

## Клинико-генетические аспекты кардиомиопатий

Миннихметова К.И.<sup>1,3</sup>, Хусаинова Р.И.<sup>1,2</sup>, Николаева И.Е.<sup>3</sup>,  
Миннихметов И.Р.<sup>1,2</sup>, Хуснутдинова Э.К.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> — ГБУЗ Республиканский медико-генетический центр, Уфа;  
e-mail: minniakhmetov@gmail.com

<sup>2</sup> — Институт биохимии и генетики — обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа

<sup>3</sup> — ГБУЗ Республиканский кардиологический центр, Уфа

Кардиомиопатии (КМП) являются гетерогенной группой заболеваний сердечной мышцы, в основе около половины из них лежат различные генетические нарушения. За последние годы проведено большое количество исследований, посвященных поиску генетических факторов развития КМП. Генетические маркеры были выявлены в основном для моногенных форм заболевания, и до сих пор мало известно о роли генов модификаторов, а имеющиеся результаты зачастую противоречивы. Прогресс в области изучения молекулярных и генетических процессов, лежащих в основе развития КМП, дает неоценимо важную информацию для клинической кардиологии. Установление этиологического диагноза имеет не только академический интерес, но и непосредственно влияет на течение, прогноз заболевания и тактику лечения. Постановка своевременного диагноза КМП позволяет выявить пациентов, находящихся в группе риска развития наиболее тяжелых осложнений и исходов этого заболевания. С развитием новых технологий секвенирования особую актуальность приобретает правильная интерпретация результатов генетического анализа, что требует от врачей кардиологов и медицинских генетиков знаний в области последних достижений генетического тестирования, новых данных о вновь выявленных вариантах и клинических корреляциях, а также понимания сложности аллельной гетерогенности, характеризующей наследственные кардиомиопатии. Целью данной работы является систематизация и обобщение результатов в области клинико-функциональных и молекулярно-генетических исследований КМП и оценка возможностей применения высокотехнологичных методик изучения генома человека в практической медицине для диагностики и таргетного лечения КМП.

**Ключевые слова:** кардиомиопатия, гены, мутации, секвенирование.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ: 17-44-020541 p\_a Изучение молекулярно-генетических основ кардиомиопатий в Республике Башкортостан

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Clinical and genetic aspects of cardiomyopathy

Minniakhmetova K.I.<sup>1,3</sup>, Khusainova R.I.<sup>1,2</sup>, Nikolaeva I.E.<sup>3</sup>,  
Minniakhmetov I.R.<sup>1,2</sup>, Khusnutdinova E.K.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> — Republican Medical Genetics Center, Ufa; e-mail: minniakhmetov@gmail.com

<sup>2</sup> — Institute of Biochemistry and Genetics — Subdivision of the Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa

<sup>3</sup> — Republican Cardiological Center, Ufa

Cardiomyopathies (CMP) is part of a heterogeneous group of cardiac muscle diseases. In recent years, a large number of studies have been aimed at finding genetic variants associated with the CMP. Genetic markers were identified mainly for monogenic forms of the disease, and little is known about the role of modifier genes, and the results are often contradictory. Progress in studying the molecular and genetic processes that underlie the development of the CMP gives important information for clinical cardiology. Establishing an etiological diagnosis can directly affect the course, prognosis of the disease and treatment of patients. Genotype-based diagnosis of CMP allows to identify patients who are at risk of developing the most serious complications and outcomes of this disease. With the development of new sequencing technologies, the correct interpretation of the results of genetic analysis takes on special importance, which requires from the cardiologists and geneticists knowledge in the field of the latest achievements in genetic testing, data on newly discovered variants and clinical correlations, and understanding of the complexity of allelic heterogeneity characterizing hereditary cardiomyopathies. The purpose of this work is to systematize and summarize the results in the field of clinical and molecular genetic studies of CMP and to assess the possibilities of using high-tech methods for studying the human genome in practical medicine for diagnosis and targeted treatment of CMP.

**Key words:** cardiomyopathy, genes, mutation, sequencing.

### Введение

В структуре сердечно-сосудистой заболеваемости и смертности КМП занимают чрезвычайно важное место и относятся к числу потенциально жизнеугрожающих состояний. Несмотря на высокую частоту и социальную значимость, существуют проблемы диагностики и лечения заболевания из-за выраженной клинической и генетической гетерогенности КМП. Распространенность КМП также сложно оценить из-за ее разнородности, частота заболевания варьирует в зависимости от его типа, а клинические проявления КМП часто связаны с большим количеством факторов, включая возраст и пол. Идиопатические КМП с неясной этиологией составляют приблизительно 18% всех заболеваний сердца [1] и определяются как гетерогенная группа заболеваний миокарда, ассоциированных с механической и/или электрической дисфункцией, обычно сопровождающихся гипертрофией миокарда или дилатацией камер сердца и развивающихся вследствие различных причин, но чаще имеющих генетическую природу. КМП часто сопровождаются аритмиями желудочков и предсердий, сердечной недостаточностью, инсультом и внезапной смертью [2].

В связи с идентификацией большого числа генов, связанных с наследственными КМП, в последние годы появилась возможность систематизации КМП не только на основе клинических проявлений, но и на молекулярно-генетической основе. В настоящее время для многих КМП выявлен семейный характер, что указывает на ключевую роль генетических факторов для формирования КМП. Научные достижения последних лет подтвердили эту гипотезу, и сегодня многие КМП признаются моногенными заболеваниями.

Первые гены, связанные с развитием КМП, были идентифицированы в 1990 году [3]. С тех пор благодаря достижениям молекулярной генетики достигнут определенный прогресс в выявлении молекулярного патогенеза КМП. Обнаружены выраженная генетическая (разные гены, вызывающие одно заболевание) и аллельная гетерогенность (разные мутации в одном и том же гене), способствующие существенным различиям в клинических проявлениях и тяжести заболевания. Геномная изменчивость (генетический фон), образ жизни, воздействие окружающей среды также являются факторами, которые могут приводить к различиям в клинических проявлениях даже у членов одной семьи с одинаковыми мутациями. Такая гетерогенность заболевания создает существенные проблемы для врачей, сталкивающихся с интерпретацией результатов генетического тестирования и использующих эту информацию для улучшения ведения пациентов, а также для ученых, изучающих механизмы патогенеза заболевания. Целью данной работы является систематизация и обобщение результатов в области клинико-функциональных и молекулярно-генетических исследований КМП и оценка возможностей применения высокотехнологичных методик изучения генома человека в практической медицине для диагностики и таргетного лечения КМП.

### Классификация и клиническая картина КМП

Различают две основные группы КМП, общим признаком которых является поражение сердца [4]. К первичным КМП относятся ограничивающиеся поражением миокарда заболевания, в развитии которых участвуют различные факторы: генетические, негенетические (часто смешанные — генетические и негенетические), приобретенные. Вторичные КМП включают поражение миокарда, связанное с другими системными проявлениями, при этом симптомы заболевания мышцы сердца не обязательно преобладают над другими полиорганными признаками.

В зависимости от типа поражения сердечной мышцы КМП, как правило, объединяют в морфологические подтипы, которые включают гипертрофическую КМП (ГКМП), дилатационную КМП (ДКМП), рестриктивную КМП (РКМП), аритмогенную правожелудочковую КМП (АП-КМП) и некомпактную КМП левого желудочка (НКЛЖ). Наиболее распространенными являются первые три формы КМП, соотношение между дилатационной, гипертрофической и рестриктивной КМП составляет 10:1:0,1 соответственно [5].

По данным литературы, распространенность ДКМП может составлять от 5 до 20 случаев на 100 тыс. населения [6]. ДКМП характеризуется увеличением камеры желудочков и систолической дисфункцией. Масса левого желудочка при ДКМП часто значительно увеличена, но в отличие от ГКМП, толщина стенки левого желудочка остается нормальной. Гистопатологические исследования обычно не выявляют причину заболевания. Как правило, при ДКМП обнаруживают увеличение размеров миоцитов и усиление фиброза миокарда, что, в совокупности, способствует аритмиям и сердечной недостаточности [7].

ДКМП является наиболее частой причиной для трансплантации сердца и до настоящего времени ведение таких пациентов представляет серьезную медико-социальную проблему [8]. Прогноз больных с ДКМП остается неблагоприятным, большинство пациентов умирает в течение первых трех лет от появления симптомов заболевания, еще 4—10% пациентов умирают ежегодно в результате прогрессирования заболевания. По данным аутопсии, причиной 3,7% всех смертей от сердечно-сосудистых заболеваний являются различного рода КМП, среди которых 60% составляет ДКМП. Около 50% неишемической ДКМП не имеют ясной этиологии, и как при семейных, так и при спорадических случаях все чаще выявляются генетические причины [9, 10].

ГКМП характеризуется первичным (не связанным с другими заболеваниями) утолщением стенок левого желудочка и/или межжелудочковой перегородки с вовлечением в процесс правого желудочка [11]. Заболевание характеризуется прогрессирующим течением с высоким риском развития жизнеугрожающих желудочковых аритмий и внезапной сердечной смерти (ВСС) [12].

Диагноз требует исключения вторичных причин гипертрофии левого желудочка, таких, как гипертония и стеноз аорты, или физиологической гипертрофии, наблюдаемой у профессиональных спортсменов [13].

ГКМП является наиболее распространенным наследственным заболеванием сердца, и основной причиной внезапной сердечной смерти лиц моложе 50 лет и спортсменов. До 36% случаев ВСС обусловлены не выявленной или скрыто протекающей ГКМП [14]. До появления автоматических кардиовертеров-дефибрилляторов ежегодная смертность больных в результате ВСС составляла 3—6% у детей и подростков, и 2—4% у взрослых [15]. Помимо высокой частоты ВСС, ГКМП нередко служит причиной развития в молодом возрасте фибрилляции предсердий, сердечной недостаточности, острых нарушений мозгового кровообращения. Это вносит существенный вклад в раннюю инвалидизацию и сердечно-сосудистую смертность этих пациентов.

РКМП — это неоднородная группа первичных (идиопатических) и вторичных заболеваний сердца, сопровождающихся поражением эндокарда и/или миокарда, которое приводит к выраженному фиксированному ограничению заполнения желудочков в диастолу и развитию диастолической дисфункции одного или обоих желудочков, и прогрессирующей диастолической хронической сердечной недостаточности [16].

РКМП является редким заболеванием и составляет примерно 5% всех случаев диагностированных КМП. РКМП может проявляться и у детей, и взрослых, причем мужчины и женщины страдают одинаково часто. Прогноз у детей хуже, чем у взрослых [17].

В семейных случаях чаще всего наблюдается ауто-сомно-доминантное наследование с неполной пенетрантностью. Выделяют также идиопатические формы РКМП, при которых этиологический фактор установить не удается. Вторичные РКМП, как правило, связаны с различными системными заболеваниями, в частности, амилоидозом, саркоидозом, карциноидной болезнью сердца, склеродермией и токсическим воздействием антрациклина на сердце. Среди РКМП отдельно выделяют метаболические КМП (инфильтративные или КМП накопления), в основе развития которых также могут быть наследственные факторы. Для инфильтративных КМП характерно накопление между кардиомиоцитами (экстрацеллюлярно) различных патологических субстанций (амилоидоз). При КМП накопления происходит интрацеллюлярное накопление чужеродных веществ в кардиомиоцитах (гемохроматоз) [18].

### Генетические основы КМП

За последние десятилетия были достигнуты большие успехи в понимании механизмов развития дисфункции миокарда, приводящих к КМП. Важную роль в исследовании патогенеза КМП сыграло использование методов молекулярной биологии и генетики. По

мере детального и глубокого изучения было окончательно доказано существование целой группы КМП, которые передаются по наследству. Однако по мере выявления обширного спектра мутаций, приводящих к развитию КМП, возникла серьезная проблема с интерпретацией и клиническими последствиями выявленных изменений ДНК, вследствие наложения и модификаций фенотипов. Все наследственные КМП генетически гетерогенны, в каждой категории существует несколько (в некоторых множество) генов, вызывающих болезнь, и много различных мутаций, а разные мутации в одном и том же гене могут лежать в основе различных заболеваний [7, 11, 19, 20].

Кроме наследственной гетерогенности, фенотипические проявления КМП могут широко варьировать вследствие влияния генов-модификаторов, эпигенетических факторов и условий внешней среды. Считается, что фенотипическая изменчивость КМП определяется уровнем экспрессии большого количества генов, регулирующих процессы метаболизма, пролиферации и дифференцировки, рецепторные взаимодействия, ионный гомеостаз и т.д. Таким образом, именно механизмами сложных взаимодействий можно объяснить, почему фенотип может так сильно различаться даже среди родственников с одинаковой мутацией в генах КМП [20]. Эти гены могут быть либо непосредственно вовлечены в патогенез заболевания, либо влиять на тяжесть его течения.

### Дилатационная КМП

В 20—30% случаев (по некоторым данным до 50%) идиопатическая ДКМП представляет собой заболевание, в основе которого лежат различные генетические нарушения. Выявление генов, ассоциированных с развитием семейных форм ДКМП, является очень трудной задачей. Однако разработка и внедрение молекулярно-генетических методов исследования миокарда позволили не только выяснить вклад наследственных факторов и новых мутаций в развитие ДКМП, но и определить генетическую гетерогенность заболевания [21].

Гены ДКМП кодируют разнородную группу белковых молекул, которые участвуют в генерации и передаче силы, в архитектуре клеточного ядра и цитоскелета, целостности саркомера, а также в электролитном гомеостазе, функциях митохондрий, и транскрипции. Несмотря на то, что в большинстве случаев ДКМП передается как доминантный признак, описаны рецессивный, X-сцепленный и митохондриальный типы наследования [10].

Существует ряд причин, которые могут ограничивать диагностику семейной ДКМП. Во-первых, за неспецифические проявления генетически обусловленной ДКМП часто ошибочно принимают другие распространенные сердечно-сосудистые заболевания. Во-вторых, мутации ДКМП демонстрируют возрастзависимую пе-

нетрантность. Таким образом, клинические проявления заболевания могут быть отсрочены до наступления пятидесяти или шестидесяти лет. Даже при очевидном семейном характере заболевания пенетрантность мутаций ДКМП может быть неполной, что указывает на потенциал компенсаторных механизмов, а также модифицирующих генетических и эпигенетических факторов.

Значительная генетическая гетерогенность ДКМП делает генетическое тестирование технически сложным и дорогостоящим. До недавнего времени использование диагностических наборов ДКМП не позволяло определять все потенциальные гены, вовлеченные в развитие заболевания, что приводило к низкой чувствительности обнаружения патогенных мутаций. Метод NGS (NGS, next generation sequencing — секвенирования следующего поколения) может существенно улучшить идентификацию мутаций как при семейных, так и в спорадических случаях ДКМП [22].

### Гены, вовлеченные в формирование ДКМП, и их функциональное значение

#### *Мутации, влияющие на функцию саркомера*

Мутации в гене *TTN*, кодирующие большой саркомерный белок титин, являются наиболее частой причиной наследственной ДКМП, и составляют от 15% до 20% всех случаев ДКМП [23]. Ген *TTN*, расположенный на длинном плече хромосомы 2 (2q31), состоит из 364 экзонов и является одним из крупнейших генов человека. Мутации, которые приводят к укорочению титина (нонсенс-мутации, мутации сдвига рамки считывания, сайта сплайсинга, и др.) часто связаны с семейной формой ДКМП. Эти мутации имеют почти полную пенетрантность после 40 лет [23]. У пациентов с ДКМП с мутациями в гене *TTN* наблюдаются ухудшение клинических исходов, включая высокий риск аритмий и прогрессирование сердечной недостаточности, по сравнению с больными, с неизвестной этиологией ДКМП. Предполагается, что внедрение современных методов ДНК-диагностики ДКМП может улучшить как стратификацию риска, так и последующую терапию пациентов [24].

#### *Мутации, влияющие на электролитный гомеостаз*

Доминантно наследуемые мутации в гене белка фосфоламбана (ген *PLN*, локализованный на хромосоме 6q22) вызывают ДКМП за счет нарушения регуляции уровня  $Ca^{2+}$ . Белок фосфоламбан регулирует поглощение кальция с помощью  $Ca$ -АТФазы сердечного саркоэндоплазматического ретикулума, который функционирует как молекулярный регулятор в цикле обмена кальция. Таким образом, мутации гена *PLN*, вызывающие развитие ДКМП, могут привести к задержке поглощения  $Ca^{2+}$  после сокращения саркомера. В настоящее время идентифицированы и подтверждены на животных

моделях множество различных мутаций гена *PLN*. Так, мутация Arg9Cys в гене *PLN* проявляется наиболее тяжелым фенотипом. Данная мутация снижает  $\beta$ -адренергический контроль цикла кальция, приводит к снижению сократительной функции миокарда и развитию ДКМП [25]. Как правило, эта мутация обнаруживается у пациентов с прогрессирующей сердечной недостаточностью и требует трансплантации сердца уже в молодом возрасте [26].

Делеция Arg14del в молекуле фосфоламбана ранее была идентифицирована как мутация с фенотипом ДКМП легкой и средней тяжести с эффектом основателя возрастом более 500 лет. Данная мутация составляет 15% от всех случаев ДКМП в Нидерландах. Делеция Arg14del также встречается в 12% случаев аритмогенной правожелудочковой КМП, имеющих более тяжелую симптоматику желудочковых аритмий [27, 28]. Клиническое и патологическое совпадение признаков различных типов КМП позволяет предположить, что некоторые формы аритмогенной правожелудочковой КМП и ДКМП не являются отдельными нозологическими формами, а скорее представляют собой состояния, называемые *аритмогенными кардиомиопатиями*.

Некоторые мутации гена *SCN5A*, кодирующего трансмембранный белок альфа субъединицы потенциал-зависимых натриевых каналов типа 5, также вовлечены в ДКМП [29]. Ген *SCN5A* локализован в коротком плече хромосомы 3 (3p21), принадлежит к группе генов *SCN*, участвующих в формировании натриевых каналов в сердечной мышце. Мутации гена *SCN5A* приводят к возникновению различных заболеваний сердечно-сосудистой системы, в частности вызывают развитие тяжелых форм аритмий, приводя к развитию аритмогенной кардиомиопатии. Есть много аллельных вариантов гена *SCN5A*, которые являются причиной развития синдрома Бругада, идиопатической фибрилляции желудочков и семейной формы фибрилляции предсердий [30].

#### *Мутации, влияющие на несаркомерные структурные белки*

ДКМП, обусловленная мутациями ядерного гена ламина (*LMNA*), часто связана с нарушениями сердечного ритма, проводимости и различными скелетно-мышечными расстройствами. Исследования последних лет показывают, что наряду с выполнением структурной функции, ламинины принимают участие в контроле репликации ДНК, организации хроматина, в регуляции генной экспрессии, процессинга и апоптоза [31].

Для заболеваний сердца, связанных с мутациями гена *LMNA*, характерна возрастзависимая пенетрантность с ранним развитием предсердных аритмий и последующими нарушениями проводимости, приводящими к высокому риску внезапной смерти, при этом дилатация левого желудочка и систолическая дисфункция выражены незначительно. Доминантные мутации гена *LMNA* возникают примерно в 6% случаев ДКМП [32]. Большинст-

во мутаций гена *LMNA* формируют гаплонедостаточность, и эксперименты с трансгенными животными демонстрируют неполноценный ответ на механическое напряжение, которое может способствовать преждевременной смерти кардиомиоцитов [33].

Точные критерии диагностики заболеваний, связанных с мутациями гена ламина, пока еще не разработаны, однако исследователями предложены некоторые клинические предикторы *LMNA*-связанной ДКМП. В качестве основных клинических признаков, которые могут выявляться вне зависимости от наличия семейного анамнеза, рассматриваются поражение скелетных мышц (от незначительной мышечной слабости до выраженной миопатии), суправентрикулярная/желудочковая тахикардия, дефекты проводимости (атрио-вентрикулярные блокады различной степени выраженности, дисфункции синусового узла), умеренная дилатация левого желудочка [31, 32].

#### *Гено-фенотипические корреляции при ДКМП*

Генетическая гетерогенность ДКМП и вариабельная пенетрантность мутаций препятствует прямому применению информации о генотипах при лечении пациентов. Исключением являются мутации гена *LMNA*, которые могут быть высоко прогностическими при прогнозировании прогрессирования нарушений сердечной проводимости и риска ВСС. Начальные проявления мутаций гена *LMNA* часто едва различимы (например, атриоventрикулярная блокада первой степени), поэтому трудной задачей является клиническая диагностика пациентов с ДКМП, имеющих высокий риск внезапной смерти. Это побудило к созданию рекомендаций, ограничивающих участие в спортивных соревнованиях носителей мутаций любого возраста [34]. У пациентов, имеющих кардиостимулятор, установленный из-за *LMNA*-ассоциированных заболеваний проводящей системы, должна быть рассмотрена возможность профилактической установки имплантируемого кардиовертера-дефибриллятора (ИКД) для лечения злокачественных желудочковых аритмий независимо от фракции выброса [35].

#### **Гипертрофическая КМП**

Наследственная ГКМП является моногенным заболеванием, обусловленным мутациями в генах, кодирующих белковые компоненты сердечного саркомера. ГКМП наследуется как доминантный признак, родственники первой степени родства больного имеют 50% риск развития заболевания. Тем не менее, из-за неполной и низкой пенетрантности в раннем возрасте, постановка диагноза часто задерживается до подросткового или зрелого возраста. Идентичные мутации ГКМП могут приводить к различной морфологии гипертрофии левого желудочка и разной степени фиброза миокарда.

Генетические модификаторы, эпигенетические различия, а также факторы окружающей среды также могут оказывать влияние на проявление фенотипических признаков [10, 11, 22].

Исследования показывают, что популяционная распространенность «необъяснимой» гипертрофии левого желудочка составляет 1:500 человек [22], что намного выше распространенности патогенных мутаций. В настоящее время, анализ генов саркомеров методом NGS выявил значительное число редких вариантов в популяционной когорте, в том числе среди лиц с незначительными клиническими признаками КМП. Эти данные указывают на то, что различные варианты генов белков саркомеров могут даже не вызывать явных признаков ГКМП [36].

#### *Гены, вовлеченные в формирование ГКМП*

Доля истинных наследственных форм ГКМП неизвестна, предполагается, что более половины случаев заболевания генетически детерминированы. В большинстве случаев ГКМП носит семейный характер и наследуется преимущественно по аутосомно-доминантному типу [11]. Как правило, причиной заболевания у всех членов семьи является одна и та же мутация, а вероятность ее передачи потомкам составляет 50%, без преимущественного поражения представителей одного пола. В части спорадических случаев, когда в семье нет больных родственников, ГКМП развивается в результате мутаций *de novo*. В этих случаях мутация, однажды возникнув, передается потомкам по законам менделевского наследования, и заболевание приобретает семейный характер. Таким образом, семейные и спорадические случаи ГКМП зачастую характеризуются общими генетическими закономерностями, поэтому пациенты со спорадическими формами заболеваниями также нуждаются в медико-генетическом консультировании и проведении ДНК-диагностики.

ГКМП является генетически гетерогенным заболеванием. Многочисленные исследования показывают, что основными причинами развития ГКМП являются патогенные мутации в 8 генах: тяжелая цепь  $\beta$ -миозина (*MYH7*),  $\alpha$ -тропомиозин (*TPM1*), сердечный тропонин T (*TNNT2*), сердечный миозин-связывающий белок-C (*MYBPC3*) регуляторная легкая цепь миозина (*MYL2*), основная легкая цепь миозина (*MYL3*), сердечный тропонин I (*TNNI3*), и сердечный  $\alpha$ -актин (*ACTC1*). На мутации генов *MYBPC3* и *MYH7* приходится до 50% всех клинически подтвержденных случаев ГКМП, в то время как мутации в других генах ГКМП составляют <10% всех случаев. Патогенные мутации в этих восьми генах выявлены у 30–60% пробандов с ГКМП. При этом самое большое количество мутаций наблюдается среди пробандов с ранним началом заболевания, большей выраженностью гипертрофии левого желудочка, асиммет-

ричной гипертрофией межжелудочковой перегородки и семейной историей ГКМП [10, 11, 37].

В настоящее время обнаружены мутации в других генах, которые также были ассоциированы с ГКМП. Полногеномные исследования позволили выявить мутации в генах миозина 2 (*MYO2*) [38] и  $\alpha$ -актинина 2 (*ACTN2*) [39] — молекул, которые взаимодействуют с саркомером, но непосредственно не участвуют в генерации силы. Хотя мутации в этих генах, вероятно, являются патогенными, необходимо подтверждение их патогенности в других семейных случаях или на животных моделях.

Путем анализа генов-кандидатов в отдельных когортах пациентов было показано, что мутации в гене *CSRP3*, кодирующем сердечный LIM-содержащий белок, были связаны как с ГКМП, так и ДКМП [40]. Мутации в гене *TTN* редко обнаруживаются у пациентов с ГКМП, и патогенность этих мутаций была поставлена под сомнение несколькими независимыми исследованиями [23].

#### *Функциональное значение мутаций при ГКМП*

Если генетическая природа значительной части ГКМП хорошо установлена, то биохимические и биофизические механизмы, посредством которых мутации генов саркомера вызывают заболевание, остаются не до конца понятными. Для проведения детального биохимического и молекулярного анализа предпринимаются попытки изучить мутации ГКМП методами генной инженерии на трансгенных животных. Интерпретация результатов этих исследований осложняется из-за молекулярных и физиологических различий сердечной мышцы человека и животных. Например, различия касаются экспрессии изоформ тяжелых цепей миозина (у человека —  $\beta$ -миозин; у мыши —  $\alpha$ -миозин), гомеостаза кальция или физиологических особенностей сердца (10-кратное различие в частоте сердечных сокращений человека и мыши). Тем не менее, несмотря на сложности, животные модели ГКМП позволяют раскрыть сведения о влиянии мутантных белков на функцию саркомеров.

Головка тяжелой цепи миозина *MYH7* представляет собой домен, который генерирует силу, гидролизует аденозинтрифосфат (АТФ) и взаимодействует с регуляторной и основной легкой цепью, тропонином Т и актином. Мутации в этой области миозина приводят к изменениям биофизических свойств, которые усиливают сокращение, но ухудшают релаксацию. Эти данные были подтверждены в исследованиях мутаций ГКМП в белках саркомеров в миофибриллярных тканях у мышей [41]. Подобные исследования играют важную роль поскольку позволяют выходить на методы фармакологической коррекции различных нарушений саркомеров. Так, было обнаружено, что молекула *MYK-461*, ингибирующая миозиновую аденозинтрифосфатазу (АТФ-аза) позволяет снижать силу сокращения саркомера, и таким обра-

зом, ослаблять развитие ГКМП у мышей, несущих патогенные мутации миозина [42].

В настоящее время мало известно о влиянии мутаций гена *MYBPC3* на развитие ГКМП. Белок *MYBPC3* (миозин связывающий белок-С) не принимает непосредственного участия в генерации силы, но регулирует сократительную функцию за счет взаимодействия с миозином и титином. Мутации гена *MYBPC3* приводят к синтезу укороченных белков, и, таким образом, при включении в саркомер могут вызывать развитие заболевания вследствие гаплонедостаточности [43].

В дополнение к биофизическим особенностям функционирования саркомеров, мутации ГКМП повышают энергетическую «стоимость» сокращения. Сердечные ткани человека и модельных организмов показывают понижение уровня фосфорилированного креатинина по отношению к аденозинтрифосфату, измененную АТФазную активность и общее повышение энергетики мышечного сокращения. Эти данные свидетельствуют о том, что нарушения миокардиальной энергетики являются общей молекулярной особенностью ГКМП, которые могут приводить к возникновению схожих фенотипов, в результате действия различных мутаций [44].

#### *Гено-фенотипические корреляции при ГКМП*

Большое количество патогенных мутаций в различных генах белков саркомеров, в сочетании с модифицирующими генетическими, эпигенетическими и экологическими факторами являются главной причиной, почему генотип не может предсказать фенотипические проявления при ГКМП. Несмотря на это, анализ клинических данных семейных случаев с определенными мутациями предоставил некоторое понимание того, как генотип может повлиять на фенотипические признаки ГКМП.

Неблагоприятный исход был выявлен при нескольких мутациях гена *MYH7*, каждая из которых приводит к существенному ремоделированию сердца. Было показано, что Arg403Gln ассоциирована с повышенным риском ВСС, Arg719Trp и Arg453Cys ассоциированы с повышенным риском развития терминальной стадии сердечной недостаточности, в то время как другие мутации *MYH7* приводят к более умеренным фенотипам и имеют хороший прогноз [45]. ГКМП, вызванная мутациями гена *MYBPC3*, обычно проявляется в более позднем возрасте, приводит к меньшей заболеваемости и имеет более низкую пенетрантность. Эти данные подтверждает тот факт, что, мутации ГКМП, для которых известен эффект основателя, происходят почти исключительно в гене *MYBPC3* [46]. В этом аспекте две такие мутации особенно показательны. В популяции из Юго-Восточной Азии около 4% населения являются носителями мутации гена *MYBPC3*, которая, по различным оценкам, возникла около 30 000 лет назад [47]. Эта мутация связана с 7-кратным увеличением риска сердечной недоста-

точности. Другая мутация гена *MYBPC3* с эффектом основателя, датируемая XV веком, и сегодня ответственна почти за 60% всех случаев ГКМП в Исландии, связана с неблагоприятными исходами в более позднем возрасте [48]. Сохранение таких вариантов через сотни лет и поколений могло происходить из-за их нейтрального эффекта, без существенного влияния на здоровье в течение детородного возраста. И только в последнее время, с увеличением продолжительности жизни, проявление КМП у носителей мутаций стало более очевидным [10].

### Другие формы наследственных кардиомиопатий

Первичная РКМП является редким заболеванием сердечной мышцы, которая диагностируется скорее на основе функциональных, а не анатомических исследований [7]. Были описаны как генетические, так и спорадические случаи первичной (идиопатической) РКМП. Наследственные РКМП обычно имеют аутосомно-доминантное наследование, но также существует аутосомно-рецессивное, X-связанное и митохондриальное. Наличие положительной истории семейной РКМП определяется примерно в 30% случаев заболевания [17].

Исследования различных авторов показывают, что большинство идентифицированных генов, вовлеченных в развитие РКМП, кодируют саркомерные или Z-дисковые белки: *TNNI3*, *TNNT2*, *MYH7*, *ACTC1*, *TRPM1*, *MYL3* и *MYL2*. Были также выявлены гены, кодирующие белок Z-диска, включая *MYPN* (миопалладин), *TTN* и *BAG3* (BCL2-ассоциированный атаноген) [49]. Отмечены факты развития фенотипа ГКМП, ДКМП и РКМП при одних и тех же мутациях в генах, кодирующих белки саркомера и Z-диска. В исследовании Kubo с соавт. было обнаружено, что среди 1226 пациентов с семейной ГКМП (688 семей), 1,5% имели фенотип РКМП [50]. При этом половина пробандов с РКМП имели патогенную мутацию в одном из двух генов — *MYH7* или *TNNI3*; все пациенты с выявленными мутациями либо имели нарушения пространственной организации миокарда на биопсии, или у них были родственники с установленным диагнозом ГКМП. Следует отметить, что рестриктивный фенотип был ассоциирован с более тяжелой симптоматикой, а также характеризовался увеличением количества осложнений. Таким образом, мутации данных генов могут привести к появлению фенотипов, свойственных различным формам КМП — ГКМП, ДКМП и РКМП, что может существенно усложнить классификацию заболевания [50].

Мутации генов *TNNI3* и *MYPN*, наиболее часто ассоциированные с фенотипом РКМП, были изучены на животных модельных объектах. Мутантные животные, несущие миссенс-мутации гена *TNNI3*, который был ассоциирован с РКМП и ГКМП человека, демонстрировали раннюю диастолическую дисфункцию, небольшой размер, а также сниженную систолическую функцию

левого желудочка, что является нетипичным проявлением ГКМП [51]. Мутации гена *MYPN* приводили к слабым проявлениям фиброза сердечной мышцы, уменьшению размера камеры левого желудочка и к минимальной диастолической дисфункции [17]. В совокупности эти данные проливают свет на изменчивость физиологического и анатомического ответа при наличии мутаций саркомеров, а также предсказывают вовлечение других факторов, помимо специфических мутаций, которые могут влиять на клиническую манифестацию. Результаты этих исследований позволяют предположить, что РКМП, по-видимому, не является отдельной формой генетической КМП, а скорее, представляет собой часть фенотипического спектра ГКМП.

Мутации в генах, которые кодируют белки, участвующие в метаболизме клеток сердца или выведении клеточных продуктов жизнедеятельности, также вызывают гипертрофию левого желудочка. Хотя на основе результатов визуализации сердца их часто называют фенотипами ГКМП, результаты гистологии показывают отсутствие нарушения пространственной организации кардиомиоцитов и наличие цитоплазматических вакуолей, содержащих липиды (мутации гена *GLA*), лизосомальных остатков (мутации гена *LAMP2*) и гликогена (мутации генов *PRKAG2* и *GAA*). Эти КМП имеют различные типы наследования, в том числе аутосомно-доминантный (мутации гена *PRKAG2*), X-сцепленный (мутации генов *GLA* и *LAMP2*) и аутосомно-рецессивный (мутации гена *GAA*) [10].

Диагностика на основе генетического тестирования, в отличие от визуализации сердца, позволяет легко отличить эти заболевания от ГКМП, что важно для соответствующего ведения пациентов и их семей. КМП, которая вызвана мутацией гена *PRKAG2*, требует электрофизиологического мониторинга в связи с высокой частотой дефектов проводимости. Мутация гена *LAMP2* является причиной КМП, которая развивается в детском возрасте, с преобладанием аритмий, часто в контексте болезни Данона (нейрокогнитивный дефицит и печеночная дисфункция). Данное заболевание имеет очень плохой прогноз и требует раннего отбора на трансплантацию сердца. Мутации гена *GLA* вызывают болезнь Фабри (гипертрофия левого желудочка и поражение почек, глаз, кожные проявления), которая составляет не менее 1% всех случаев необъяснимой гипертрофии левого желудочка и часто выявляются у больных в возрасте после 40 лет. Своевременная диагностика КМП при болезни Фабри имеет важное терапевтическое значение, поскольку раннее начало ферментзамещающей терапии позволяет уменьшить ремоделирование миокарда и сохранить сердечную функцию [10].

Мутации других генов могут вызывать различные редкие типы КМП, среди которых некомпактная КМП левого желудочка, аритмогенная правожелудочковая КМП, митохондриальные КМП, а также рестриктивные десминопатии.

### Генетические исследования КМП в клинической практике

Несмотря на то, что основные гены, вовлеченные в патогенез КМП, идентифицированы, полную генетическую картину заболевания еще предстоит выяснить. В настоящее время продолжают исследования по идентификации новых генов, ассоциированных с развитием КМП, но вопрос об их истинной роли остается открытым, из-за отсутствия доказательств их функционального значения.

Генетические варианты, которые вызывают серьезные структурные изменения в кодируемом белке, как правило, рассматриваются в качестве более патогенных, чем миссенс-мутации, изменяющие одну аминокислоту, однако это предположение не всегда является верным. Развитие алгоритмов анализа *in silico* улучшило предсказание патогенности на основе ожидаемых белковых структурных изменений, эволюционной консервативности аминокислот среди белковых ортологов и знаний функций белка. Но даже с этими инструментами, специфичность остается низкой, а общая точность для прогнозирования патогенности составляет от 65% до 80% [52].

Исследование консорциума ExAC (Exome Aggregation Consortium) значительно улучшило классификацию патогенных вариантов. Данные ExAC включают индивидуальные частоты всех вариантов, определенных в последовательности экзома более чем 60 000 неродственных индивидуумов. Исследования ExAC подтвердили, что частоты вариантов отличаются среди народов различного происхождения. На основании предположения о том, что патогенные варианты очень редки или отсутствуют в общей популяции, частоты, представленные консорциумом ExAC, дали точку отсчета для определения конкретного варианта в качестве причины развития КМП. Уже сейчас эти данные позволили отобрать ряд генов для дальнейших исследований, а также поставили под сомнение патогенность некоторых вариантов, прежде ассоциированных с КМП, идентифицированных путем анализа генов-кандидатов [53, 54]. Дальнейшее расширение этой базы данных с включением большего числа различных популяций будет способствовать совершенствованию интерпретации различных вариантов при КМП.

Повышение эффективности и снижение затрат на технологию NGS привело к более полному изучению генов у пациентов с КМП, что улучшило выявление многочисленных генетических вариантов, имеющих пока неопределенную функциональную значимость. В настоящее время возможности технологии NGS по идентификации мутаций и вариантов опережают исследования патогенности этих вариантов с использованием функциональных методов. Без надежных данных о гено-фенотипической корреляции или функциональных исследований становится все сложнее обосновывать применение новых данных в клинической практике. Опубликованные результаты экзомного секвенирования пока-

зывают, что ранее ассоциированные с заболеванием мутации в генах ГКМП присутствовали в общей популяции с более высокой частотой, чем это ожидалось для моделей моногенных заболеваний [22]. Таким образом, чтобы определить, насколько выявленные варианты связаны с заболеванием и, следовательно, модифицируют его и/или являются причиной, крайне важно определить степень естественной генетической изменчивости (в частности, на популяционной и этнической основе) и различать «фоновый шум». Другим важным направлением является развитие исследований для поиска экономически выгодных и высокопроизводительных функциональных исследований мутаций на моделях животных [55].

Определение точной генетической причины КМП может улучшить клиническое ведение больных. Идентификация патогенных мутаций обеспечивает точность диагностики и может устранить неопределенность, связанную с фенотипической изменчивостью, а также может помочь в выборе новых терапевтических подходов, нацеленных на биофизические последствия найденных мутаций [42]. Кроме того, генетическая диагностика позволяет провести экономически эффективный скрининг членов семьи и снизить расходы для родственников пациентов без патогенных мутаций, что приведет к существенной экономии средств здравоохранения.

Генетические панели для диагностики КМП продолжают развиваться, но все чаще они включают в себя анализ всех генов, участвующих в развитии КМП. Коммерческое генетическое тестирование при КМП уже сейчас широко доступно. В России существуют около десятка коммерческих лабораторий, на электронных сайтах которых можно найти информацию о методах идентификации мутаций, о диагностических панелях, стоимости анализов и получить медико-генетическую консультацию. Стоимость расходов на генетическое тестирование может значительно различаться, в зависимости от используемой технологии, а также количества проанализированных генов. Как правило, на первом этапе образцы пациентов исследуются с использованием мультигенных панелей на основе технологии NGS (таргетное секвенирование). При негативных результатах рассматриваются полногеномное или полноэкзомное секвенирование. С уменьшением стоимости технических и аналитических этапов, эти методы могут стать предпочтительной стратегией для генетического тестирования КМП.

В настоящее время с развитием и широким внедрением новых технологий секвенирования особую актуальность приобретает правильная интерпретация результатов генетического тестирования. Врач, обученный в области медицинской генетики или медико-генетического консультирования, всегда должен уметь интерпретировать результаты молекулярно-генетического тестирования. Правильная интерпретация результатов требует знаний в области последних достижений генетиче-



ского тестирования, новых данных о вновь выявленных вариантах и клинических корреляциях, а также аллельной гетерогенности, характеризующей наследственные КМП. При диагностике могут возникнуть сложные случаи, в том числе обнаружение множества вариантов, которые могут повлиять на заболевание. Кроме того, принимая во внимание возраст начала для многих генетических КМП, очень важным предметом обсуждения является репродуктивное консультирование. Таким образом, генетический анализ при заболеваниях сердечно-сосудистой системы является быстро развивающейся областью клинической генетики, поэтому для адекватного использования современных технологий необходимо участие высококвалифицированных специалистов в области генетического консультирования и генетической лабораторной диагностики.

### Заключение

В настоящее время наблюдается значительный прогресс в выявлении молекулярного патогенеза КМП. Использование генетического тестирования в клинике развивается быстрыми темпами, что в сочетании с достижениями в технологии секвенирования, новыми открытиями в области генетических основ КМП и снижением затрат приведет к более широкому охвату большего количества населения. Таким образом, число пациентов с КМП, которые будут проходить генетическое тестирование, будет увеличиваться. Хотя решение о проведении генетического анализа должно быть индивидуализировано, при правильной интерпретации генетическое исследование помогает в диагностике и направляет клиническое ведение пациента и членов его семьи.

Генетическое тестирование может устранить неопределенность (двусмысленность) клинического диагноза (например, слабая форма ремоделирования желудочков у спортсмена) и помочь провести генетический скрининг членовотягощенных семей. Это особенно важно для детей и подростков, у которых, возможно, еще нет клинических проявлений заболевания, но они могут подвергаться высокому риску сердечно-сосудистых осложнений и внезапной смерти. Современные рекомендации предполагают проведение целенаправленного генетического тестирования в семьях с определенной патогенной мутацией. Генотип-позитивные фенотип-негативные индивиды нуждаются в непрерывном клиническом скрининге, в то время как их родственники без наличия мутаций не нуждаются в дальнейшем наблюдении. Несмотря на то, что родственники первой степени родства при наличии заболевания не могут непосредственно получить очевидную выгоду от проведения генетического исследования, результаты могут помочь клинически интерпретировать варианты с меньшей степенью патогенности.

Будущие направления в изучении КМП могут быть нацелены напрямую на сам мутантный аллель. Докли-

нические исследования на животных моделях с ГКМП позволяют использовать аденовирусные конструкции для подавления действия конкретного аллеля, что привело к полному исчезновению фенотипа болезни в течение многих месяцев [56]. Дальнейшее развитие подобных подходов повышает вероятность того, что когда-нибудь наследственные КМП будут не только лечить, но и излечивать.

### Список литературы

1. Tayal U, Prasad S, Cook SA, 2017, *Genome medicine*, Vol: 9, ISSN: 1756-994X
2. Трухан Д.И., Филимонов С.Н., *Болезни сердечно-сосудистой системы: клиника, диагностика и лечение: учеб. пособие.* — Санкт-Петербург: СпецЛит, 2016.- 319 с. — ISBN 978-5-299-00748-0
3. Geisterfer-Lowrance AA, Kass S, Tanigawa G, et al. A molecular basis for familial hypertrophic cardiomyopathy: a beta cardiac myosin heavy chain gene missense mutation. *Cell*. 1990;62(5): 999-1006.
4. Трисветова Е.Л. Гипертрофическая кардиомиопатия: этиология, клиника, диагностика, лечение. *Медицинские новости.* — 2007. — №9. С. 19-24
5. Онищенко Е.Ф., Тынянов Ю.А. Экспертиза временной нетрудоспособности при основных формах первичных кардиомиопатий. *Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости*, 2009.-N 3.-С.33-36.
6. Sherif A., Chahal A., Anene P. et al. A reappraisal of the epidemiology of dilated and hypertrophic cardiomyopathy in Olmsted county, Minnesota. *JACC*, Vol. 71, Issue 11, March 2018
7. Maron BJ, Towbin JA, Thiene G, et al. Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies. *Circulation* 2006;113:1807-16.
8. Bakalakis A., Ritsatos K., Anastakis A. Current perspectives on the diagnosis and management of dilated cardiomyopathy Beyond heart failure: a Cardiomyopathy Clinic Doctor's point of view. *Hellenic J Cardiol*. pii: S1109-9666(17)30370-6. 2018 May 25
9. Kasper EK, Agema WR, Hutchins GM, et al. The causes of dilated cardiomyopathy: a clinicopathologic review of 673 consecutive patients. *J Am Coll Cardiol* 1994;23:586-90.
10. Burke, M.A., Cook, S.A., Seidman, J.G., Seidman, C.E. Clinical and mechanistic insights into the genetics of cardiomyopathy. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2016;68:2871-2886.
11. Захлязьминская Е.В. Генетическое разнообразие причин гипертрофии миокарда. *Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал им. акад. Б.В. Петровского* 2014; 1: 23-8
12. Бокерия О.Л., Ахобеков А.А. Внезапная сердечная смерть: механизмы возникновения и стратификация риска // *Анналы аритмологии*. 2012. Т. 9. № 3. С. 5-13.
13. Nagueh SF, Mahmarian JJ. Noninvasive cardiac imaging in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:2410-22.
14. Каплунова В.Ю., Шакарьянц Г.А., Кожевникова М.В., Ильгисонис И.С., Привалова Е.В., Хабарова Н.В., Найманн Ю.И., Беленков Ю.Н., Шакарьянц В.А. Гипертрофиче-

ская кардиомиопатия и ишемическая болезнь сердца. Варианты сочетанной патологии. Кардиология, 2017.-N 12.-С.16-24

15. Беленков Ю.Н., Привалова Е.В., Каплунова В.Ю., Хабарова Н.В., Шакарьянц Г.А. Современные направления генетического анализа при гипертрофической кардиомиопатии. Кардиология, 2012.-N 11.-С.42-48.

16. Леонтьева, И.В. Лекции по кардиологии детского возраста / И.В. Леонтьева. — М.: ИД Медпрактика-М, 2005. — С. 257-275.

17. Huby AC, Mendsaikhan U, Takagi K, et al. Disturbance in Z-disk mechanosensitive proteins induced by a persistent mutant myopalladin causes familial restrictive cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2014;64:2765-76.

18. Кардиология: национальное руководство/под ред. Ю.Н. Беленкова, Р.Г. Оганова — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. — 1232 с. ISBN 978-5-9704-0913-8

19. Van Tintelen J.P., Petronella G.Pieper, Karin Y. Van Spaendonck-Zwarts, Maarten P. Van Den Berg // *Cardiovasc. Research.* — 2014. — Vol.101. — P.571-578.

20. Вайханская Т.Г. Новая система MOGE(S). Медицинские новости. — 2014. — №11. — С. 13-19.

21. Seidman CE, Seidman JG. Identifying sarcomere gene mutations in hypertrophic cardiomyopathy: a personal history. *Circ Res* 2011;108: 743-50.

22. Wijeyeratne, Y.D., Behr, E.R. Recent Developments in the Genetics of Cardiomyopathies. *Curr Genet Med Rep* (2013) 1: 21-29.

23. Herman DS, Lam L, Taylor MRG, et al. Truncations of titin causing dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med* 2012;366:619-28.

24. Roberts AM, Ware JS, Herman DS, et al. Integrated allelic, transcriptional, and phenomic dissection of the cardiac effects of titin truncations in health and disease. *Sci Transl Med* 2015;7: 270ra6.

25. Schmitt JP, Kamisago M, Asahi M, et al. Dilated cardiomyopathy and heart failure caused by a mutation in phospholamban. *Science* 2003; 299:1410-3.

26. Fish M, Shaboodien G, Kraus S, et al. Mutation analysis of the phospholamban gene in 315 South Africans with dilated, hypertrophic, peripartum and arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathies. *Sci Rep* 2016;6:22235.

27. DeWitt MM, MacLeod HM, Soliven B, et al. Phospholamban R14 deletion results in late-onset, mild, hereditary dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:1396-8.

28. van der Zwaag PA, van Rijsingen IA, Asimaki A, et al. Phospholamban R14del mutation in patients diagnosed with dilated cardiomyopathy or arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: evidence supporting the concept of arrhythmogenic cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail* 2012;14: 1199-207.

29. McNair WP, Ku L, Taylor MRG, et al., Familial Cardiomyopathy Registry Research Group. SCN5A mutation associated with dilated cardiomyopathy, conduction disorder, and arrhythmia. *Circulation* 2004;110:2163-7.

30. Watanabe H, Nogami A, Ohkubo K, et al. Electrocardiographic characteristics and SCN5A mutations in idiopathic ventricular fibrillation associated with early repolarization. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2011;4:874-81.

31. Вайханская Т.Г., Сивицкая Л.Н., Даниленко Н.Г., Курушко Т.В., Давыденко О.Г. Мутации гена ламина А/С (LMNA) у пациентов с дилатационной кардиомиопатией и их фенотипические проявления. *Евразийский кардиологический журнал* 2016; 1: 3-11.

32. McNally EM, Golbus JR, Puckelwartz MJ. Genetic mutations and mechanisms in dilated cardiomyopathy. *J Clin Invest* 2013;123:19-26.

33. Nikolova V, Leimena C, McMahon AC, et al. Defects in nuclear structure and function promote dilated cardiomyopathy in lamin A/C-deficient mice. *J Clin Invest* 2004;113:357-69.

34. Pasotti M, Klersy C, Pilotto A, et al. Long-term outcome and risk stratification in dilated cardiomyopathies. *J Am Coll Cardiol* 2008;52: 1250-60.

35. Anselme F, Moubarak G, Savoure A, et al. Implantable cardioverter-defibrillators in lamin A/ C mutation carriers with cardiac conduction disorders. *Heart Rhythm* 2013;10:1492-8.

36. Pan S, Caleshu CA, Dunn KE, et al. Cardiac structural and sarcomere genes associated with cardiomyopathy exhibit marked intolerance of genetic variation. *Circ Cardiovasc Genet* 2012;5: 602-10.

37. Binder J, Ommen SR, Gersh BJ, et al. Echocardiography-guided genetic testing in hypertrophic cardiomyopathy: septal morphological features predict the presence of myofibrillar mutations. *Mayo Clin Proc* 2006;81:459-67

38. Osio A, Tan L, Chen SN, et al. Myozenin 2 is a novel gene for human hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Res* 2007;100:766-8.

39. Chiu C, Bagnall RD, Ingles J, et al. Mutations in alpha-actinin-2 cause hypertrophic cardiomyopathy: a genome-wide analysis. *J Am Coll Cardiol* 2010;55:1127-35.

40. Geier C, Gehmlich K, Ehler E, et al. Beyond the sarcomere: CSRP3 mutations cause hypertrophic cardiomyopathy. *Hum Mol Genet* 2008;17: 2753-65.

41. Spudich JA. Hypertrophic and dilated cardiomyopathy: four decades of basic research on muscle lead to potential therapeutic approaches to these devastating genetic diseases. *Biophys J* 2014;106:1236-49.

42. Green EM, Wakimoto H, Anderson RL, et al. A small-molecule inhibitor of sarcomere contractility suppresses hypertrophic cardiomyopathy in mice. *Science* 2016;351:617-21.

43. Marston S, Copeland ON, Jacques A, et al. Evidence from human myectomy samples that MYBPC3 mutations cause hypertrophic cardiomyopathy through haploinsufficiency. *Circ Res* 2009; 105:219-22.

44. Witjas-Paalberends ER, Guclu A, Germans T, et al. Gene-specific increase in the energetic cost of contraction in hypertrophic cardiomyopathy caused by thick filament mutations. *Cardiovasc Res* 2014;103:248-57.

45. Tesson F, Richard P, Charron P, et al. Genotype- phenotype analysis in four families with mutations in b-myosin heavy chain gene responsible for familial hypertrophic cardiomyopathy. *Hum Mutat* 1998;12:385-92.

46. Seidman CE, Seidman JG. Identifying sarcomere gene mutations in hypertrophic cardiomyopathy: a personal history. *Circ Res* 2011;108: 743-50.

47. Dhandapany PS, Sadayappan S, Xue Y, et al. A common MYBPC3 (cardiac myosin binding protein C) variant associated with cardiomyopathies in South Asia. *Nat Genet* 2009;41:187-91.

48. Adalsteinsdottir B, Teekakirikul P, Maron BJ, et al. Nationwide study on hypertrophic cardiomyopathy in Iceland: evidence of a MYBPC3 founder mutation. *Circulation* 2014;130:1158-67.

49. Caleshu C., Sakhuja R., Nussbaum R.L. et al. Furthering the link between the sarcomere and primary cardiomyopathies: restrictive cardiomyopathy associated with multiple mutations in genes previously associated with hypertrophic or dilated cardiomyopathy // *Am. J. Med. Genet A.* — 2011. — Vol. 155A. — P. 2229-2235.

50. Kubo T., Gimeno J.R., Bahl A. et al. Prevalence, clinical significance, and genetic basis of hypertrophic cardiomyopathy with restrictive phenotype // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 2007. — Vol. 49. — P. 2419-2426.
51. Du J, Liu J, Feng HZ, et al. Impaired relaxation is the main manifestation in transgenic mice expressing a restrictive cardiomyopathy mutation, R193H, in cardiac TnI. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008;294:H2604-13.
52. Richards S, Aziz N, Bale S, et al., ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. 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;17: 405-24.
53. Lek M, Karczewski K, Minikel E, et al., Exome Aggregation Consortium. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature* 2016;536:285-91.
54. Walsh R, Thomson KL, Ware JS, et al., Exome Aggregation Consortium. Reassessment of Mendelian gene pathogenicity using 7,855 cardiomyopathy cases and 60,706 reference samples. *Genet Med* 2016 Aug 17 [E-pub ahead of print].
55. Hoage T, Ding Y, Xu X. Quantifying cardiac functions in embryonic and adult zebrafish. *Methods Mol Biol.* 2012;843: 11-20.
56. Jiang J, Wakimoto H, Seidman JG, et al. Allele-specific silencing of mutant Myh6 transcripts in mice suppresses hypertrophic cardiomyopathy. *Science* 2013;342:111-4.