомпактный миокард ЛЖ.

Пациентка И. (старшая сестра пациента Р.) была обследована в рамках каскадного семейного скрининга в связи с наличием НМ и ДКМП у младшего брата. В возрасте 8 лет была выявлена дилатация левого предсердия и ЛЖ, недостаточность митраль-

ного клапана 2-3 степени, признаки выраженной гипертрофики миокарда в области верхушки без достижения критериев НМ. По данным МРТ — дилатация камер сердца и снижение сократимости миокарда правого желудочка. Был выставлен диагноз ДКМП, хроническая СН 2 функционального класса. В возрасте 16 лет при обследовании неврологом отмечался умеренно выраженный миопатический синдром (проксимальная мышечная слабость в ногах 4 баллов), псевдогипертрофия икроножных мышц, раннее снижение коленных сухожильных рефлексов, выраженные миалгии в ногах, изменение походки по типу “утиной”, поясничный гиперлордоз, “полая стопа”. При биохимическом обследовании уровни креатинин-фосфокиназы, лактатдегидрогеназы и лактата повышены не были.

Для уточнения генетической причины заболевания в июне 2017г пациентам было выполнено целевое секвенирование с использованием панели из 108 генов, ассоциированных с развитием КМП и миопатий. У обоих пациентов была обнаружена делеция в гене *TTN* размером в тринадцать нуклеотидов со сдвигом рамки считывания (rs762286447, NC_000002.11:g.179425208_179425220del) (рис. 1). На тот момент времени по критериям ACMG данный генетический вариант трактовался как вариант неопределенной значимости, информация о данном варианте в базе данных ClinVar отсутствовала, в базе данных GnomAd данный вариант был представлен дважды с частотой 0,0008%. Данный генетический вариант был также обнаружен у матери пациентов, не имевшей на тот момент жалоб со стороны сердечно-сосудистой системы. Для исключения других возможных причин развития ДКМП и НМ в декабре 2017г пациенту Р. было проведено полноэкзомное секвенирование, в результате которого новых патогенных, вероятно-патогенных вариантов или вариантов неопределенной значимости в генах с высокой степенью экспрессии в миокарде обнаружено не было. С осени 2017г у матери пациента в возрасте 35 лет стали регистрироваться пароксизмы фибрилляции-трепетания предсердий. При проведении ЭхоКГ исследования верифицирована ДКМП, эксцентрическая гипертрофия миокарда с сохранной фракцией выброса и признаками повышенной трабекулярности ЛЖ, индекс объема левого предсердия 36 мл/м². По совокупности клинических и лабораторных признаков, с учетом данных сегрегации верифицированный вариант в гене *TTN* был расценен как наиболее вероятно-причинный в отношении данного семейного случая заболевания. С марта 2019г данный вариант присутствует в базе данных ClinVar и трактуется как вероятно-патогенный.

Пациент Д. 39 лет был направлен на обследование к кардиологу в связи с выявлением при профессиональном осмотре полной блокады левой ножки



Рис. 1. Результаты секвенирования пациентов Р. и И., показана зона делеции 13 нуклеотидов rs762286447. **А** — секвенирование по Сэнгеру фрагмента гена *TTN* пациента Р., **Б** — секвенирование по Сэнгеру фрагмента гена *TTN* пациентки И., **В** — высокопроцессивное массовое параллельное секвенирование образца ДНК пациента Р. в области гена *TTN*.

пучка Гиса (ПБЛНПГ), пациент активно жалоб не предъявлял (рис. 2 и 3). При проведении ЭхоКГ были выявлены умеренная дилатация ЛЖ и выраженная дилатация правых отделов сердца, парадоксальное движение межжелудочковой перегородки за счет ПБЛНПГ, выраженная трабекулярность верхушки ЛЖ (соотношение некомпактного и компактного слоев 2,2). В момент обследования снижения сократимости миокарда обоих желудочков выявлено не было. Для уточнения этиологии патологического процесса в миокарде было проведено исследование генов, ассоциированных с развитием врожденных заболеваний миокарда, КМП и каналопатий, методом секвенирования нового поколения с использованием описанной ранее панели из 108 генов с последующей верификацией результата секвенированием по Сэнгеру. В результате была выявлена нонсенс-мутация в гене *TTN* (rs1009131948, NM_001267550.2:c.C107578T:p.Gln35860Ter) в гетерозиготном состоянии (рис. 4). На момент исследования согласно критериям ACMG данный вариант был классифицирован как патогенный, неоднократно был описан в базе данных ClinVar и, таким образом, мог рассматриваться как основная причина НМ у пациента.

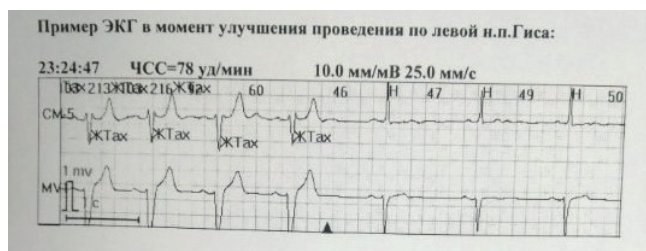


Рис. 2. ЭКГ пациента Д. с транзиторной блокадой левой ножки пучка Гиса.

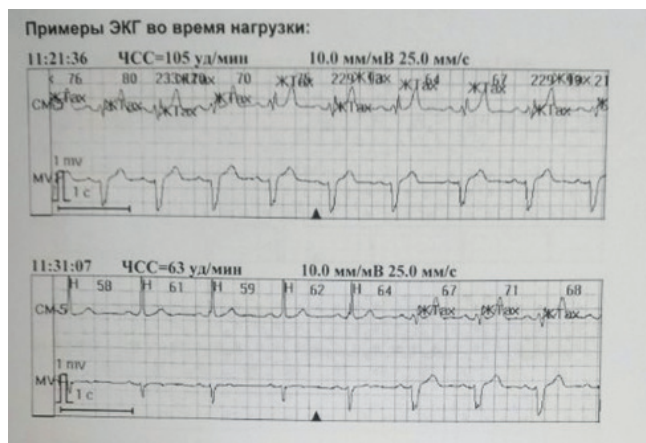


Рис. 3. ЭКГ пациента Д. в момент физической нагрузки.

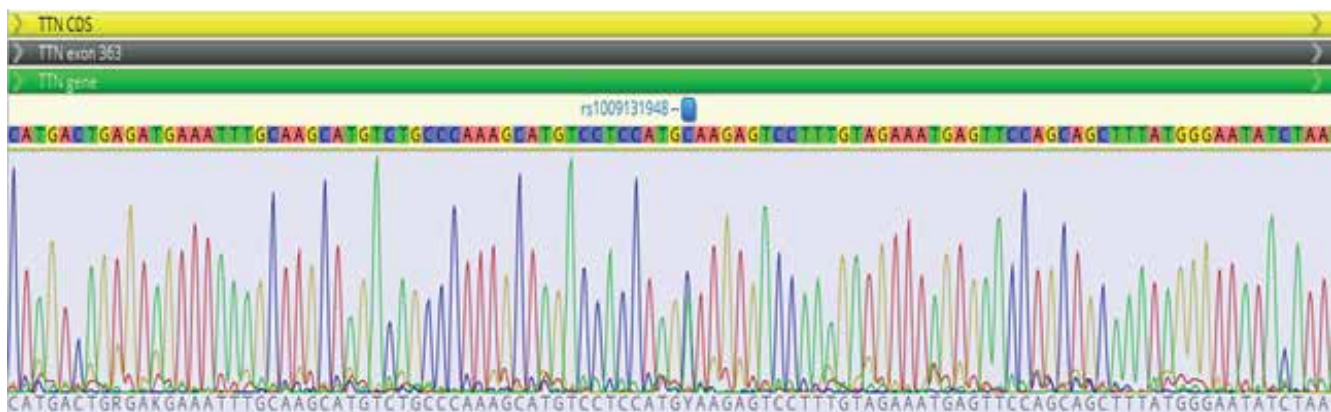


Рис. 4. Результаты секвенирования по Сэнгеру фрагмента гена *TTN* пациента Д. (rs1009131948).

Обсуждение

Приведенные выше клинические случаи наглядно иллюстрируют ассоциацию генетических вариантов в гене *TTN* с развитием НМ. Важно отметить, что в первом из описанных случаев у пациентов также наблюдались признаки вовлечения нейромышечной системы. Известно, что впервые патогенные варианты в гене *TTN* были описаны именно в связи с развитием патологии скелетных и дыхательных мышц и в настоящее время существует несколько клинических форм нейромышечных заболеваний, ассоциированных с геном *TTN* [12]. Клиническая картина при поражении нейромышечной системы вследствие мутаций в гене *TTN* очень вариабельна и может проявляться конечностно-поясной формой миодистрофии, центронукулярной миопатией, врожденной миопатией с фатальной кардиомиопатией, миофибриллярной миопатией и рядом других форм. Наиболее вероятно, что наблюдаемая в первом семейном случае заболевания клиническая картина поражения нейромышечной системы может отражать характерное для ряда тайтинопатий вовлечение в патологический процесс скелетной мускулатуры.

На примере первого семейного случая (пациент Р., пациентка И.) можно перечислить диагностические сложности, возникающие как при выборе методики генетического исследования, так и при интерпретации полученных данных. Первый этап поиска мутаций в наиболее часто встречающихся генах при схожих фенотипических заболеваниях часто не приносит результатов, как и в данном случае (были исключены в качестве генетических причин крупные делеции и дупликации в гене *DMD*, замены в генах *LMNA*, *EMD*, *FHL1*). Поэтому в связи с гетерогенностью таких заболеваний для поиска генетических причин целесообразно применять технологии секвенирования нового поколения, позволяющие одновременно проанализировать большое количество генов. Вариант в гене *TTN* был обнаружен у пациента Р. после проведения генетического иссле-

дования с применением целевой панели генов, но из-за недостатка имеющихся на тот момент данных выявленная делеция трактовалась как вариант с неопределенной клинической значимостью, функциональная роль которой была неизвестна. Было принято решение о проведении дополнительного исследования с помощью полноэкзомного секвенирования, которое в большинстве случаев позволяет найти патогенные или вероятно-патогенные варианты в генах, по каким-либо причинам не вошедших в используемую в лаборатории панель генов, а также позволяет определить новые причинные гены-кандидаты. Несмотря на типичную клиническую картину у обоих описанных пациентов, наличие нейромышечной симптоматики и функциональную значимость единственного выявленного варианта (делеция 13 нуклеотидов в гене *TTN* со сдвигом рамки считывания) с формированием укорачивающей формы, отсутствие данных о нем в международных базах данных и неоднозначность результатов сегрегационного анализа до появления клинической картины заболевания у матери пациентов долгое время делало невозможным классификацию выявленного варианта как патогенного и требовало дополнительных генетических исследований. В то же время во втором из представленных случаев, несмотря на отсутствие яркой клинической картины заболевания и семейного анамнеза, выявленный вариант в гене *TTN* сразу мог быть расценен как патогенный в связи с его неоднократным описанием в литературе. Вышеперечисленные особенности диагностического поиска еще раз подчеркивают крайнюю важность соотнесения полученных результатов генотипирования с данными литературы и международных баз данных, а также важность представления собственных результатов генотипирования подобных случаев широкой международной общественности.

Современная система доказательности причинной роли генетических вариантов включает в себя проведение функциональных исследований на куль-

турах клеток и животных моделях. Однако, в связи с большим размером гена *TTN* и технической сложностью его изучения с применением генно-инженерных подходов, возможности изучения патогенной роли вариантов в этом гене в эксперименте ограничены. Активно применяющийся на сегодняшний день подход с применением индуцированных плюрипотентных клеток, полученных от пациентов, также имеет свои ограничения при изучении функциональной значимости вариантов гена *TTN* в связи с незрелой и зачастую несостоятельной структурой саркомера, получаемой при дифференцировке индуцированных плюрипотентных стволовых клеток [13]. Это повышает важность биоинформатических методов анализа вариантов в гене *TTN*. Так, в 2017г была предложена специально разработанная база данных и программный продукт для увеличения точности трактовки вариантов в гене *TTN* [14]. Трактовку найденных несинонимичных замен также облегчает использование системы оценки значимости каждого экзона *TTN* с учетом его встраивания в синтезируемую белковую молекулу (https://www.cardiodb.org/titin/titin_transcripts.php). Крайне актуальным остается создание отечественного биоинформатического ресурса, аккумулирующего информацию о частоте

и распространенности в различных народностях Российской Федерации точечных однонуклеотидных замен и укорачивающих генетических вариантов *TTN*. При трактовке их функциональной значимости необходимо также учитывать возможность сочетания эффекта нескольких генетических вариантов, каждый из которых по отдельности не достаточен для фенотипической реализации патогенного генотипа, но в сочетании может приводить к развитию тяжелой клинической картины заболевания [4].

Заключение

На примере трех клинических случаев нами была продемонстрирована связь генетических вариантов в гене *TTN* с развитием и клиническим течением некомпактного миокарда в различных возрастных группах. Был описан ранее неизвестный генетический вариант в гене *TTN*, приводящий к развитию данной патологии и подробно обсуждены диагностические сложности, связанные с трактовкой причинной роли вариантов в гене *TTN* у пациентов с КМП.

Отношения и деятельность. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 18-75-00006).

Литература/References

- Jenni R, Oechslin EN, van der Loo B. Isolated ventricular non-compaction of the myocardium in adults. *Heart*. 2007;93:11-5. doi:10.1136/hrt.2005.082271.
- van Waning JI, Moesker J, Heijmans D, et al. Systematic Review of Genotype-Phenotype Correlations in Noncompaction Cardiomyopathy. *J Am Heart Assoc*. 2019;8(23):e012993. doi:10.1161/JAHA.119.012993.
- Floria M, Tinica G, Grecu M. Left Ventricular Non-Compaction — Challenges and Controversies. *Maedica (Buchar)*. 2014;9(3):282-8.
- Probst S, Oechslin E, Schuler P, et al. Sarcomere gene mutations in isolated left ventricular noncompaction cardiomyopathy do not predict clinical phenotype. *Circ Cardiovasc Genet*. 2011;4:367-74. doi:10.1161/CIRCGENETICS.110.959270.
- Hoedemaekers YM, Caliskan K, Michels M, et al. The importance of genetic counseling, DNA diagnostics, and cardiologic family screening in left ventricular noncompaction cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet*. 2010;3:232-9. doi:10.1161/CIRCGENETICS.109.903898.
- Melnik OV, Loevets TS, Vershinina TL, et al. Barth syndrome in practice of cardiology. *Russian Journal of Cardiology*. 2018;(3):54-9. (In Russ.) Мельник О.В., Лоевец Т.С., Вершинина Т.Л. и др. Синдром Барта в практике кардиолога. *Российский кардиологический журнал*. 2018;(3):54-9. doi:10.15829/1560-4071-2018-3-54-59.
- Hamdani N, Herwig M, Linke WA. Tampering with springs: phosphorylation of titin affecting the mechanical function of cardiomyocytes. *Biophys Rev*. 2017;9(3):225-37. doi:10.1007/s12551-017-0263-9.
- Zhou J, Ng B, Ko NSJ. Titin truncations lead to impaired cardiomyocyte autophagy and mitochondrial function in vivo. *Hum Mol Genet*. 2019;28(12):1971-81. doi:10.1093/hmg/ddz033.
- Stollberger C, Gerecke B, Engberding R, et al. Interobserver Agreement of the Echocardiographic Diagnosis of LV Hypertrabeculation/Noncompaction. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2015;8(11):1252-7. doi:10.1016/j.jcmg.2015.04.026.
- Jenni R, Oechslin E, Schneider J, et al. Echocardiographic and pathoanatomical characteristics of isolated left ventricular non-compaction: a step towards classification as a distinct cardiomyopathy. *Heart*. 2001;86(6):666-71. doi:10.1136/heart.86.6.666.
- Petersen SE, Selvanayagam JB, Wiesmann F, et al. Left ventricular non-compaction: insights from cardiovascular magnetic resonance imaging. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46(1):101-5. doi:10.1016/j.jacc.2005.03.045.
- Benarroch L, Bonne G, Rivier F. The 2020 version of the gene table of neuromuscular disorders (nuclear genome). *Neuromuscul Disord*. 2019;29(12):980-1018. doi:10.1016/j.nmd.2019.10.010.
- Lemcke H, Skorska A, Lang CI. Quantitative Evaluation of the Sarcomere Network of Human hiPSC-Derived Cardiomyocytes Using Single-Molecule Localization Microscopy. *Int J Mol Sci*. 2020;21(8). pii:E2819. doi:10.3390/ijms21082819.
- Laddach A, Gautel M, Fraternali F. TITINdb-a computational tool to assess titin's role as a disease gene. *Bioinformatics*. 2017;33(21):3482-5. doi:10.1093/bioinformatics/btx424.