

Спектр мутаций в генах саркомерных белков и их фенотипическое проявление у белорусских пациентов с гипертрофической кардиомиопатией

Ниязова С.С.¹, Чакова Н.Н.¹, Комиссарова С.М.², Сасинович М.А.¹

1 — ГНУ «Институт генетики и цитологии Национальной Академия Наук Беларуси»
220072, Республика Беларусь, г. Минск, ул. Академическая, 27

2 — ГУ «Республиканский научно-практический центр «Кардиология»
220036, Республика Беларусь, г. Минск, ул. Розы Люксембург, 110Б

Введение. Гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП) относится к наследственной патологии, основной причиной которой являются мутации в генах, кодирующих белковые компоненты миофибрильного аппарата кардиомиоцитов, при этом спектр этих генетических изменений имеет популяционные особенности. Целью данного исследования являлось определение спектра мутаций в генах, кодирующих саркомерные белки, у пациентов с ГКМП из Беларуси, а также изучение взаимосвязей между генотипом и фенотипическими проявлениями заболевания. **Материалы и методы.** В исследование были включены 340 неродственных пациентов с ГКМП, проживающих в Беларуси. Обнаружение мутаций в кодирующих последовательностях генов *ACTC1*, *MYBPC3*, *MYH7*, *MYL2*, *MYL3*, *TNNI3*, *TNNT2*, *TNNC1* и *TPM1* у 89 пациентов проводили методом высокопроизводительного секвенирования (NGS). Направленный поиск выявленных методом NGS генетических дефектов осуществлялся методом автоматического секвенирования по Сэнгеру, а также с использованием ПЦР-ПДРФ анализа. **Результаты.** У 51,7% пациентов методом NGS обнаружены мутации в генах: *MYBPC3* (20,2%), *MYH7* (16,9%), *TPM1* (3,4%), *ACTC1* (2,3%), *MYL2* (1,1%) и *TNNC1* (1,1%). У 6,7% индивидуумов встречались две (5,6%) или три (1,1%) замены. Обнаружены новые мутации p.Ala49Asn, p.Val1407Phe в гене *MYH7*; p.Tyr501Ser, p.Trp1007fs, p.Tyr1043*, p.Pro1066Arg, p.Arg1138fs, p.Pro1181Gln, p.Cys1202Arg в гене *MYBPC3*. Установлены часто встречающиеся мутации: p.Gln1233*, p.Ser871Alafs, комбинация p.Glu1265Val+p.Cys1266Arg, p.Gln401* и p.Trp1214Arg в гене *MYBPC3*, p.Arg403Trp, p.Arg663Cys, p.Arg663His, p.Ala729Pro, p.Glu924Lys и p.Glu1356Lys в гене *MYH7*. По данным ЭхоКГ-исследования носители мутаций в генах белков саркомера, особенно обладатели миссенс-мутаций в гене *MYBPC3*, имели более выраженную гипертрофию миокарда и раннюю манифестацию заболевания по сравнению с пациентами без мутаций в этих генах. Для носителей наиболее распространенной среди белорусских пациентов мутации p.Gln1233* характерны позднее начало заболевания, умеренная гипертрофия миокарда левого желудочка, частое развитие фибрилляции предсердий. **Выводы.** Распределение встречаемости мутаций в генах, кодирующих саркомерные белки, у пациентов с ГКМП из Беларуси не отличалось от других европейских популяций. 84,9% обнаруженных мутаций локализовано в генах *MYBPC3* и *MYH7*.

Ключевые слова: гипертрофическая кардиомиопатия, мутации, гены белков саркомеров, *ACTC1*, *MYBPC3*, *MYH7*, *MYL2*, *MYL3*, *TNNC1*, *TPM1*, высокопроизводительное секвенирование (NGS), фенотипические проявления.

Для цитирования: Ниязова С.С., Чакова Н.Н., Комиссарова С.М., Сасинович М.А. Спектр мутаций в генах саркомерных белков и их фенотипическое проявление у белорусских пациентов с гипертрофической кардиомиопатией. *Медицинская генетика* 2019; 18(6): 21-33.

DOI: 10.25557/2073-7998.2019.06.21-33

Автор для корреспонденции: Чакова Наталья Николаевна; e-mail: n.chakova@igc.by

Финансирование. 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 «Научно-технологические и техника», 2016—2020 гг.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.06.2019

Mutation spectrum in sarcomeric protein genes and their phenotypic features in Belarusian patients with hypertrophic cardiomyopathy

Niyazova S.S.¹, Chakova N.N.^{1*}, Komissarova S.M.², Sasinovich M.A.¹

1 —The Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus
Akademicheskaya st., 27, 220072, Minsk, Republic of Belarus

2 — Republican Scientific and Practical Centre «Cardiology»
R. Luxemburg st., 110B, 220036, Minsk, Republic of Belarus

Background. Hypertrophic cardiomyopathy (HCM) is a hereditary pathology, the main cause of which is mutations in the genes encoding the protein components of the myofibril apparatus of cardiomyocytes, and the spectrum of these genetic changes has

population features. *The aim of the study* was to determine the spectrum of mutations in the genes encoding sarcomeric proteins in patients with HCM from Belarus, as well as to study the association between the genotype and the phenotypic manifestations of the disease. **Materials and methods.** The study included 340 unrelated patients with HCM from Belarus. Mutation detection in the coding sequences of *ACTC1*, *MYBPC3*, *MYH7*, *MYL2*, *MYL3*, *TNNI3*, *TNNT2*, *TNNC1* и *TPM1* genes was performed by next generation sequencing (NGS) in 89 patients. The directed search for genetic defects detected by the NGS method was carried out by the automatic sequencing method using Sanger and PCR-RFLP analysis. **Results.** The NGS method allowed to detect mutations in the genes of 51,7% of patients: *MYBPC3* (20,2%), *MYH7* (16,9%), *TPM1* (3,4%), *ACTC1* (2,3%), *MYL2* (1,1 %) and *TNNC1* (1,1%). In 6,7% of individuals two (5,6%) or three (1,1%) substitutions were observed. New mutations were found: p.Ala49Asn, p.Val1407Phe in the *MYH7* gene; p.Tyr501Ser, p.Trp1007fs, p.Tyr1043*, p.Pro1066Arg, p.Arg1138fs, p.Pro1181Gln, p.Cys1202Arg in the *MYBPC3* gene. The most frequently occurring mutations were identified: p.Gln1233*, p.Ser871Alafs, the combination of the p.Glu1265Val + p.Cys1266Arg, R.Gln401*, and Trp1214Arg in the *MYBPC3* gene, p.Glu924Lys and p.Glu1356Lys in the *MYH7* gene. According to the ECG study, carriers of mutations in sarcomere protein genes, especially with missense mutations in the *MYBPC3* gene, had more severe myocardial hypertrophy and early disease manifestation than patients without mutations in those genes. The p.Gln1233* mutation was the most common among Belarusian patients and characterized by late onset of the disease, mild left ventricular myocardial hypertrophy and the more frequent development of atrial fibrillation. **Conclusions.** In general, the distribution of mutations in the genes encoding sarcomeric proteins in patients with HCM from Belarus didn't differ from other European populations. 84,9% of the detected mutations were localized in *MYBPC3* and *MYH7* genes.

Keywords: hypertrophic cardiomyopathy, mutations, sarcomeric protein genes, *ACTC1*, *MYBPC3*, *MYH7*, *MYL2*, *MYL3*, *TNNC1*, *TPM1*, next generation sequencing (NGS), phenotypic features.

For citation: Niyazova S.S., Chakova N.N., Komissarova S.M., Sasinovich M.A. Mutation spectrum in sarcomeric protein genes and their phenotypic features in Belarusian patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Medical genetics* 2019; 18(6): 21-33. [In Rus].

DOI: 10.25557/2073-7998.2019.06.21-33

Corresponding author: Chakova Natalya Nikolaevna; e-mail: n.chakova@igc.by

Funding. This work was financially supported by project 18 «Developing a technology for assessing the risk of sudden cardiac death and other adverse outcomes in patients with primary cardiomyopathy using new generation sequencing technologies», subprogram 1 «Innovative biotechnologies 2020» of the State program «High technologies and equipment», 2016-2020.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Accepted: 20.06.2019

Введение

Гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП) является одним из распространенных наследственных заболеваний сердечно-сосудистой системы среди взрослого населения. На основании результатов современных молекулярно-генетических исследований и новых визуализирующих технологий распространенность ГКМП на сегодняшний момент оценена в 1:200 человек, что в 2,5 раза выше, чем было показано ранее [1]. ГКМП — генетически обусловленная патология саркомера, проявляющаяся в основном асимметричной гипертрофией миокарда левого желудочка (ЛЖ) с частым вовлечением базального отдела межжелудочковой перегородки в отсутствие известной тому причины, с возможной обструкцией выносящего тракта ЛЖ и гистологической картиной миокардиального фиброза с хаотичным расположением кардиомиоцитов [2,3]. Клинические проявления заболевания чрезвычайно вариабельны, у многих пациентов оно протекает бессимптомно или малосимптомно, а у других наблюдается прогрессирующее течение с неблагоприятными исходами [2, 3]. Несмотря на то, что большинство пациентов имеет относительно благоприят-

ное течение, данное заболевание является одной из причин развития внезапной сердечной смерти (ВСС), особенно у подростков и молодых людей [2]. ГКМП потенциально опасна для жизни и связана с высоким риском ВСС, прогрессированием сердечной недостаточности, развитием желудочковых тахикардий, фибрилляции предсердий и острого нарушения мозгового кровообращения [1,4].

Сложность поиска генетических факторов развития ГКМП обусловлена тем, что это заболевание генетически очень гетерогенно, причиной его возникновения является одна (реже несколько) из многочисленных мутаций генов, кодирующих белки саркомера и некоторые несаркомерные белки. На сегодняшний день идентифицировано почти 1400 мутаций в 18 различных генах, ассоциированных с ГКМП. Наиболее значимыми для данного заболевания являются 9 генов, кодирующих белковые компоненты сердечного саркомера, которые выполняют контрактильную, структурную или регуляторную функции: белки толстых (*MYH7*, *MYL2*, *MYL3*, *MYBPC3*) и тонких (*TNNT2*, *TNNI3*, *TNNC1*, *TPM1*, *ACTC1*) филаментов саркомера. Мутации в этих генах находят приблизительно у

50–60% пробандов, имеющих случаи ГКМП в семейном анамнезе, и примерно у 20–30% без них [1,3]. Приблизительно 6–9% людей, страдающих данным заболеванием, имеют более одной патогенной мутации [4]. Следует также отметить, что спектр и распространённость генетических аномалий при ГКМП имеют популяционную специфику, в связи с этим актуальным является поиск мутаций в каждой отдельной популяции для выяснения генетических причин развития данного заболевания в конкретном регионе.

К настоящему моменту существуют две противоположные точки зрения на проблему гено-фенотипических корреляций: одни исследования подтверждают их наличие, а другие – опровергают. Причем, если раньше главенствовала первая из них, то с накоплением большего количества информации все чаще высказывается мнение, что однозначная связь между первичным генным дефектом и фенотипом отсутствует. Исследования с участием пробандов и членов их семей показывают разнообразие клинических признаков у носителей мутаций в одном гене и даже у носителей одной и той же мутации. По всей видимости, на выраженность фенотипических признаков ГКМП помимо этих мутаций значительное влияние оказывают генетический фон (в частности, полиморфизм генов-модификаторов, мутации в других генах, ассоциированных с сердечно-сосудистой патологией), факторы внешней среды и образ жизни пациента. В результате наблюдаются различная экспрессивность и неполная пенетрантность основных мутаций, а само заболевание характеризуется существенной вариабельностью возраста манифестации, клинических проявлений и исходов ГКМП [5,6].

Целью данного исследования было определение спектра мутаций в генах, кодирующих белковые компоненты миофибрильного аппарата кардиомиоцитов, в когорте белорусских пациентов с ГКМП, а также изучение взаимосвязей между генотипом и фенотипическими проявлениями заболевания.

Материалы и методы

В исследование были включены 340 неродственных белорусских пациентов с ГКМП, обследованных и наблюдаемых проспективно в РНПЦ «Кардиология» в течение длительного периода времени. Все участники подписали 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 мето-

дом [7]. Поиск мутаций в кодирующих последовательностях генов *ACTC1*, *MYBPC3*, *MYH7*, *MYL2*, *MYL3*, *TNNI3*, *TNNI2*, *TNNI1* и *TPM1* у 89 пациентов проводили методом высокопроизводительного секвенирования (NGS) на генетическом анализаторе MiSeq (Illumina) (78 образцов ДНК) и на приборе Ion Torrent (Life Technologies) (11 образцов ДНК, анализ осуществлялся сотрудниками лаборатории пренатальной диагностики Научно-исследовательского института акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, г. Санкт-Петербург) [8]. В исследуемую группу были отобраны неродственные пациенты: умершие вследствие ВСС (8 человек); имеющие в семейном анамнезе случаи внезапной смерти близких родственников в молодом возрасте (21 человек); с успешной реанимацией и имплантацией кардиовертера-дефибриллятора (5 человек); с наличием желудочковых тахикардий (26 человек); пациенты, в том числе молодые (14 человек), с тяжелым неуклонно прогрессирующим течением ГКМП. Пробоподготовку образцов для секвенирования на приборе MiSeq осуществляли с использованием набора TruSight Cardio Sequencing Kit (Illumina). Обработка и аннотирование результатов секвенирования проводились с использованием специального программного обеспечения ANNOVAR rev. 527 [9], позволяющего оценить патогенность выявленного генетического варианта на основе баз данных dbSNP, 1000genomes, GWAS, HGMD и предсказательных модулей PolyPhen-2 [10], SIFT [11], REVEL [12], FATMM [13], и установить мутацию, ответственную за развитие ГКМП.

Для верификации результатов NGS проводились проверка наличия мутаций в генах *MYH7* и *MYBPC3* путём автоматического секвенирования по Сэнгеру, а также поиск мутаций в экзонах 13, 14, 19, 20, 22, 23 и 30 гена *MYH7* и экзонах 17, 24, 26, 32 и 33 гена *MYBPC3*. Секвенирование выполняли с использованием коммерческого набора BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit («Applied Biosystems», США) согласно инструкции фирмы-производителя. Определение частоты встречаемости некоторых выявленных генетических дефектов проводилось при секвенировании отдельных экзонов генов *MYBPC3* и *MYH7*, а также направленном выявлении мутаций с использованием метода ПЦР с изучением полиморфизма длин рестрикционных фрагментов. Последовательности использованных в работе праймеров, условия ПЦР и список рестриктаз доступны по запросу.

В исследование по выявлению ассоциации мутаций с клиническим фенотипом были включены 156 человек. Группу пациентов без мутаций в генах белков саркомера (генотип «-») составили 43 пациента, обследо-

дованные методом NGS. В группу пациентов с мутациями (генотип «+») были отнесены 113 человек: 46 пациентов, у которых мутации были обнаружены методом NGS, и 37 пациентов, у которых генетические изменения были выявлены в ходе автоматического секвенирования по Сэнгеру, а также 30 их ближайших родственников (средний возраст $41,7 \pm 13,6$ лет), носителей мутаций в исследуемых генах с установленным диагнозом ГКМП. У родственников были выявлены следующие мутации: p.Tyr162Cys, p.Arg403Trp, p.Val606Met, p.Arg663Cys, p.Arg663His (y 2), p.Ala729Pro (y 4), p.Lys847del, p.Glu924Lys, p.Glu931del (y 2), p.Glu1356Lys (y 2) в гене *MYH7*, p.Trp1007fs (y 2), p.Pro1066Arg, p.Arg1138fs (y 2), p.Gly1156fs, p.Trp1214Arg (y 2), p.Gln1233* (y 5), p.Glu1265Val+p.Cys1266Arg в гене *MYBPC3*. Пробанды с мутацией p.Gln1233* (18 человек) и их родственники (5 человек) не вошли в группу генотип «+» пациентов и анализировались отдельно.

Средний возраст общей группы составил $39,3 \pm 12,9$ лет, средний возраст женщин (53 человека; 34,0%) был $41,0 \pm 14,4$ год, а мужчин (103 человека; 66,0%) — $38,5 \pm 12,1$ лет. Все пациенты прошли обследование, включавшее оценку данных анамнеза, клинической картины заболевания, физикальное и инструментальное обследование: электрокардиографию (ЭКГ), суточное мониторирование ЭКГ и эхокардиографию (ЭхоКГ).

Статистическая обработка материала проводилась с использованием пакета прикладных программ «Statistica for Windows 6.0». Сравнение двух несвязанных между собой групп по количественным признакам осуществлялось с использованием непараметрического метода и U-критерия Манна-Уитни. Данные

в таблицах представлены в виде среднего арифметического значения и стандартного отклонения, а также в виде значений медианы и 25-го и 75-го перцентилей (интерквартильный размах). Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Для определения спектра мутаций в генах, кодирующих саркомерные белки, у 89 пациентов с ГКМП, проживающих на территории Республики Беларусь, с использованием технологии NGS проведен анализ кодирующих последовательностей следующих генов: *ACTC1*, *MYBPC3*, *MYH7*, *MYL2*, *MYL3*, *TNNC1*, *TNNI3*, *TNNT2*, *TPM1*.

В результате проведенного исследования у 51,7% пациентов (46 из 89) были выявлены патогенные мутации, приводящие к развитию ГКМП, и замены с возможной клинической значимостью (variant of uncertain significance — VUS) в генах, кодирующих сердечный α -актин (*ACTC1*), миозинсвязывающий белок С (*MYBPC3*), тяжелую цепь β -миозина (*MYH7*), регуляторную (*MYL2*) и существенную (*MYL3*) легкие цепи миозина, сердечный тропонин С (*TNNC1*) и α -тропомиозин (*TPM1*) (рис. 1).

Наибольшее количество пациентов (37,1%) являлось носителями мутаций в генах *MYBPC3* и *MYH7*, на их долю пришлось 20,2% (18 из 89) и 16,9% (15 из 89), соответственно. У 10% пациентов генетические изменения были выявлены в 4 генах: *TPM1* (3 из 89), *ACTC1* (2 из 89), *MYL2* (1 из 89) и *TNNC1* (1 из 89).

У 6,7% индивидуумов было обнаружено по две (5,6%) или три (1,1%) замены, причем хотя бы одна из них находилась в гене *MYBPC3*: p.Asp610His+p.Pro1066Arg и p.Glu1265Val+p.Cys1266Arg (выявлена у двух пациентов) в гене *MYBPC3*; p.Arg1712Trp (*MYH7*)+p.Arg502Gln (*MYBPC3*); p.Trp1214Arg (*MYBPC3*)+p.Arg154His (*MYL3*); p.Gly741Arg+p.Val1407Phe (*MYH7*)+p.Pro186Leu (*MYBPC3*).

По литературным данным доля пациентов с ГКМП, у которых обнаруживаются мутации в генах белков саркомеров, колеблется от 30% до 65% [14–20], в среднем составляя 50%. Распределение мутаций в генах белков саркомеров в обследованной нами выборке было схоже с наблюдаемым распределением в других европейских популяциях (французской, английской, португальской, испанской, итальянской), а также в американской и австралийской [2, 14–20]. У большинства пациентов с ГКМП мутации были обнаружены в двух генах *MYBPC3* и *MYH7* (от 25% до 51%), причем доля обладателей мутаций в гене *MYBPC3* была наибольшей. На долю остальных генов приходилось не более 15% всех случаев ГКМП. Используемый

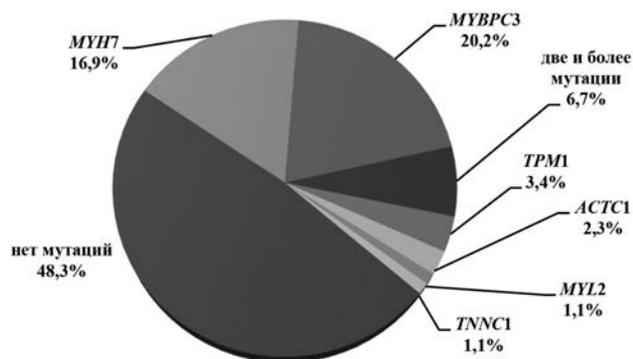


Рис. 1. Распределение мутаций в генах, кодирующих саркомерные белки, у белорусских пациентов с ГКМП.

метод поиска мутаций, количество анализируемых генов и степень их покрытия при анализе могут оказывать влияние на оценку спектра мутаций в разных генах.

Из 53 обнаруженных методом NGS генетических изменений в белорусской выборке пациентов с ГКМП большинство 84,2% (45 из 53) находились в генах *МУН7* (18) и *МУВРС3* (27) (табл. 1, 2 соответственно). Для определения частоты встречаемости наиболее значимых выявленных генетических дефектов в когорте неродственных белорусских пациентов с ГКМП проводили поиск мутаций методом автоматического секвенирования по Сэнгеру. При этом были выявлены некоторые клинически значимые мутации, которые также представлены в табл. 1 и 2.

В гене *МУН7* все изменения (27), кроме двух делеций, были представлены однонуклеотидными миссенс-мутациями, две из которых выявлены впервые: p.Ala49Asn, p.Val1407Phe. Анализ новых вариантов с использованием инструментов *in silico* (PolyPhen2,

SIFT, REVEL, FATHMM) показал, что данные мутации являются вероятно патогенными. Из всех выявленных генетических дефектов 79,0% (15 из 19) являлись патогенными и вероятно патогенными. Эти мутации внесены в международные базы данных, такие как HGMD (Human Gene Mutation Database), OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) и другие. Обнаруженные генетические изменения были локализованы в экзонах 3, 5, 7, 13, 14, 16, 18, 20, 22, 23, 30, 31 и 35. Большинство (84,2%) выявленных дефектов находятся в области 3–23 экзонов, что соответствует глобулярной головке β -миозина, шейке молекулы и подвижному региону (рис. 2). Данные мутации вызывают изменения структуры и функциональных свойств важнейших участков молекулы: актин-связывающего и АТФ-связывающего центров, а также центра взаимодействия миозина с легкими цепями и миозин-связывающим белком С. Это может приводить к уменьшению активности актин-активирован-

Таблица 1

Мутации в гене *МУН7* у пациентов с ГКМП из Беларуси

№ п/п	Код пациента	Нуклеотидная замена / Rs	Аминокислотная замена	Доля мутации у пациентов, %	Классификация
1	100	c.[146C>A;147G>A]	p.Ala49Asn	1,1 (1:89)	VUS*
2	218	c.485A>G/rs1057517771	p.Tyr162Cys	1,1 (1:89)	DM
3	173	c.556G>C/rs786205906	p.Val186Leu	1,1 (1:89)	VUS
4	2,31,150,423	c.1207C>T/rs3218714	p.Arg403Trp	1,2 (4:333)	DM
5	68	c.1231G>A/rs730880868	p.Val411Ile	0,61 (1:164)	DM
6	266	c.1348A>G/-	p.Lys450Glu	0,62 (1:162)	VUS
7	170	c.1357C>T/rs121913625	p.Arg453Cys	0,31 (1:321)	DM
8	98	c.1816G>A/rs121913627	p.Val606Met	0,33 (1:301)	DM
9	466,514	c.1988G>A/rs371898076	p.Arg663His	0,66 (2:304)	DM
10	84,458	c.1987C>T/rs397516127	p.Arg663Cys	0,66 (2:304)	DM
11	88,104,295,474	c.2185G>C/-	p.Ala729Pro	1,2 (4:332)	DM
12	538	c.221G>A/rs121913632	p.Gly741Arg	0,60 (1:169)	DM
13	197	c.2539_2541del/rs397516155	p.Lys847del	0,61 (1:164)	DM
14	16	c.2606G>A/rs202141173	p.Arg869His	0,61 (1:164)	DM
15	43,92	c.2770G>A/rs121913628	p.Glu924Lys	0,97 (2:206)	DM
16	239	c.2791_2793delGAG/rs397516172	p.Glu931del	0,49 (1:206)	DM
17	4,238	c.4066G>A/rs727503246	p.Glu1356Lys	1,4 (2:139)	DM
18	538	c.4219G>T/-	p.Val1407Phe	1,1 (1:89)	VUS*
19	137	c.5134C>T/rs121913650	p.Arg1712Trp	1,1 (1:89)	DM

Примечание: Жирным шрифтом выделены коды пациентов, у которых мутация была обнаружена методом NGS. DM (disease-causing mutation) – патогенный или вероятно патогенный вариант нуклеотидной последовательности; VUS (Variant of uncertain significance) – замечены с неустановленной значимостью; * – новый вариант, не описанный в литературных источниках.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

ной миозиновой АТФазы, нарушению кинетических свойств молекулы миозина и изменению сократительных свойств саркомера [21].

В гене *MYH7* выявлено 4 часто встречаемых мутации: p.Arg403Trp (4:333), p.Ala729Pro (4:332), p.Glu924Lys (2:206) и p.Glu1356Lys (2:139). В кодоне 663 с общей частотой 1,32% (4 из 304) встречались замены p.Arg663Cys и p.Arg663His.

В табл. 2 представлены мутации в гене *MYBPC3*, которые были обнаружены у белорусских пациентов с ГКМП.

В гене *MYBPC3* только 60,9% (14 из 23) мутаций являлись миссенс-мутациями, остальные дефекты были

представлены нонсенс-мутациями (17,4%), а также делециями (17,4%) и дупликацией (4,3%), приводящими к сдвигу рамки считывания (кроме p.Asn515del) и образованию преждевременного стоп-кодона. В этом гене обнаружены новые нонсенс-мутация с.3129C>A (p.Tyr1043*), 3 делеции (с.3019delT (p.Trp1007fs), с.3412delC (p.Arg1138fs) (у 2 неродственных пациентов)) и 4 миссенс-мутации: p.Tyr501Ser, p.Pro1066Arg, p.Pro1181Gln, p.Cys1202Arg, анализ патогенности которых с использованием инструментов *in silico* (PolyPhen2, SIFT, FATHMM, REVEL) показал, что все эти миссенс-варианты являются вероятно патогенными. Стоит отметить, что в остальных кодонах ранее

Таблица 2

Мутации в гене *MYBPC3* у пациентов с ГКМП из Беларуси

№ п/п	Код пациента	Нуклеотидная замена / Rs	Аминокислотная замена	Доля мутации у пациентов, %	Классификация
1	538	c.557C>T/rs727503216	p.Pro186Leu	1,1 (1:89)	VUS
2	130	c.772G>A/rs397516074	p.Glu258Lys	1,1 (1:89)	DM
3	271, 442	c.1037G>A/rs397515883	p.Arg346His	0,79 (2:254)	VUS
4	34, 342, 526	c.1201C>T/rs730880637	p.Gln401*	0,97 (3:309)	DM
5	272	c.1502A>C/-	p.Tyr501Ser	0,61 (1:165)	DM*
6	137	c.1505G>A/rs397515907	p.Arg502Gln	0,61 (1:165)	DM
7	95	c.1543_1545delAAC/ rs730880643	p.Asn515del	0,61 (1:165)	VUS
8	20	c.1828G>A/rs371564200	p.Asp610His	1,1 (1:89)	DM
9	99, 176, 261, 387	c.2610delC/rs730880656	p.Ser871Alafs	2,4 (4:166)	DM
10	12	c.2827C>T/rs387907267	p.Arg943*	0,32 (1:313)	DM
11	348	c.3019delT/-	p.Trp1007fs	0,46 (1:219)	DM*
12	198	c.3129C>G/-	p.Tyr1043*	0,45 (1:221)	DM*
13	20	c.3197C>G/-	p.Pro1066Arg	0,92 (1:109)	DM*
14	14, 380	c.3412delC/-	p.Arg1138fs	0,62 (2:325)	DM*
15	96	c.3467dupA/rs730880720	p.Gly1156fs	0,34 (1:295)	DM
16	243	c.3542C>A	p.Pro1181Gln	0,89 (1:112)	DM*
17	19	c.3604T>C/-	p.Cys1202Arg	0,89 (1:112)	DM*
18	69, 108, 472	c.3640T>C/-	p.Trp1214Arg	0,91 (3:330)	DM
19	28, 50, 58, 61, 62, 83, 86, 10, 113, 154, 179, 232, 268, 270, 384, 385, 393, 456	c.3697C>T/rs397516037	p.Gln1233*	5,3 (18:338)	DM
20	187	c.3752A>G/rs730880602	p.Tyr1251Cys	0,43 (1:232)	DM
21	39, 395	c.3763G>A/rs727503167	p.Ala1255Thr	0,86 (2:232)	DM
22	424, 425, 426	c.3794A>T/rs730880607	p.Glu1265Val	1,3 (3:232)	DM
23	424, 425, 426	c.3796T>C/rs730880608	p.Cys1266Arg	1,3 (3:232)	DM

Примечание: Жирным шрифтом выделены коды пациентов, у которых мутация была обнаружена методом NGS. DM (disease-causing mutation) – патогенный или вероятно патогенный вариант нуклеотидной последовательности; VUS (Variant of uncertain significance) – замены с неустановленной значимостью; * – новый вариант, не описанный в литературных источниках.

описаны миссенс- и нонсенс-мутации: в кодоне 1043 описана патогенная мутация с.3129C>A (р.Тур1043*), в результате которой происходит замена того же нуклеотида в положении 3129 с последующим образованием преждевременного стоп-кодона, как и в нашем случае. В кодонах 1007 и 1138 также описаны патогенные миссенс- (с.3019T>C (р.Trp1007Arg), с.3412C>T (р.Arg1138Cys), с.3413G>A (р.Arg1138His), с.3413G>C (р.Arg1138Pro)) и нонсенс-мутации (с.3020G>A (р.Trp1007*), с.3021G>A (р.Trp1007*)), однако делеции нами выявлены впервые. Данная информация и результаты сегрегационного анализа ближайших родственников позволили нам отнести три новых мутации р.Trp1007fs, р.Тур1043* и р.Arg1138fs к патогенным. Таким образом, 87,0% (20 из 23) мутаций в гене *MYBPC3* являлись патогенными и вероятно патогенным и либо отсутствовали в контрольных группах, либо встречались с крайне низкой частотой (меньше 0,01%).

Выявленные мутации были локализованы в экзонах 5, 6, 12, 13, 17, 19, 26, 27, 29, 30, 31, 32 и 33 гена

MYBPC3. Больше половины из выявленных генетических изменений в данном гене локализовано в области, ответственной за прикрепление миозин-связывающего белка к толстой нити саркомера (домены С7-С10). Как видно из рис. 3 в данных доменах находятся сайты связывания с молекулами миозина (лёгким меромиозином), с доменами самого миозин-связывающего белка, а также титина, что обеспечивает правильное включение молекулы миозин-связывающего белка С в саркомер и его стабильность [23].

В гене *MYBPC3* выявлено 6 часто встречаемых мутаций: р.Gln1233* (18:338) [25], р.Ser871Alafs (4:166), комбинация р.Glu1265Val+р.Cys1266Arg (3:232), р.Gln401* (3:309) и р.Trp1214Arg (3:330).

По одной диагностически значимой мутации было выявлено в генах *TPM1*, *MYL2*, *MYL3*, *ACTC1*, четыре *VUS* – в генах *TPM1* (2), *ACTC1* (1) и *TNNC1* (1) (табл. 3).

У 48,3% пациентов не было обнаружено мутаций в кодирующей последовательности исследуемых генов,

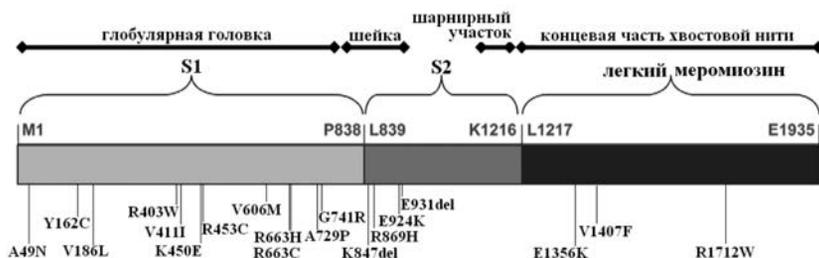


Рис. 2. Схематическое расположение мутаций, обнаруженных в гене *MYH7*, кодирующем тяжелые цепи β-миозина (модифицировано из [22]).

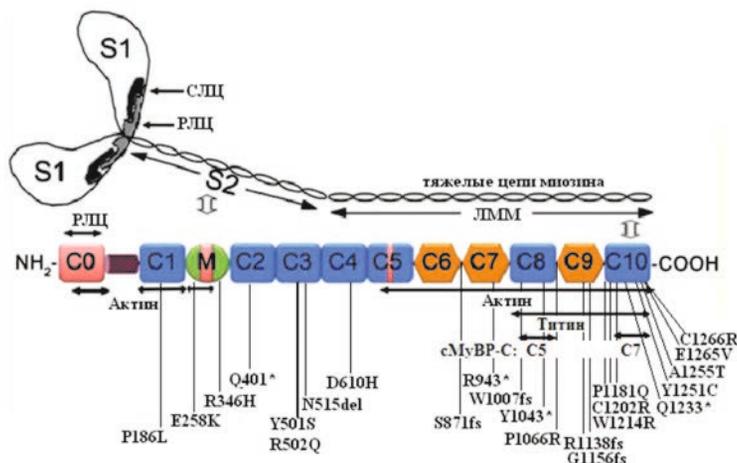


Рис. 3. Схематическое расположение мутаций на молекуле миозин-связывающего белка С и областей взаимодействия с другими белками саркомера (адаптировано из [24]) (СЛЦ и РЛЦ – существенные и регуляторные легкие цепи миозина, ЛММ – легкий меромиозин).

при этом у некоторых из них наблюдалась тяжелая картина заболевания, а в анамнезе были случаи ВСС у ближайших родственников. Можно предположить, что в этих случаях мутации могут находиться в некодирующих областях исследованных генов, которые не анализировались в настоящем исследовании, или в других кандидатных генах, что требует дальнейшего изучения.

В рекомендациях ESC по диагностике и лечению ГКМП 2014 г. указано, что у пациентов с мутациями в генах саркомерных белков заболевание манифестирует раньше, и отмечается более высокая частота семейного накопления ГКМП и ВСС, чем у больных без мутаций. У них также отмечается тенденция к более выраженной гипертрофии, микрососудистой дисфункции и миокардиальному фиброзу. В нескольких исследованиях установлено, что некоторые мутации в генах саркомерных белков характеризуются более серьезным прогнозом, чем другие, однако эти наблюдения были сделаны на небольших группах больных и требуют дополнительных исследований [17, 26–27].

В связи с этим, нами изучены клинические проявления ГКМП в зависимости от наличия генетических дефектов в генах, кодирующих саркомерные белки. Для более полной оценки взаимосвязей между генотипом и фенотипом проведен сравнительный анализ показателей клинико-инструментального обследования как между подгруппами пациентов генотип «+» и генотип «-» без учета локализации мутаций, так и между группами пациентов с мутациями в разных генах (*MYH7* и *MYBPC3*). Кроме того, учитывали возможное влияние типа мутаций (миссенс-мутации и нонсенс-мутации) на фенотипические проявления заболевания. Клиническая характеристика подгрупп обследованных

пациентов с ГКМП в зависимости от результатов генотипирования представлена в табл. 4.

Пациенты с мутациями и без них существенно не различались по возрасту на момент проведения исследования, полу, факторам риска ВСС (семейный анамнез ВСС, синкопальные состояния, эпизоды неустойчивой желудочковой тахикардии). Установлено, что у пациентов из группы генотип «+» наблюдались более раннее начало заболевания ($22,2 \pm 9,6$ года против $24,6 \pm 10,3$ лет, $p=0,041$) с выраженной гипертрофией миокарда, статистически значимо большие значения индекса массы миокарда (ИММ) ЛЖ ($p=0,023$), толщины межжелудочковой перегородки (ТМЖП) ($p=0,0014$) и максимальной толщины стенки ЛЖ (ТСЛЖ) ($p=0,004$) по сравнению с пациентами из группы генотип «-».

Аналогичные данные получены многими исследователями, в том числе португальскими [17] и испанскими [18]: у носителей мутаций в генах белков саркомеров наблюдалась большая максимальная ТСЛЖ, и они были моложе на момент появления первых симптомов и на момент установления диагноза. В исследовании Agarwal A. с соавт. [16] также установлена разница в возрасте установления диагноза: пациенты из группы генотип «+» были моложе, чем из группы генотип «-», однако не обнаружено различий по показателям гипертрофии между группами с мутациями и без. При этом наблюдалось увеличение частоты эпизодов желудочковой тахикардии ($29,1\%$ против $12,3\%$, $p=0,02$) у пациентов из группы генотип «+».

Существует ряд исследований, в которых показано [26], что клинические проявления ГКМП существенно зависят от локализации мутации в определенном гене, в частности в генах *MYBPC3* и *MYH7*. Счи-

Таблица 3

Мутации в генах *ACTC1*, *TPM1*, *TNNC1*, *MYL2* и *MYL3* у пациентов с ГКМП из Беларуси

№ п/п	Код пациента	Ген	Нуклеотидная замена / Rs	Аминокислотная замена	Доля мутаций у пациентов, %	Классификация
1	145	<i>MYL2</i>	c.173G>A/rs104894369	p.Arg58Gln	1,1 (1:89)	DM
2	108	<i>MYL3</i>	c.461G>A/rs104893749	p.Arg154His	1,1 (1:89)	DM
3	373	<i>TNNC1</i>	c.430A>G/rs730881061	p.Asn144Asp	1,1 (1:89)	VUS
4	17	<i>TPM1</i>	c.515T>C/rs199476312	p.Ile172Thr	1,1 (1:89)	VUS
5	135	<i>TPM1</i>	c.574G>A/rs199476315	p.Glu192Lys	1,1 (1:89)	DM
6	192	<i>TPM1</i>	c.707A>G/rs764939532	p.Asn236Ser	1,1 (1:89)	VUS
7	347	<i>ACTC1</i>	c.713T>C/rs770397773	p.Leu238Pro	1,1 (1:89)	DM
8	416	<i>ACTC1</i>	c.845A>G/rs759156523	p.Asn282Ser	1,1 (1:89)	VUS

Примечание: DM (disease-causing mutation) – патогенный и вероятно патогенный вариант нуклеотидной последовательности; VUS (Variant of uncertain significance) – замены с неустановленной значимостью.

тается, что при мутации в гене *MYBPC3* заболевание манифестирует поздно, болезнь протекает относительно доброкачественно и имеет более благоприятный прогноз по сравнению с мутациями в гене *MYH7*.

В группе белорусских пациентов с ГКМП возраст манифестации заболевания в зависимости от локализации мутации не различался, а более выраженная гипертрофия миокарда наблюдалась у носителей мутаций в гене *MYBPC3*. Значения массы миокарда ЛЖ, ИММ ЛЖ, максимальной ТСЛЖ и толщины межжелудочковой перегородки были статистически значимо больше у пациентов с мутациями в гене *MYBPC3* ($p=0,039$, $p=0,041$, $p=0,02$, $p=0,007$, соответственно) по сравнению с обладателями мутаций в гене *MYH7*. Аналогичная картина обнаружена в группе португальских пациентов [17] с ГКМП и в исследовании Carolyn Y. Но с соавт. [27]. У пациентов с мутациями в гене

MYBPC3 наблюдалась большая максимальная ТСЛЖ по сравнению с носителями мутаций в гене *MYH7* ($25,6\pm 6,74$ против $22,9\pm 5,33$, $p=0,02$ и $21,9\pm 0,2$ против $17,7\pm 0,1$, $p=0,03$; соответственно). В других исследованиях таких ассоциаций обнаружено не было [28].

Существенный вклад в фенотипические проявления ГКМП может вносить тип мутации, поскольку считается, что механизм развития ГКМП различается у пациентов с миссенс-мутациями и так называемыми «усекающими» или «укорачивающими» мутациями, к которым относятся нонсенс-варианты, а также делеции и инсерции со сдвигом рамки считывания, приводящие к преждевременному стоп-кодону. У пациентов с преждевременным стоп-кодоном не происходит синтез аминокислотной последовательности белка, поскольку наблюдается разрушение транслируемого продукта еще на стадии мРНК. Данные мутации дей-

Таблица 4

Оценка клинических и инструментальных показателей обследованных пациентов с ГКМП в зависимости от результатов генотипирования

Характеристики	Группы пациентов						
	Генотип «-» (1)	Генотип «+»	с мутациями в гене <i>MYH7</i>	с мутациями в гене <i>MYB- PC3</i> (2)	с миссенс- мутациями в гене <i>MYBPC3</i> (3)	с нонсенс- мутациями в гене <i>MYB- PC3</i> (4)	с мутацией p.Gln1233* в гене <i>MYBPC3</i>
	n=43	n=90	n=43	n=40	n=22	n=18	n=23
Возраст, лет	39,4±11,6	38,3±13,4	38,1±13,2	38,1±13,4	36,1±13,5	40,6±13,4	43,4±12,9
Возраст первичных симптомов, лет	25,1±10,6	22,8±10,2*¹	22,3±9,1	21,6±9,7	21,5±11,1*¹	21,7±8,1	32,5±12,3*^{1,2,3,4}
Возраст установки диагноза, лет	28,1±13,1	27,4±12,5	26,5±11,0	27,4±13,3	26,4±13,7	28,6±12,9	37,5±12,8*^{1,2,3,4}
ВСС в семейном анамнезе	12 из 43 (27,9%)	19 из 65 (29,2%)	7 из 27 (25,9%)	12 из 31 (38,7%)	6 из 18 (33,3%)	6 из 13 (46,2%)	0 из 18 (0)
Синкопе	25,6%	25,6%	30,2%	20,0%	22,7%	16,7%	17,4%
Наличие НЖТ	41,9%	44,4%	46,5%	42,5%	45,5%	38,9%	21,7%
Наличие ФП	16,3%	24,4%	32,6%	20,0%	9,1%	33,3	52,2%*^{1,2,3}
ГДВТЛЖ>30ммрт.ст.	51,2%	37,8%	37,2%	37,5%	36,4%	38,9%	21,7%*¹
ММЛЖ, г	312,0±135,5	326,0±101,5	304,9±90,7*^{2,3}	350,8±113,5	372,0±125,3*¹	327,3±96,9	278,9±72,9*^{2,3}
ИММ, г/м ²	157,3±58,1	171,3±46,8* ¹	161,9±38,9*^{2,3}	182,7±54,6*¹	191,4±55,3*¹	173,1±53,8	146,5±39,8*^{2,3}
ТМЖП, мм	18,4±4,9	20,6±4,6* ¹	19,3±4,5*^{2,3}	22,1±4,4*¹	22,6±5,1*¹	21,5±3,4*¹	19,1±2,5*^{2,3,4}
ТСЛЖ макс, мм	19,2±3,5	21,8±4,9* ¹	20,4±4,1*^{2,3}	23,1±5,1*¹	24,0±5,8*¹	22,1±4,2*¹	19,2±2,3*^{2,3,4}
ГДВТЛЖ, мм рт.ст.	31,5[10;57]	21 [6;48]	12,5 [6;49]	22,5[6,5;45]	21,5 [6;48]	25 [7;43]	9 [5;22]*¹
Наличие SAM, n (%)	2 [0;3]	2 [0;2]	2 [0;3]	2[1;2]	2[1;3]*¹	2 [0;2]	0 [0;2]*^{1,2,3}

Примечание: * статистически значимые различия ($p<0,05$): *¹ – с группой генотип «-», *² – с носителями мутаций в гене *MYBPC3*, *³ – с носителями миссенс-мутаций в гене *MYBPC3*, *⁴ – с носителями миссенс-мутаций в гене *MYBPC3*. ВСС – внезапная сердечная смерть; ТМЖП – толщина межжелудочковой перегородки; НЖТ – неустойчивая желудочковая тахикардия; ФП – фибрилляция предсердий; ГДВТЛЖ – градиент давления в выносящем тракте ЛЖ; ММЛЖ – масса миокарда левого желудочка; ИММ – индекс массы миокарда; ТСЛЖ – максимальная толщина стенки ЛЖ.

ствуют по принципу гаплонедостаточности. Миссенс-мутации, которые изменяют аминокислотную последовательность, приводят к синтезу белка, способного встраиваться в саркомер и оказывать доминантно-негативный эффект [29, 30]. В связи с наличием различий в механизме развития ГКМП описанных выше, некоторыми исследователями предпринимались попытки сравнить фенотипические проявления данного заболевания у носителей нонсенс- и миссенс-мутаций в гене *MYBPC3*. Некоторыми авторами было показано, что наиболее тяжелые проявления заболевания, включающие жизнеугрожающую аритмию и выраженную гипертрофию, требующую хирургического вмешательства, чаще встречались у носителей мутаций, приводящих к укорочению белка [31, 32]. Напротив, у пациентов и членов их семей с миссенс-мутациями и делециями без сдвига рамки считывания, симптомы заболевания, как правило, были менее выраженными. В других исследованиях не обнаружено таких закономерностей [33].

В выборке белорусских пациентов с ГКМП более трети являлись носителями мутаций, приводящих к образованию преждевременного стоп-кодона в гене *MYBPC3*. В гене *MYH7* мутаций такого рода не выявлено. Как видно из таблицы 4, между группами пациентов с разным типом мутаций в гене *MYBPC3* обнаружены статистически значимые различия только в возрасте появления первичных симптомов ГКМП: пациенты с миссенс-мутациями были моложе по сравнению с носителями «усекающих» мутаций ($p=0,025$). Что касается показателей гипертрофии миокарда, то их значение было выше у пациентов с миссенс-мутациями по сравнению с «усекающими», хотя различия и не достигали статистической значимости.

Сравнительный анализ пациентов с одинаковым типом мутаций показал, что у носителей миссенс-мутаций в гене *MYBPC3* значения показателей ИММЛЖ, ММЛЖ и размеров стенок ЛЖ оказались статистически значимо выше, чем у носителей миссенс-мутаций в гене *MYH7* ($p=0,018$, $p=0,022$, $p=0,015$ и $p=0,019$, соответственно).

Следует также отметить, что по степени выраженности анализируемых клинических показателей только группа пациентов с мутациями в гене *MYBPC3*, особенно носители миссенс-мутаций, отличалась от группы пациентов без мутаций. Кроме того, пациенты с миссенс-мутациями в гене *MYBPC3* на момент появления первичных симптомов заболевания были моложе ($p=0,009$) пациентов без мутаций. Таким образом, можно сделать вывод, что среди всех носителей мутаций более выраженные проявления ГКМП наблюдались у пациентов с миссенс-заменами в гене *MYBPC3*.

По частоте развития неблагоприятных исходов и событий: ВСС, ВСС с успешной реанимацией, летальных исходов от хронической сердечной недостаточности и острого нарушения мозгового кровообращения, а также по частоте выполненных миоэпектомий, имплантаций кардиовертер-дефибриллятора для первичной профилактики ВСС не было выявлено значимых различий между генотип «+» и генотип «-» пациентами, а также между носителями мутаций в генах *MYH7* и *MYBPC3*.

Следует отметить, что при сравнительном анализе фенотипических проявлений ГКМП из группы пациентов генотип «+» и пациентов с мутациями в гене *MYBPC3* были исключены носители мутации *p.Gln1233**, поскольку они имели статистически значимые отличия в фенотипическом проявлении заболевания даже от носителей других нонсенс-мутаций. Эта мутация является самой частой у белорусских пациентов с ГКМП и обнаружена у 18 из 338 пробандов. Носители мутации *p.Gln1233** характеризовались наиболее поздним началом заболевания и возрастом установления диагноза, а также наименьшей степенью выраженности гипертрофии ЛЖ и практически отсутствием SAM-феномена по сравнению с другими группами пациентов (табл. 4). Это, возможно, и объясняет более высокую частоту её встречаемости среди пациентов с ГКМП. Семейный анамнез заболевания пробандов с заменой *p.Gln1233** не был отягощен случаями ВСС близких родственников. Однако, следует подчеркнуть, что частота развития неблагоприятных исходов и событий была не меньше, чем в других группах пациентов, а в случаях фибрилляции предсердий было даже значимо выше. Фибрилляция предсердий наблюдалась практически у 50% носителей мутации *p.Gln1233** после 40 лет.

Заключение

В настоящее время не вызывает сомнения тот факт, что спектр мутаций и распределение частоты их встречаемости при многих наследственных заболеваниях, включая ГКМП, имеет популяционную специфику: одни из уже известных мутаций могут встречаться чаще, другие – реже или не встречаться вообще. Кроме того, постоянно сообщается о новых мутациях. В группе белорусских пациентов с ГКМП 20,2% мутаций выявлено в гене *MYBPC3*; 16,9% – в гене *MYH7*; 3,4% – в гене *TPM1*, 2,3% – в гене *ACTC1*, 1,1% – в гене *MYL2* и 1,1% – в гене *TNNC1*. Две и более замены были обнаружены в 6,7% случаев. Большинство (84,9%) генетических изменений находились в генах *MYBPC3* и *MYH7*, при этом мутации в гене *MYBPC3* (50,9%) об-

наружались в 1,5 раза чаще, чем в гене *MYH7* (34%). У 48,3% пациентов не было выявлено мутаций в кодирующей последовательности генов белков саркомера. Аналогичное соотношение встречаемости мутаций в анализируемых генах обнаружено и в других европейских популяциях. Однако наблюдались особенности в распространении отдельных мутаций — наиболее частыми были мутации p.Gln1233*, p.Ser871Alafs, комбинация p.Glu1265Val+p.Cys1266Arg, p.Gln401* и p.Trp1214Arg в гене *MYBPC3*, p.Arg403Trp, p.Arg663Cys, p.Arg663His, p.Ala729Pro, p.Glu924Lys и p.Glu1356Lys в гене *MYH7*. Кроме того, выявлено 9 новых мутаций p.Ala49Asn, p.Val1407Phe в гене *MYH7*; p.Tyr501Ser, p.Trp1007fs, p.Tyr1043*, p.Pro1066Arg, p.Arg1138fs, p.Pro1181Gln, p.Cys1202Arg в гене *MYBPC3*.

Установлено, что пациенты с мутациями в генах белков саркомера (группа генотип «+») были моложе на момент появления первых симптомов заболевания и имели более выраженную гипертрофию миокарда по сравнению с пациентами из группы генотип «-». При этом пациенты с миссенс-мутациями в гене *MYBPC3* имели наиболее выраженную гипертрофию миокарда ЛЖ по сравнению с носителями такого же типа мутаций в гене *MYH7*, а также с пациентами без мутаций. Носители мутаций в гене *MYH7* не отличались от группы пациентов без мутаций по степени выраженности анализируемых показателей. Пациенты с самой частой мутацией p.Gln1233* в гене *MYBPC3* характеризовались более поздней манифестацией заболевания, менее выраженной гипертрофией ЛЖ и высокой частотой встречаемости фибрилляции предсердий по сравнению с другими подгруппами пациентов. При этом частота возникновения неблагоприятных событий и исходов статистически значимо не различалась между исследуемыми подгруппами.

Полученные данные подтверждают мнение о том, что результаты генетического тестирования при ГКМП являются дополнительным критерием для прогноза заболевания у пациентов с данной патологией, а изучение ассоциаций фенотипа и генотипа на генетически однородном материале является более информативным.

Список литературы

- Semsarian C., Ingles I., Maron M., Maron B. New perspectives the prevalence of Hypertrophic Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2015 Mar 31;65(12):1249-1254. doi: 10.1016/j.jacc.2015.01.019.
- Marian A.J., Braunwald E. Hypertrophic cardiomyopathy: genetics, pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis, and therapy. *Circ Res*. 2017 Sep 15;121(7):749-770. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.311059.
- Gersh B.J., Maron B.J., Bonow R. et al. ACCF/AHA guideline for the diagnosis and treatment of hypertrophic cardiomyopathy: executive summary: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol*. 2011 Dec 13;58(25):2703-38. doi: 10.1016/j.jacc.2011.10.825.
- Ingles J., Sarina T., Yeates L. et al. Clinical predictors of genetic testing outcomes in hypertrophic cardiomyopathy. *Genet Med*. 2013 Dec;15(12):972-7. doi: 10.1038/gim.2013.44.
- Maron B.J., Haas T.S., Goodman J.S. Hypertrophic cardiomyopathy: one gene... But many phenotypes. *Am J Cardiol*. 2014 May 15;113(10):1772-3. doi: 10.1016/j.amjcard.2014.02.032.
- Alpert N.R., Mohiddin S.A., Tripodi D. et al. Molecular and phenotypic effects of heterozygote myosin heavy-chain mutation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005 Mar;288(3):H1097-102.
- Mathew C.G. The isolation of high molecular weight eucaryotic DNA. *Methods Mol Biol*. 1985;2:31-4.
- Glotov A.S., Kazakov S.V., Zhukova E.A. 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 Jun 15;446:132-40. doi: 10.1016/j.cca.2015.04.014.
- Wang K., Li M., Hakonarson H. ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data. *Nucleic Acids Res*. 2010 Sep;38(16):e164. doi: 10.1093/nar/gkq603.
- Adzhubei I.A., Schmidt S., Peshkin L. et al. A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nat Methods*. 2010 Apr;7(4):248-9. doi: 10.1038/nmeth0410-248.
- Kumar P., Henikoff S., Ng P.C. Predicting the effects of coding non-synonymous variants on protein function using the SIFT algorithm. *Nat Protoc*. 2009;4(7):1073-81. doi: 10.1038/nprot.2009.86.
- Ioannidis N.M., Rothstein J.H., Pejaver V. et al. REVEL: An ensemble method for predicting the pathogenicity of rare missense variants. *Am J Hum Genet*. 2016 Oct 6;99(4):877-885. doi: 10.1016/j.ajhg.2016.08.016.
- Shihab H.A., Gough J., Cooper D.N. et al. Predicting the Functional, Molecular and Phenotypic Consequences of Amino Acid Substitutions using Hidden Markov Models. *Hum Mutat*. 2013 Jan;34(1):57-65. doi: 10.1002/humu.22225.
- 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 May 6;107(17):2227-32.
- Lopes L.R., Zekavati A., Syrris P. et al. Genetic complexity in hypertrophic cardiomyopathy revealed by high-throughput sequencing. *J Med Genet*. 2013 Apr;50(4):228-39. doi: 10.1136/jmedgenet-2012-101270.
- Agarwal A., Yousefzai R., Jan M.F. et al. Clinical application of WHF-MOGE(S) classification for hypertrophic cardiomyopathy. *Glob Heart*. 2015 Sep;10(3):209-19. doi: 10.1016/j.ghheart.2015.01.001.
- 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):577-87. doi: 10.1016/j.repc.2011.12.020.
- García-Castro M., Coto E. et al. Mutations in sarcomeric genes *MYH7*, *MYBPC3*, *TNNT2*, *TNNI3*, and *TPM1* in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Rev Esp Cardiol*. 2009 Jan;62(1):48-56.
- Olivetto I., Girolami F., Ackerman M.J. et al. Myofilament protein gene mutation screening and outcome of patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Mayo Clin Proc*. 2008 Jun;83(6):630-8. doi: 10.4065/83.6.630.
- Ingles J., Burns C., Bagnall R.D. et al. Nonfamilial hypertrophic cardiomyopathy prevalence, natural history, and clinical implications. *Circ Cardiovasc Genet*. 2017 Apr;10(2):e001620. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.116.001620.
- Костарева А.А., Гудкова А.А., Семерин Е.Н. и др. Молекулярно-генетические аспекты и особенности клинического течения

- некоторых форм гипертрофической кардиомиопатии. *Вестник аритмологии*. 2003;32:57–61.
22. Núñez L., Gimeno-Blanes J.R., Rodríguez-García M.I. et al. Somatic *MYH7*, *MYBPC3*, *TPM1*, *TNNT2* and *TNNI3* mutations in sporadic hypertrophic cardiomyopathy. *Circ*. 2013;77:2358–2365.
 23. Carrier L., Bonne G., Bährend 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 Mar;80(3):427–34.
 24. Sadayappan S., de Tombe P.P. Cardiac myosin binding protein-C: redefining its structure and function. *Biophys Rev*. 2012 Jun; 4(2): 93–106. doi: 10.1007/s12551-012-0067-x.
 25. Чакова Н.Н., Ниязова С.С., Комиссарова С.М. и др. Нонсенс-мутация Gln1233* и замена Arg326Gln в гене *MYBPC3* у пациентов с гипертрофической кардиомиопатией в Беларуси. *Медицинская генетика*. 2018;17(12):36–43. <https://doi.org/10.25557/2073-7998.2018.12.36-43>
 26. Elliott P.M. et al. Рекомендации ESC по диагностике и лечению гипертрофической кардиомиопатии. *Российский кардиологический журнал*. 2015;5(121): 7–57. <http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-05-7-57>.
 27. Ho C.Y., Carlsen C., Thune J.J. et al. Echocardiographic strain imaging to assess early and late consequences of sarcomere mutations in hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet*. 2009 Aug;2(4):314–21. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.109.862128.
 28. Viswanathan S.K., Sanders H.K., McNamara J.W. et al. Hypertrophic cardiomyopathy clinical phenotype is independent of gene mutation and mutation dosage. *PLoS One*. 2017 Nov 9;12(11):e0187948. doi: 10.1371/journal.pone.0187948.
 29. Carrier L., Mearini G., Stathopoulou K. et al. Cardiac myosin-binding protein C (*MYBPC3*) in cardiac pathophysiology. *Gene*. 2015 Dec 1;573(2):188–97. doi: 10.1016/j.gene.2015.09.008.
 30. Helms A.S., Davis F.M., Coleman D. et al. Sarcomere mutation-specific expression patterns in human hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet*. 2014 Aug;7(4):434–43. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.
 31. 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):322–30.
 32. Liu X., Jiang T., Piao C. et al. Screening mutations of *MYBPC3* in 114 unrelated patients with hypertrophic cardiomyopathy by targeted capture and next-generation sequencing. *Sci Rep*. 2015 Jun 19;5:11411. doi: 10.1038/srep11411.
 33. Van Driest S.L., Vasile V.C., Ommen S.R. et al. Myosin binding protein C mutations and compound heterozygosity in hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2004 Nov 2;44(9):1903–10.
 4. Ingles J., Sarina T., Yeates L. et al. Clinical predictors of genetic testing outcomes in hypertrophic cardiomyopathy. *Genet Med*. 2013 Dec;15(12):972–7. doi: 10.1038/gim.2013.44.
 5. Maron B.J., Haas T.S., Goodman J.S. Hypertrophic cardiomyopathy: one gene... But many phenotypes. *Am J Cardiol*. 2014 May 15;113(10):1772–3. doi: 10.1016/j.amjcard.2014.02.032.
 6. Alpert N.R., Mohiddin S.A., Tripodi D. et al. Molecular and phenotypic effects of heterozygote myosin heavy-chain mutation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005 Mar;288(3):H1097–102.
 7. Mathew C.G. The isolation of high molecular weight eucaryotic DNA. *Methods Mol Biol*. 1985;2:31–4.
 8. Glotov A.S., Kazakov S.V., Zhukova E.A. 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 Jun 15;446:132–40. doi: 10.1016/j.cca.2015.04.014.
 9. Wang K., Li M., Hakonarson H. ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data. *Nucleic Acids Res*. 2010 Sep;38(16):e164. doi: 10.1093/nar/gkq603.
 10. Adzhubei I.A., Schmidt S., Peshkin L. et al. A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nat Methods*. 2010 Apr; 7(4):248–9. doi: 10.1038/nmeth0410-248.
 11. Kumar P., Henikoff S., Ng P.C. Predicting the effects of coding non-synonymous variants on protein function using the SIFT algorithm. *Nat Protoc*. 2009;4(7):1073–81. doi: 10.1038/nprot.2009.86.
 12. Ioannidis N.M., Rothstein J.H., Pejaver V. et al. REVEL: An ensemble method for predicting the pathogenicity of rare missense variants. *Am J Hum Genet*. 2016 Oct 6;99(4):877–885. doi: 10.1016/j.ajhg.2016.08.016.
 13. Shihab H.A., Gough J., Cooper D.N. et al. Predicting the Functional, Molecular and Phenotypic Consequences of Amino Acid Substitutions using Hidden Markov Models. *Hum Mutat*. 2013 Jan;34(1):57–65. doi: 10.1002/humu.22225.
 14. 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 May 6;107(17):2227–32.
 15. Lopes L.R., Zekavati A., Syrris P. et al. Genetic complexity in hypertrophic cardiomyopathy revealed by high-throughput sequencing. *J Med Genet*. 2013 Apr;50(4):228–39. doi: 10.1136/jmedgenet-2012-101270.
 16. Agarwal A., Yousefzai R., Jan M.F. et al. Clinical application of WHF-MOGE(S) classification for hypertrophic cardiomyopathy. *Glob Heart*. 2015 Sep;10(3):209–19. doi: 10.1016/j.ghart.2015.01.001.
 17. 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):577–87. doi: 10.1016/j.repc.2011.12.020.
 18. García-Castro M., Coto E. et al. Mutations in sarcomeric genes *MYH7*, *MYBPC3*, *TNNT2*, *TNNI3*, and *TPM1* in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Rev Esp Cardiol*. 2009 Jan;62(1):48–56.
 19. Olivetto I., Girolami F., Ackerman M.J. et al. Myofilament protein gene mutation screening and outcome of patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Mayo Clin Proc*. 2008 Jun;83(6):630–8. doi: 10.4065/83.6.630.
 20. Ingles J., Burns C., Bagnall R.D. et al. Nonfamilial hypertrophic cardiomyopathy prevalence, natural history, and clinical implications. *Circ Cardiovasc Genet*. 2017 Apr;10(2):e001620. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.116.001620.
 21. Kostareva A.A., Gudkova A.Ja., Semerin E.N. et al. Молекулярно-генетические аспекты и особенности клинического течения некоторых форм гипертрофической кардиомиопатии. [Molecular genetic aspects and clinical features of some forms of hypertrophic cardiomyopathy]. *Вестник аритмологии [Journal of arrhythmology]*. 2003;32:57–61. (In Russ.)
 22. Núñez L., Gimeno-Blanes J.R., Rodríguez-García M.I. et al. Somatic *MYH7*, *MYBPC3*, *TPM1*, *TNNT2* and *TNNI3* mutations in sporadic hypertrophic cardiomyopathy. *Circ*. 2013;77:2358–2365.

References

1. Semsarian C., Ingles I., Maron M., Maron B. New perspectives the prevalence of Hypertrophic Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2015 Mar 31;65(12):1249–1254. doi: 10.1016/j.jacc.2015.01.019.
2. Marian A.J., Braunwald E. Hypertrophic cardiomyopathy: genetics, pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis, and therapy. *Circ Res*. 2017 Sep 15;121(7):749–770. doi: 10.1161/CIRCRESA-HA.117.311059.
3. Gersh B.J., Maron B.J., Bonow R. et al. ACCF/AHA guideline for the diagnosis and treatment of hypertrophic cardiomyopathy: executive summary: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol*. 2011 Dec 13;58(25):2703–38. doi: 10.1016/j.jacc.2011.10.825.

23. Carrier L., Bonne G., Bährend 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 Mar;80(3):427-34.
24. Sadayappan S., de Tombe P.P. Cardiac myosin binding protein-C: re-defining its structure and function. *Biophys Rev.* 2012 Jun; 4(2): 93–106. doi: 10.1007/s12551-012-0067-x.
25. Chakova N.N., Niyazova S.S., Komissarova S.M. et al. Gln1233* non-sens-mutation and Arg326Gln polymorphism of *MYBPC3* gene in patients with hypertrophic cardiomyopathy in Belarus. *Medical Genetics.* 2018;17(12):36-43. <https://doi.org/10.25557/2073-7998.2018.12.36-43>. (In Russ.)
26. Elliott P.M., Anastakis A., Borger M.A. et al. 2014 ESC guidelines on diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy. *Russ J Cardiol* 2015, 5 (121): 7–57. <http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-05-7-57>. (In Russ.)
27. Ho C.Y., Carlsen C., Thune J.J. et al. Echocardiographic strain imaging to assess early and late consequences of sarcomere mutations in hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet.* 2009 Aug;2(4):314–21. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.109.862128.
28. Viswanathan S.K., Sanders H.K., McNamara J.W. et al. Hypertrophic cardiomyopathy clinical phenotype is independent of gene mutation and mutation dosage. *PLoS One.* 2017 Nov 9;12(11):e0187948. doi: 10.1371/journal.pone.0187948.
29. Carrier L., Mearini G., Stathopoulou K. et al. Cardiac myosin-binding protein C (*MYBPC3*) in cardiac pathophysiology. *Gene.* 2015 Dec 1;573(2):188-97. doi: 10.1016/j.gene.2015.09.008.
30. Helms A.S., Davis F.M., Coleman D. et al. Sarcomere mutation-specific expression patterns in human hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet.* 2014 Aug;7(4):434-43. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.
31. 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):322-30.
32. Liu X., Jiang T., Piao C. et al. Screening mutations of *MYBPC3* in 114 unrelated patients with hypertrophic cardiomyopathy by targeted capture and next-generation sequencing. *Sci Rep.* 2015 Jun 19;5:11411. doi: 10.1038/srep11411.
33. Van Driest S.L., Vasile V.C., Ommen S.R. et al. Myosin binding protein C mutations and compound heterozygosity in hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2004 Nov 2;44(9):1903-10.