

# Нонсенс-мутация *GLN1233\** и замена *ARG326GLN* в гене *MYBPC3* у пациентов с гипертрофической кардиомиопатией в Беларуси

Чакова Н.Н.<sup>1\*</sup>, Ниязова С.С.<sup>1</sup>, Комиссарова С.М.<sup>2</sup>, Сасинович М.А.<sup>1</sup>, Гончаренко М.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> — ГНУ «Институт генетики и цитологии Национальной Академии Наук Беларуси», Минск, e-mail: n.chakova@igc.by

<sup>2</sup> — Республиканский научно-практический центр «Кардиология», Минск

**Актуальность.** Мутация *p.Gln1233\** (rs397516037) и замена *p.Arg326Gln* (rs34580776) в гене *MYBPC3* выявлены с различной частотой встречаемости у пациентов с гипертрофической кардиомиопатией (ГКМП) во многих популяциях. Опубликованные данные по этим генетическим изменениям различаются по интерпретации их патогенности. Определен эффект основателя для *p.Gln1233\** в некоторых популяциях. **Целью данного исследования** являлись оценка распространенности замен rs397516037 и rs34580776 в гене *MYBPC3* у белорусских пациентов с ГКМП и у лиц контрольной группы, проверка гипотезы об эффекте основателя для мутации *p.Gln1233\**, а также описание клинических проявлений заболевания у пациентов с этой мутацией. **Материалы и методы.** У 85 пациентов генетический анализ проводили методом NGS. У 250 неродственных пациентов, 13 родственников пробандов с мутацией *p.Gln1233\** и 127 лиц контрольной группы проводили направленный поиск замены *p.Arg326Gln* методом ПЦР-ПДРФ анализа. Выявление мутации *p.Gln1233\** осуществляли методом автоматического секвенирования у всех носителей *p.Arg326Gln*, а также у 113 пациентов без этой замены. У обладателей хотя бы одной замены генотипировали локусы *p.Val849Val* (с.2547C>T, rs3729953) и *p.Glu1096Glu* (с.3288G>A, rs1052373) методом ПЦР-ПДРФ анализа для определения гаплотипа. **Результаты.** У 5,37% (18 из 335) белорусских пациентов с ГКМП выявлены нонсенс-мутация *p.Gln1233\** и замена *p.Arg326Gln* в цис-положении. Отсутствие мутации *p.Gln1233\** в контрольной группе подтверждает ее диагностическую значимость в отношении развития ГКМП. Замена *p.Arg326Gln* без мутации *p.Gln1233\** обнаружена у 5,07% (17 из 335) пациентов и у 3,94% лиц контрольной выборки, что указывает на незначимость данного полиморфизма в развитии заболевания. Установлен эффект основателя для мутации *p.Gln1233\** на территории Беларуси. Дана клиническая характеристика ГКМП у пробандов и их ближайших родственников с этой мутацией. **Выводы.** Нонсенс-мутация *p.Gln1233\** (rs397516037) является самой частой среди обнаруженных мутаций у белорусских пациентов с ГКМП. Течение заболевания у носителей мутации *p.Gln1233\** зависело от возраста и варьировало от малосимптомного у более молодых пациентов (18–40 лет) до тяжелого течения с неблагоприятным прогнозом вплоть до летального исхода вследствие прогрессирования хронической сердечной недостаточности (после 40 лет).

**Ключевые слова:** гипертрофическая кардиомиопатия; мутация *p.Gln1233\** и замена *p.Arg326Gln* в гене *MYBPC3*; гаплотип; эффект основателя; клинические проявления.

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Работа выполнена в рамках мероприятия 18 «Разработать технологию оценки риска внезапной сердечной смерти и других неблагоприятных исходов у пациентов с первичными кардиомиопатиями с использованием технологий нового поколения секвенирования» подпрограммы 1 «Инновационные биотехнологии — 2020» ГП «Наукоемкие технологии и техника», 2016–2020.

## *GLN1233\** nonsens-mutation and *ARG326GLN* polymorphism of *MYBPC3* gene in patients with hypertrophic cardiomyopathy in Belarus

Chakova N.N.<sup>1\*</sup>, Niyazova S.S.<sup>1</sup>, Komissarova S.M.<sup>2</sup>, Sasinovich M.A.<sup>1</sup>, Goncharenko M.G.

<sup>1</sup> — The Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, n.chakova@igc.by

<sup>2</sup> — Republican Research and Practical Centre «Cardiology», Minsk

**Relevance.** In many populations of patients with hypertrophic cardiomyopathy (HCM), mutation of *p.Gln1233\** (rs397516037) and *p.Arg326Gln* (rs34580776) substitution in *MYBPC3* have been identified with different frequency. The published data of these genetic changes differ in the interpretation of their pathogenicity. The founder effect has been described for *p.Gln1233\** for some populations. **The aim was** to assess the incidence of rs397516037 and rs34580776 substitution in *MYBPC3* in Belarusian patients with HCM and in control group; to test the hypothesis about the effects of the founder for *p.Gln1233\** mutation, and to describe clinical features of the disease in the group of patients with this mutation. **Materials and methods.** Genetic analysis was made by NGS for 85 individuals. A guided search for a *p.Arg326Gln* substitution by PCR-RFLP was made in 250 non-related individuals, 13 proband relatives with *p.Gln1233\** mutations and 127 controls. The *p.Gln1233\** mutation identification was made using automated sequencing method in all carriers of *p.Arg326Gln*, and in 113 individuals without the substitution. In those carriers with at least one substitution, *p.Val849Val*

(c.2547C>T, rs3729953) and *p.Glu1096Glu* (c.3288G>A, rs1052373) loci were genotyped by PCR-RFLP to identify the haplotype. **Results.** In 5.37% (18 of 335) Belarusian individuals with HCM, *p.Gln1233\** nonsense-mutation and *p.Arg326Gln* substitution in cis-arrangement were established. No *p.Gln1233\** mutation in the controls suggested its diagnostic significance concerning the development of HCM. The *p.Arg326Gln* substitution without present *p.Gln1233\** mutation was established in 5.07% (17 of 335) individuals and in 3.94% controls of the sample suggesting the insignificance of this polymorphism in the development of the condition. The effect of the founder for *p.Gln1233\** mutation for Belarus has been established. Clinical characteristics of HCM has been proposed for probands and closest relatives who have this mutation. **Conclusions.** *p.Gln1233\** nonsense-mutation (rs397516037) is the most frequent mutation among mutations identified in Belarusian individuals diagnosed with HCM. The course of the disease in *p.Gln1233\** carriers varied from mildly symptomatic at a younger age (18 to 40 y.o.) to severe with malignant prognosis including fatal outcome due to CHF progression.

**Keywords:** hypertrophic cardiomyopathy; *p.Gln1233\** mutation and *p.Arg326Gln* substitution in *MYBPC3*; haplotype; founder effect; clinical features.

### Введение

Гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП) — распространенное, генетически и клинически гетерогенное заболевание, основной причиной которого являются мутации в генах, кодирующих белковые компоненты миофибрильного аппарата кардиомиоцитов. Показано, что у пациентов с данным заболеванием генетические дефекты наиболее часто встречаются в генах, кодирующих тяжелую цепь в-миозина (*MYH7*) и миозинсвязывающий белок С (*MYBPC3*), при этом спектр мутаций и частота их встречаемости имеют популяционную специфику. Следует отметить, что в гене *MYH7* большинство обнаруживаемых генетических изменений представляют собой миссенс-мутации, не влияющие на размер белка, в то время как среди мутаций в гене *MYBPC3* достаточно часто встречаются нонсенс-мутации, делеции и инсерции, приводящие к возникновению преждевременного стоп-кодона [1]. Для многих обнаруженных на данный момент генетических особенностей не выяснена их функциональная значимость в отношении ГКМП, что требует дополнительных исследований, включая анализ встречаемости в конкретной популяции. Это в полной мере относится и к однонуклеотидным заменам rs397516037 и rs34580776 в гене *MYBPC3*, которые приводят к нонсенс-мутации *p.Gln1233\** и миссенс-замене *p.Arg326Gln* соответственно. Опубликованные данные по этим генетическим изменениям различаются по интерпретации их патогенности. Особенно, это касается аминокислотной замены *p.Arg326Gln*, которая рассматривалась и как мутация, приводящая к развитию заболевания, и как незначимый полиморфизм, так как частота ее встречаемости среди пациентов с ГКМП, и в контрольных группах очень сильно различалась в зависимости от обследуемой популяции [2—5]. Нонсенс-мутация *p.Gln1233\** (rs397516037) в большинстве исследований признана функционально-значимой мутацией, вызывающей развитие ГКМП [6—9]. Между тем, анализ литературных источников показал, что во многих исследованиях, когда у пациентов анализировались обе замены *p.Gln1233\** и *p.Arg326Gln* в гене *MYBPC3*, зафиксировано их совместное наследование, из чего можно сделать вывод, что они находятся в цис-положении и принадлежат одному аллелю. Это необходимо учитывать при прове-

дении ассоциативных исследований, основанных на сравнительном анализе частоты встречаемости *p.Arg326Gln* между группой пациентов с ГКМП и контрольной выборкой. Замена *p.Arg326Gln* во многих популяциях довольно часто встречается и отдельно, причем как у пациентов, так и в контрольной выборке. Анализ гаплотипов с использованием высокополиморфных маркеров для идентификации аллелей в гене *MYBPC3* в исследовании Erdmann с соавт. [8] показал, что мутация *p.Gln1233\** в двух неродственных турецких семьях принадлежит одному и тому же гаплотипу, что указывает на эффект основателя и единство происхождения. Однако аналогичный анализ у венгерских пациентов не подтвердил наличия данного эффекта, поскольку у носителей мутации с *p.Gln1233\** гаплотипы различались [10]. В работе Roncarati R. с соавт. [7] у пациента с мутацией *p.Gln1233\** кроме *p.Arg326Gln* выявлены еще три незначимые замены *p.Val849Val* (c.2547C>T, rs3729953), c.2340+18C>G (rs3729948) и c.2737+12C>T (rs3729936), которые также можно использовать при анализе гаплотипов в гене *MYBPC3*.

Целью данной работы было оценить частоты встречаемости замен *p.Arg326Gln* (rs34580776) и *p.Gln1233\** (rs397516037) в гене *MYBPC3* у белорусских пациентов с ГКМП и у лиц контрольной группы, определить гаплотип у носителей этих замен с использованием 2 полиморфных локусов (*p.Val849Val* (c.2547C>T), rs3729953 и *p.Glu1096Glu* (c.3288G>A), rs1052373) для проверки гипотезы об эффекте основателя, а также описать клинические проявления заболевания у пациентов с мутацией *p.Gln1233\**.

### Материалы и методы

В исследование были включены 335 неродственных пациентов с ГКМП, проживающих на территории Беларуси и проходивших лечение в РНПЦ «Кардиология», и 127 человек соответствующего возраста без данной патологии из этой же местности. От всех участников было получено информированное согласие на использование соответствующих биоматериалов для научных исследований. Диагноз ГКМП устанавливался в соответствии с рекомендациями Международного комитета экспертов по ГКМП (ESC 2014). Выделение тотальной ДНК из

замороженной цельной крови выполняли фенол-хлороформным методом [11]. У 85 пациентов генетический анализ проводили методом параллельного массового секвенирования (PMS) на приборе Ion Torrent (Life Technologies) (11 образцов ДНК) [12] и на секвенаторе MiSeq (Illumina) (74 образца ДНК). Пробоподготовку образцов для секвенирования на приборе MiSeq осуществляли с использованием набора TruSight Cardio Sequencing Kit (Illumina).

У 250 неродственных пациентов и 13 ближайших родственников пробандов с мутацией *p. Gln1233\**, а также 127 лиц контрольной группы проводили направленный поиск замены *p.Arg326Gln* методом ПЦР-ПДРФ анализа с использованием рестриктазы SfcI (BioLabs). Выявление мутации *p. Gln1233\** (с.3697C>T, rs397516037) осуществляли методом автоматического секвенирования экзона 33 гена *MYBPC3* у всех носителей *p.Arg326Gln* (с.977G>A, rs34580776), а также у 113 пациентов без этой замены. У обладателей хотя бы одной замены генотипировали локусы *p.Val849Val* (с.2547C>T, rs3729953) и *p.Glu1096Glu* (с.3288G>A, rs1052373) методом ПЦР-ПДРФ анализа с использованием рестриктаз MseI и AluI (Thermo Fisher Scientific). Последовательности использованных в работе праймеров [13] и протоколы проведения ПЦР представлены в табл. 1.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ «Statistica for Windows 6.0». При исследовании таблиц сопряженности использовался точный критерий Фишера. Статистически значимыми считали различия при  $p \leq 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Началом настоящего исследования послужило обнаружение сочетания двух однонуклеотидных замен *p.Gln1233\** (rs397516037) в экзоне 33 и *p.Arg326Gln* (rs34580776) в экзоне 12 у одного белорусского и одного российского пациентов с ГКМП в совместной работе с российскими коллегами [12], результаты которой вошли и в данную публикацию. Далее методами NGS и ПЦР-ПДРФ анализа еще у 34 белорусских пациентов выявили замену *p.Arg326Gln*. У 17 из них установлена также мутация *p. Gln1233\**, которая находилась в цис-положении с заменой в кодоне 326, поскольку все ближайшие генотип-положительные родственники пробандов имели обе замены. В контрольной группе обнаружена только замена *p.Arg326Gln* у 5 (3,94%) человек из 127.

Как видно из табл. 2, частота встречаемости гаплотипа с заменой *p.Arg326Gln* в группе пациентов с ГКМП из Беларуси составила 5,07% (17 из 335) и соответствовала этому показателю в выборке здоровых индивидуумов. Полученные нами данные подтверждают, что замена *p.Arg326Gln* является полиморфным вариантом, не ассоциированным с возникновением ГКМП.

Наличие нонсенс-мутации *p. Gln1233\** в сочетании с заменой *p.Arg326Gln* было выявлено у 18 (5,37%) белорусских пациентов с ГКМП и отсутствовало в контрольной группе, что подтверждает ее диагностическую значимость в отношении развития данного заболевания

Впервые замена *p.Arg326Gln* упоминается в исследовании группы американских ученых [14]. Оценка значимости данной однонуклеотидной замены в развитии ГКМП менялась по мере накопления данных и различалась в ряде исследований, но большинство авторов к настоящему

Таблица 1

Последовательность праймеров и протокол проведения ПЦР

| Ген                           | Последовательность праймеров                                    | Протокол проведения ПЦР                                                   | Размер продукта |
|-------------------------------|-----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| <i>MYBPC3</i><br>(Arg326Gln)  | F: 5'tccccagccctcttca3'<br>R: 5'gccggactccgcctctt3'             | 94°C — 5', [94°C — 40'', 62°C — 45'', 72°C — 50''] x 35 циклов, 72°C — 7' | 516 п.н.        |
| <i>MYBPC3</i><br>(Gln1233*)   | F: 5'gcaggggccatggtactcactcttg3'<br>R: 5'ccgccgcgtcttcccatctc3' | 95°C — 5', [95°C — 40'', 62°C — 40'', 72°C — 50''] x 35 циклов, 72°C — 5' | 404 п.н.        |
| <i>MYBPC3</i><br>(Val849Val)  | F: 5'cctgtggcggttagttgg3'<br>R: 5' tctgtaaatgcggctgagtatcc 3'   | 95°C — 5', [95°C — 45'', 61°C — 45'', 72°C — 1'] x 35 циклов, 72°C — 7'   | 650 п.н.        |
| <i>MYBPC3</i><br>(Glu1096Glu) | F: 5'gcggccggcccttgagtg3'<br>R: 5'cacggtgaggacagtgagggttagc3'   | 95°C — 5', [95°C — 45'', 67°C — 45'', 72°C — 1'] x 35 циклов, 72°C — 7'   | 700 п.н.        |

Таблица 2

Частота встречаемости замен *p.Arg326Gln* и *p.Gln1233\** в гене *MYBPC3* у лиц из Беларуси

| Гаплотипы                                        | Пациенты с ГКМП, n = 335 |      | Контроль, n = 127 |      |
|--------------------------------------------------|--------------------------|------|-------------------|------|
|                                                  | n                        | %    | n                 | %    |
| <i>p.Arg326Gln</i> (+);<br><i>p.Gln1233*</i> (-) | 17                       | 5,07 | 5                 | 3,94 |
| <i>p.Arg326Gln</i> (+);<br><i>p.Gln1233*</i> (+) | 18                       | 5,37 | 0                 | 0    |

моменту склоняется к заключению, что это диагностически не значимое изменение в ДНК [5, 15, 16], поскольку замена была обнаружена с аналогичной частотой и в контрольных группах в различных популяциях. Несмотря на то, что замена нуклеотидов с.977G>A в гене *MYBPC3* приводит к замещению положительно заряженной аминокислоты аргинина на незаряженную аминокислоту глутамин в фосфорилируемом участке миозинсвязывающего белка, такое изменение, скорее всего, не сказывается на функциональных свойствах этого протеина.

В табл. 3 представлены данные по частоте встречаемости *p.Arg326Gln* (гаплотип *p.Arg326Gln* (+); *p.Gln1233*\* (-)) у пациентов с ГКМП и в соответствующих контрольных группах из разных стран мира.

Наименьшая частота встречаемости *p.Arg326Gln* выявлена у пациентов с ГКМП из Франции (0,51%), Англии (0,90%), Австралии (1,25%), Португалии (1,30%), несколько большая — у пациентов из Чехии (2,00%) и США — 3,2% (в контрольной группе — 1,2%). Самая высокая распространенность зафиксирована у пациентов с ГКМП из Беларуси (5,07%). В группе пациентов с ГКМП из России частота встречаемости данной замены не представлена, но в контрольной группе значение этого показателя было максимальным (5,83%) по сравнению с другими популяциями и приближалось к значению в контрольной группе финской популяции (6,31%). Во всех представленных выборках не выявлено статистически значимых различий между группами пациентами и соответствующими контрольными выборками. По данным баз Exome Aggregation Consortium и 1000 Genomes Project, частота встречаемости минорного аллеля в кодоне 326 составила 0,0055 и 0,0008 соответственно.

Таким образом, при проведении анализа встречаемости замены *p.Arg326Gln* без мутации в кодоне 1233 становится очевидным отсутствие ее функциональной значимости для развития ГКМП, поскольку частоты

выявления данного аллеля в группах пациентов с ГКМП и контрольных выборках практически не различаются в ряде исследований (табл. 3).

Мутация *p.Gln1233*\* впервые описана Erdmann J. с соавт. в 2001 году у 2 из 110 пациентов с ГКМП (1,81%) [8]. Замена цитозина на тимин в кодоне 3697 (с.3697C>T) приводит к образованию терминального кодона (стоп-кодона) в положении 1233 аминокислотной последовательности и потере 42 аминокислот, в результате чего уменьшается размер сайта связывания с легким меромиозином и титином [10].

Распространенность аллеля с мутацией *p.Gln1233*\* и заменой *p.Arg326Gln* в гене *MYBPC3* у пациентов с ГКМП из европейских популяций (Германия, Италия, Швейцария, Чехия, Австралии) и США представлена в табл. 4.

Наибольшая частота встречаемости мутации обнаружена у пациентов с ГКМП из России (6,49%), Беларуси (5,37%), Швейцарии и Германии (>2,0%). В большинстве исследований указано, что нонсенс-мутация *p.Gln1233*\* была выявлена в сочетании с заменой *p.Arg326Gln*, в остальных — такой информации нет. Это может быть связано с несколькими причинами:

- 1) с реальным отсутствием данной замены в популяции;
- 2) с не включением замены в публикацию из-за пересмотра ее значимости от патогенной мутации до полиморфизма;
- 3) с чувствительностью используемых для поиска мутаций методов.

В контрольных группах мутация *p.Gln1233*\* не встречалась, кроме одной работы американских авторов, где эта мутация была выявлена у 4 (2%) из 200 фенотипически не охарактеризованных лиц контрольной группы [19]. На данный момент это единственное исследование, где данная мутация зафиксирована в контрольной группе, результаты которого еще раз указывают на важ-

Таблица 3

Частота встречаемости замены *p.Arg326Gln* в гене *MYBPC3* в различных популяциях

| №  | Частота встречаемости замены, % (n:N) |                    | Частота встречаемости минорного аллеля |                    | Страна     | Источник           |
|----|---------------------------------------|--------------------|----------------------------------------|--------------------|------------|--------------------|
|    | Пациенты с ГКМП                       | Контрольная группа | Пациенты с ГКМП                        | Контрольная группа |            |                    |
| 1  | 0,51 (1:197)                          | 0 (0:100)          | 0,0025                                 | 0                  | Франция    | [2]                |
| 2  | 0,90 (2:223)                          | —                  | 0,0045                                 | —                  | Англия     | [17]               |
| 3  | 1,25 (1:80)                           | 0 (0:150)          | 0,0063                                 | 0                  | Австралия  | [6]                |
| 4  | 1,30 (1:77)                           | —                  | 0,0065                                 | —                  | Португалия | [18]               |
| 5  | 2,00 (2:100)                          | —                  | 0,0100                                 | —                  | Чехия      | [3]                |
| 6  | 3,23 (1:31)                           | 1,18 (1:85)        | 0,0161                                 | 0,0059             | США        | [4]                |
| 7  | —                                     | 4,00 (8:200)       | —                                      | 0,0200             | США        | [19]               |
| 8  | 2,61 (8:306)                          | 6,31 (7:111)       | 0,0131                                 | 0,0315             | Финляндия  | [15, 16]           |
| 9  | —                                     | 5,83 (6:103)       | —                                      | 0,0291             | Россия     | [5]                |
| 10 | 5,07 (17:335)                         | 3,94 (5:127)       | 0,0254                                 | 0,0197             | Беларусь   | Собственные данные |

Примечание. n — кол-во пациентов с наличием замены, N — кол-во обследуемых пациентов

ность адекватного контроля и трудности в оценке патогенности выявляемых мутаций при ГКМП, поскольку при данном заболевании они характеризуются неполной пенетрантностью.

Анализ гаплотипов у белорусских пациентов с ГКМП с учетом полиморфных локусов *p.Val849Val* (с.2547C>T, rs3729953) и *p.Glu1096Glu* (с.3288G>A, rs1052373), показал, что все носители мутации *p.Gln1233\** наряду с заменой *p.Arg326Gln* имели синонимичные замены *p.Val849Val* и *p.Glu1096Glu*. По-видимому, можно говорить, об эффекте основателя в белорусской популяции для мутации *p.Gln1233\**, которая расположена на аллеле с заменами *p.Arg326Gln*, *p.Val849Val* и *p.Glu1096Glu*. Все лица контрольной группы и пациенты с ГКМП только с заменой *p.Arg326Gln*, как выяснилось, также имели эти замены, за исключением 1 пациента, у которого отсутствовала замена *p.Glu1096Glu*. В работе Roncarati R. с соавт. [7] у пациента с мутацией *p.Gln1233\** кроме *p.Arg326Gln* присутствовала замена *Val849Val* и не было замены *p.Glu1096Glu*, как и у пациента с *p.Arg326Gln* из Беларуси.

По данным литературных источников, у всех носителей данной мутации после 40 лет обнаружен фенотип ГКМП, а также в некоторых семьях выявлены случаи внезапной сердечной смерти (ВСС) у пробандов или их ближайших родственников [6, 8, 10] и наступление фатального инсульта [10].

У белорусских пациентов фенотипическая реализация мутации *p.Gln1233\** в гене *MYBPC3* различалась и имела несколько вариантов клинического проявления:

- 1) обструктивная форма заболевания с последующей миоиспектэктомией;
- 2) необструктивная форма со стабильным течением;
- 3) необструктивная форма с прогрессированием симптомов хронической сердечной недостаточности (ХСН) и трансформацией в «конечную стадию»;
- 4) необструктивная форма с жизнеугрожающими аритмиями и необходимостью имплантации кардиовертера-дефибриллятора (КД).

Как показал анализ, модифицирующее влияние на фенотипические проявления заболевания оказывали возраст и пол пациентов (табл. 5). 10 из 18 (55,6%) пробандов были мужского пола. Средний возраст пробандов с мутацией *Gln1233\** при включении в исследование составил  $44,8 \pm 13,4$  (от 18 до 61 лет, медиана 50), при этом по возрасту включения в исследование мужчины были моложе, чем женщин ( $38,3 \pm 11,4$  против  $50,7 \pm 11,5$ ;  $p = 0,020$ ), манифестация заболевания у мужчин также наблюдалась в более раннем возрасте ( $27,2 \pm 13,1$  против  $37,1 \pm 11,3$ ;  $p = 0,054$ ). В целом, возраст манифестации первых симптомов заболевания варьировал от 15 до 49 лет (медиана — 26,5 года): у 55,6% диагноз установлен до 30 лет, у остальных — после 38. Выраженные симптомы заболевания (одышка при физической на-

Таблица 4

**Частота встречаемости мутации *p.Gln1233\** в сочетании *p.Arg326Gln* и без нее в гене *MYBPC3* в различных популяциях**

| №                                                                                                                                                                         | Частота встречаемости мутации, % (n:N) |                    | Частота встречаемости минорного аллеля |                    | Страна              | Источник           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|--------------------|----------------------------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
|                                                                                                                                                                           | Пациенты с ГКМП                        | Контрольная группа | Пациенты с ГКМП                        | Контрольная группа |                     |                    |
| Гаплотип p.Gln1233*(+); p.Arg326Gln(?)*                                                                                                                                   |                                        |                    |                                        |                    |                     |                    |
| 1                                                                                                                                                                         | 0,11 (1:874)                           | ?:372              | 0,00058                                | ?                  | Англия              | [20]               |
| 2                                                                                                                                                                         | 0,86 (9:1053)                          | 0 (0:200)          | 0,0043                                 | 0                  | США                 | [9]                |
| 3                                                                                                                                                                         | 1,81 (2:110)                           | 0 (0:50)           | 0,0091                                 | 0                  | Германия (турки)    | [8]                |
| 4                                                                                                                                                                         | 2,11 (3:142)                           | 0 (0:149)          | 0,0106                                 | 0                  | Венгрия             | [10]               |
| 5                                                                                                                                                                         | 2,30 (2:87)                            | 0 (0:430)          | 0,0115                                 | 0                  | Германия            | [21]               |
| 6                                                                                                                                                                         | 2,63 (1:38)                            | —                  | 0,0132                                 | —                  | Швейцария, Германия | [22]               |
| Гаплотип p.Gln1233*(+); p.Arg326Gln(+)                                                                                                                                    |                                        |                    |                                        |                    |                     |                    |
| 7                                                                                                                                                                         | 0,25 (1:389)                           | 2,0 (4:200)        | 0,0013                                 | 0,01               | США                 | [19]               |
| 8                                                                                                                                                                         | 0,80 (1:125)                           | —                  | 0,0040                                 | —                  | Италия              | [7]                |
| 9                                                                                                                                                                         | 1,00 (1:100)                           | —                  | 0,0050                                 | —                  | Чехия               | [3]                |
| 10                                                                                                                                                                        | 1,25 (1:80)                            | 0 (0:150)          | 0,0063                                 | 0                  | Австралия           | [6]                |
| 11                                                                                                                                                                        | 5,26 (2:38)                            | 0 (0:21)           | 0,0263                                 | 0                  | Россия, Беларусь    | [12]               |
| 12                                                                                                                                                                        | 6,49 (5:77)                            | 0 (0:103)          | 0,0325                                 | 0                  | Россия              | [5]                |
| 13                                                                                                                                                                        | 5,37 (18:335)                          | 0 (0:127)          | 0,0269                                 | 0                  | Беларусь            | Собственные данные |
| Примечание. * — нет данных о наличии у пациентов замены <i>p.Arg326Gln</i> ; n — кол-во пациентов с наличием мутации <i>p.Gln1233*</i> , N — кол-во обследуемых пациентов |                                        |                    |                                        |                    |                     |                    |

грузке, сердцебиения, перебои в работе сердца, синкопальные состояния, слабость) отмечались у всех пациентов, за исключением одного, поводом для обследования которого послужила ВСС у одного из родителей. Семейная форма заболевания наблюдалась у 10 пробандов. В семейном анамнезе двух пациентов установлен летальный исход от прогрессирования ХСН до «конечной стадии» у близких родственников.

У 6 из 18 пациентов (33,3%) диагностировали обструктивную форму заболевания с обструкцией выходного тракта левого желудочка (ВТЛЖ) от 52 до 92 мм рт.ст. У двух пациентов обструкция ВТЛЖ носила латентный характер и прирост градиента давления выявляли лишь при физической нагрузке (от 15 мм рт.ст. до 58 мм рт.ст. и 22 мм рт.ст. до 52 мм рт.ст. соответственно). У всех пациентов с обструкцией ВТЛЖ диагностирована асимметричная гипертрофия миокарда с максимальной толщиной в базальном отделе межжелудочковой перегородки (МЖП) от 18 до 23 мм (медиана 21 мм), выраженным SAM-феноменом и митральной регургитацией III-IV степени. Миосептэктомия и пластика митрального клапана были выполнены 5 пациентам, протезирование митрального клапана и резекция папиллярных мышц — одному пациенту с выраженными

ми фиброзными изменениями клапана. У трех пробандов с обструктивной формой ГКМП обнаружена мутация у ближайших родственников. У сыновей двух пробандов в возрасте 24 лет и 40 лет была диагностирована необструктивная форма заболевания с максимальной толщиной в базальной отделе МЖП 16 мм и 18 мм с малосимптомным течением заболевания. У 12-летнего сына третьего пробанда симптомов заболевания выявлено не было, при ЭхоКГ-исследовании выявлена гипертрофия папиллярных мышц, удлинённая передняя створка митрального клапана и максимальная толщина в базальном отделе МЖП 13 мм, свидетельствующие о доклинических проявлениях ГКМП.

У двух пациенток, вступивших в исследование в более позднем возрасте (старше 40 лет), основными симптомами заболевания были частые эпизоды желудочковых нарушений ритма. У 51-летней пациентки была диагностирована среднежелудочковая форма ГКМП с максимальной толщиной стенки в среднем сегменте левого желудочка (ЛЖ) 18 мм, с наличием внутрижелудочковой обструкции (25 мм рт.ст.) и зоной некомпактного миокарда в боковой стенке ЛЖ. В возрасте 54 года произошла ВСС с успешной реанимацией и имплантацией КД. У трех дочерей пациентки (34, 38 и 39 лет) то-

Таблица 5  
Клинические проявления заболевания у пациентов с ГКМП, имеющих мутацию *p.Gln1233*\*

| Группа, n                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Средний возраст манифестации       | Эпизоды НЖТ, n (%) | ФП, n (%) | ЭхоКГ-параметры                   |                               |                                 | Хирург. вмешательство | Исходы                         | Клинический фенотип, n (%) |          |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|--------------------|-----------|-----------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|-----------------------|--------------------------------|----------------------------|----------|
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                    |                    |           | ЛП, мм                            | МТС, мм                       | ГД ВТЛЖ, мм рт. ст.             |                       |                                | ГКМП                       | ОГКМП    |
| Мужчины                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                    |                    |           |                                   |                               |                                 |                       |                                |                            |          |
| Всего, n = 14                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 27,2 ± 13,1<br>19,5<br>[17,5;40,5] | 4 (40)             | 5 (35,7)  | 44,7 ± 6,6<br>44,5<br>[42;48]     | 20 ± 1,9<br>20<br>[18;21]     | 31,6 ± 34,9<br>9<br>[5;59]      | 4 (28,6)              |                                | 10 (71,4)                  | 4 (28,6) |
| До 40 лет, n = 9                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 18,9 ± 3,1<br>18 [17;20]           | 1 (16,7)           | 0         | 40,7 ± 4,3<br>42 [38;42]          | 18,6 ± 2,6<br>18 [17;20]      | 18,9 ± 22,6<br>8 [6;14]         | 2 (22,2)              | 0                              | 7 (77,8)                   | 2 (22,2) |
| После 40 лет, n = 5                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 38,8 ± 12,9<br>43 [38;48]          | 3 (75,0)           | 5 (100)   | 51,8 ± 3,6<br>53 [48;54]          | 19,6 ± 2,1<br>20 [18;21]      | 35,4 ± 43,8<br>10 [3;65]        | 2 (40,0)              | ОНМК — 1<br>Смерть от ХСН — 1  | 3 (60,0)                   | 2 (40,0) |
| Женщины                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                    |                    |           |                                   |                               |                                 |                       |                                |                            |          |
| Всего, n = 8                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 37,1 ± 11,3<br>42 [25;46]          | 2 (22,2)           | 6 (66,7)  | 45,3 ± 4,9<br>46,5<br>[41,5;48,5] | 19,6 ± 2,1<br>19<br>[18;21,5] | 20,5 ± 24,0<br>10,5<br>[9,5;21] | 1 (11,1)              |                                | 6 (66,7)                   | 2 (22,2) |
| До 40 лет, n = 1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 22                                 | 0                  | 0         | 46                                | 19                            | 11                              | 0                     | 0                              | 1                          | 0        |
| После 40 лет, n = 7                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 39,3 ± 10,3<br>44 [28;47]          | 2 (28,6)           | 6 (85,7)  | 45,1 ± 5,3<br>47 [38;50]          | 19,7 ± 2,3<br>19 [18;22]      | 21,9 ± 25,6<br>10 [9;23]        | 1 (14,3)              | ИКД — 1<br>ОНМК — 2<br>ВСС — 1 | 5 (71,4)                   | 2 (28,6) |
| Примечание. ЛП — левое предсердие; МТС — максимальная толщина стенки; ГД ВТЛЖ — градиент давления в выносящем тракте ЛЖ; НЖТ — неустойчивая желудочковая тахикардия; ФП — фибрилляция предсердий; КД — кардиовертер-дефибриллятор; ОНМК — острое нарушение мозгового кровообращения, ВСС — внезапная сердечная смерть. Данные в таблицах представлены в виде среднего арифметического значения и стандартного отклонения, а также в виде значений медианы и 25 и 75-го перцентилей. |                                    |                    |           |                                   |                               |                                 |                       |                                |                            |          |

же выявлена мутация, но фенотипические проявления заболевания (средне-желудочковая форма ГКМП, зона некомпактного миокарда в боковой области ЛЖ) были диагностированы лишь у старшей из дочерей, у остальных фенотип заболевания на данный момент не проявился.

У другой 60-летней пациентки с неструктуривной формой ГКМП (с градиентом ВТЛЖ 6 мм рт.ст. с максимальной толщиной стенки ЛЖ 18 мм в базальном отделе) на СМ ЭКГ на фоне персистирующей фибрилляции предсердий (ФП) регистрировали частые эпизоды неустойчивой желудочковой тахикардии (НЖТ) и было принято решение об имплантации КД с целью первичной профилактики ВСС. Такая же мутация была выявлена у трех членов ее семьи: у 47-летнего брата, у 38-летнего сына и у 12-летнего внука. У 47-летнего брата были диагностированы симптомы ХСН III ФК с наличием систолической дисфункции ЛЖ (ФВ ЛЖ 49%) и митральной регургитацией IV степени. При СМ ЭКГ регистрировали постоянную форму ФП с брадисистолией, что потребовало имплантации однокамерного электрокардиостимулятора (ЭКС). За период 5-летнего наблюдения симптомы ХСН прогрессировали до IV ФК NYHA и заболевание трансформировалось в «конечную» стадию. Была выполнена ортотопическая трансплантация сердца, но в раннем послеоперационном периоде произошел летальный исход вследствие полиорганной недостаточности. У сына пациентки диагностирована неструктуривная форма заболевания с асимметричной гипертрофией ЛЖ и максимальной толщиной 17 мм без значимых нарушений ритма и малосимптомным течением заболевания. У 12-летнего внука симптомы заболевания отсутствовали, при ЭхоКГ-исследовании выявлены гипертрофия папиллярных мышц, удлиненная передняя створка МК, максимальная толщина МЖП в базальном отделе 13 мм и отсутствие значимого градиента ВТЛЖ.

У 5 пробандов (3 женщины, 2 мужчины) симптомы заболевания манифестировали в позднем возрасте (старше 40 лет) и проявились ранним появлением пароксизмальной или постоянной формы ФП, прогрессированием симптомов ХСН до III ФК СН NYHA. При ЭхоКГ-исследовании диагностирована неструктуривная форма ГКМП с ГД ВТЛЖ от 3 до 10 мм рт.ст. (медиана 10 мм рт.ст.) с максимальной толщиной МЖП от 17 мм до 22 мм (медиана 19 мм) дилатацией ЛП от 47 мм до 54 мм (медиана 51 мм) и снижением ФВ ЛЖ <55% у 2 пациентов. У двух пациентов этой группы наступил летальный исход вследствие прогрессирования ХСН и развития острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) в возрасте 57 и 59 лет. У одного пациента произошла трансформация заболевания в «конечную» фазу и была проведена коррекция терапии, другой пациентке в возрасте 62 лет с наличием постоянной формы ФП и брадисистолии был имплантирован однокамерный ЭК.

У 5 пробандов, вступивших в исследование в молодом возрасте от 18 до 39 лет (медиана 25 лет), наблюдалось малосимптомное течение заболевания. У всех пациентов этой группы диагностирована неструктуривная форма ГКМП (ГД ВТЛЖ от 4 мм рт.ст. до 11 мм рт.ст., медиана 6 мм рт.ст.) с асимметричной гипертрофией ЛЖ и максимальной толщиной стенки от 17 мм до 23 мм (медиана 20 мм). У всех пациентов регистрировали сохраненную ФВ ЛЖ, отсутствие дилатации ЛП и значимых нарушений ритма.

Медиана наблюдения пациентов с мутацией *p.Gln1233\** составила 5,2 года. За период наблюдения всем пациентам с обструкцией ВТЛЖ (6 человек) была выполнена миосептэктомия, в том числе в сочетании с пластикой митрального клапана у трех из них и протезированием митрального клапана с резекцией папиллярных мышц — у одного пациента. У всех пациентов оперативное вмешательство было эффективным и резидуальный градиент в ВТЛЖ не превышал 10 мм рт.ст., а толщина передне-септальной области МЖП значительно уменьшилась ( $p=0,001$ ). Симптомы ХСН уменьшились с III до II ФК NYHA ( $p=0,01$ ).

### Выводы

Нонсенс-мутация *p.Gln1233\** (rs397516037) является самой частой среди обнаруженных мутаций у белорусских пациентов с ГКМП. Частота ее встречаемости на данный момент является максимальной по сравнению с другими популяциями и сопоставима со значением этого показателя в российской популяции. Установлен эффект основателя для мутации *p.Gln1233\** на территории Беларуси на основании локализации ее на аллеле с тремя полиморфными сайтами: *p.Arg326Gln*, *p.Val849Val* и *p.Glu1096Glu* у всех 18 пациентов с ГКМП. Течение заболевания у носителей мутации *p.Gln1233\** варьировало от бессимптомного или малосимптомного у пациентов в более молодом возрасте (от 18 до 40) до тяжелого течения с неблагоприятным прогнозом вследствие прогрессирования симптомов ХСН, развития ФП, жизнеугрожающих желудочковых аритмий и ОНМК, наблюдавшихся у пациентов старшей возрастной группы (от 35 до 61), вплоть до летального исхода вследствие прогрессирования ХСН.

### Список литературы

1. Carrier L, Bonne G, Bahrend E et al. Organization and sequence of human cardiac myosin binding protein C gene (MYBPC3) and identification of mutations predicted to produce truncated proteins in familial hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Res.* 1997;80:427-434.
2. Richard P, Charron P, Carrier L et al. Hypertrophic cardiomyopathy: distribution of disease genes, spectrum of mutations, and implications for a molecular diagnosis strategy. *Circulation.* 2003;107(17):2227-2232.

3. Curila K, Benesova L, Penicka M et al. Spectrum and clinical manifestations of mutations in genes responsible for hypertrophic cardiomyopathy. *Acta Cardiol.* 2012 Feb;67(1):23-29.
4. Niimura H, Patton KK, McKenna WJ et al. Sarcomere protein gene mutations in hypertrophic cardiomyopathy of the elderly. *Circulation.* 2002 Jan 29;105(4):446-451.
5. Поляк МЕ, Ховалыг АБ, Букаева АА и др. Спектр мутаций в гене MYBPC3 у пациентов с гипертрофической кардиомиопатией. *Медицинская генетика.* 2016;15(8): 26-29.
6. Ingles J, Doolan A, Chiu C et al. Compound and double mutations in patients with hypertrophic cardiomyopathy: implications for genetic testing and counselling. *J Med Genet.* 2005 Oct;42(10):e59.
7. Roncarati R, Latronico MV, Musumeci B et al. Unexpectedly low mutation rates in beta-myosin heavy chain and cardiac myosin binding protein genes in Italian patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Cell Physiol.* 2011 Nov;226(11):2894-2900.
8. Erdmann J, Raible J, Maki-Abadi J et al. Spectrum of clinical phenotypes and gene variants in cardiac myosin-binding protein C mutation carriers with hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2001 Aug;38(2):322-330.
9. Bos JM, Will ML, Gersh BJ et al. Characterization of a phenotype-based genetic test prediction score for unrelated patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Mayo Clin Proc.* 2014 Jun;89(6):727-737.
10. Toth T, Nagy V, Faludi R et al. The Gln1233ter mutation of the myosin binding protein C gene: causative mutation or innocent polymorphism in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Int J Cardiol.* 2011 Dec 1;153(2):216-219.
11. Mathew CC. The isolation of high molecular weight eukaryotic DNA. *Methods Mol Biol.* 1984;2:31-34.
12. Glotov AS, Kazakov SV, Zhukova EA et al. Targeted next-generation sequencing (NGS) of nine candidate genes with custom AmpliSeq in patients and a cardiomyopathy risk group. *Clin Chim Acta.* 2015;446:132-140.
13. Rafael JF, Cruz FEDS Filho, Carvalho ACC et al. Myosin-binding Protein C Compound Heterozygous Variant Effect on the Phenotypic Expression of Hypertrophic Cardiomyopathy. *Arq Bras Cardiol.* 2017 Apr; 108(4): 354-360.
14. Maron BJ, Niimura H, Casey SA et al. Development of left ventricular hypertrophy in adults in hypertrophic cardiomyopathy caused by cardiac myosin-binding protein C gene mutations. *J Am Coll Cardiol.* 2001 Aug;38(2):315-321.
15. Jaaskelainen P, Kuusisto J, Miettinen R et al. Mutations in the cardiac myosin-binding protein C gene are the predominant cause of familial hypertrophic cardiomyopathy in eastern Finland. *J Mol Med.* 2002 Jul;80(7):412-422.
16. Jaaskelainen P, Helio T, Aalto-Setälä K et al. A new common mutation in the cardiac beta-myosin heavy chain gene in Finnish patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Ann Med.* 2014 Sep;46(6):424-429.
17. Lopes LR, Zekavati A, Syrris P et al. Genetic complexity in hypertrophic cardiomyopathy revealed by high-throughput sequencing. *J Med Genet.* 2013 Apr;50(4): 228-239.
18. Brito D, Miltenberger-Miltenyi G, Vale Pereira S et al. Sarcomeric hypertrophic cardiomyopathy: genetic profile in a Portuguese population. *Rev Port Cardiol.* 2012 Sep;31(9):577-587.
19. Van Driest SL, Jaeger MA, Ommen SR et al. Comprehensive analysis of the beta-myosin heavy chain gene in 389 unrelated patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2004;44(3): 602-610.
20. Lopes LR, Syrris P, Guttman OP et al. Novel genotype-phenotype associations demonstrated by high-throughput sequencing in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Heart.* 2015 Feb;101(4):294-301.
21. Ehlermann P, Weichenhan D, Zehelein J et al. Adverse events in families with hypertrophic or dilated cardiomyopathy and mutations in the MYBPC3 gene. *BMC Med Genet.* 2008 Oct 28;9:95.
- Fokstuen S, Lyle R, Munoz A et al. A DNA resequencing array for pathogenic mutation detection in hypertrophic cardiomyopathy. *Hum Mutat.* 2008 Jun;29(6):879-885.