

СПЕКТР МУТАЦИЙ В ГЕНЕ ТРАНСИРЕТИНА В КОГОРТЕ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

Гудкова А.Я.^{1,2*}, Семернин Е.Н.^{1,2}, Полякова А.А.^{1,2}, Крутиков А.Н.¹,
Соловьев К.В.³, Грудина Н.А.^{1,3}, Шавловский М.М.^{2,3}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Северо-Западный Федеральный медицинский исследовательский
центр им. В. А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

² Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
профессионального образования «Первый Санкт-Петербургский
государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова»
Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Гудкова Александра Яковлевна,
ГБОУ ВПО «ПСПбГМУ им. акад.
И.П. Павлова» Минздрава России,
ул. Льва Толстого 6/8, Санкт-Петербург,
Россия, 197022
E-mail: alexagood-1954@mail.ru

Статья поступила в редакцию 22.08.2015
и принята к печати 23.09.2015.

Резюме

Целью проводимого исследования было выявить транстиретиновый амилоидоз (ТТР-амилоидоз) в отобранной когорте пациентов с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) и установить спектр мутаций в гене транстиретина.

Методы и результаты. Было обследовано 257 пациентов с ХСН. Проведены клиническое обследование, иммуногистохимическое окрашивание и генетический анализ. В гене транстиретина были обнаружены мутации V30M, H90N, N98N, G6S и делеция (del9).

Выводы. В обследованной когорте пациентов с ХСН обнаружена относительно высокая частота мутаций в гене транстиретина. Мы предполагаем важность улучшения диагностики семейного ТТР-амилоидоза в России.

Ключевые слова: транстиретин, кардиомиопатия, полинейропатия, семейный амилоидоз.

Для цитирования: Гудкова А.Я., Семернин Е.Н., Полякова А.А., Крутиков А.Н., Соловьев К.В., Грудина Н.А., Шавловский М.М. Спектр мутаций в гене транстиретина в когорте пациентов с хронической сердечной недостаточностью. Трансляционная медицина. 2016; 3 (1): 34–38.

THE SPECTRUM OF MUTATIONS OF THE TRANSTHYRETIN GENE IN A COHORT OF PATIENTS WITH CHRONIC HEART FAILURE

A. Ya. Gudkova^{1,2}, E. N. Semernin^{1,2}, A.A. Polyakova^{1,2},
A.N. Krutikov¹, K. V. Solovyov³, N. A. Grudinina^{1,3},
M. M. Shavlovsky^{2,3}

¹ Federal Almazov North-West Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

² Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia

³ Scientific Research Institute of Experimental Medicine, North-West Branch, Russian Academy of Medical Sciences, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:

Alexandra Ya. Gudkova,
Pavlov First Saint Petersburg State Medical University,
6/8

L'va Tolstogo str., Saint Petersburg, Russia
197022.

e-mail: alexagood-1954@mail.ru

Received 22 August 2015;

accepted 23 September 2015.

Abstract

Objective. The aim of present study was to identify transthyretin amyloidosis (ATTR amyloidosis) in a selected cohort of patients with chronic heart failure (CHF) and establish the mutations spectrum of the transthyretin gene.

Methods and Results. 257 patients with CHF have been examined. Clinical examination, immunochemical staining and genetic analysis were performed. Mutations V30M, H90N, N98N, G6S and deletion (del9) in the *TTR* gene have been detected.

Conclusion. In the studied cohort of patients with heart failure found a relatively high frequency of mutations of the transthyretin gene. We assume that it is important to improve the diagnostics of TTR-related familial amyloidosis in Russia.

Keywords: transthyretin, cardiomyopathy, polyneuropathy, familial amyloidosis.

For citation: Gudkova AY, Semernin EN, Polyakova AA, Krutikov AN, Solovyov KV, Grudinina NA, Shavlovsky MM. The spectrum of mutations of the transthyretin gene in a cohort of patients with chronic heart failure. Translational Medicine = Translyatsionnaya Meditsina. 2016; 3 (1): 34–38.

Наиболее распространенной формой наследственного системного амилоидоза является амилоидоз, обусловленный фибрилlogenезом одного из белков плазмы крови и спинномозговой жидкости — преальбумина или транстиретина (ТТР). В настоящее время рекомендуется использовать название «транстиретин», отражающее функции белка транспортировать тироксин и ретинол-связывающий белок, чтобы избежать путаницы с другими «преальбуминами» (орозомукоид, альфа-1 антитрипсин и др.). ТТР является сывороточным белком с тетрамерной структурой (гомотетрамер), который преимущественно продуцируется в печени, а также синтезируется сетчаткой и сосудистой мозговой оболочкой (plexus). ТТР не только осуществляет транспорт витамина А и гормонов щитовидной железы, но и участвует в их переносе через гематоэнцефали-

ческий барьер. Молекулы транстиретина «дикого типа», как и мутантные формы этого белка, могут при определенных условиях «неправильно сворачиваться», способствуя появлению конформационных изменений. Прогрессирование конформационных изменений в молекулах транстиретина сопровождается их агрегацией и формированием упорядоченных нитевидных нерастворимых структур — амилоидных фибрилл, которые, накапливаясь в межклеточном пространстве органов и тканей, приводят к развитию системного амилоидоза. Фибриллярные структуры, сформированные транстиретином дикого типа, находят в основном у пациентов 60 лет и старше, что указывает на существование возрастных триггеров амилоидоза. В 1969 Andrade [1] впервые представил описание клинического течения транстиретиновой семейной

амилоидной полиневропатии (ТТР-САП) у пациентов из Португалии. В дальнейшем благодаря развитию биохимических и молекулярно-генетических подходов к диагностике ТТР-семейная амилоидная полиневропатия была выявлена по всему миру.

Ген *TTR* расположен на 18q хромосоме и состоит из 4 экзонов. ТТР-амилоидоз имеет аутосомно-доминантное наследование с неполной пенетрантностью. Большинство пациентов являются гетерозиготами, поэтому имеют мутантный и немутантный транстретин.

На сегодняшний день зарегистрировано около 120 различных одиночных, двойных мутаций в гене транстретина, большинство из мутаций амилоидогенны, лишь около 10 считаются неамилоидогенными [2].

Особенности клинического течения заболевания и генетические аспекты транстретинового амилоидоза (АТТР) в когорте пациентов Северо-Западного региона России практически не исследованы [3].

Цель: изучить частоту выявления ТТР-амилоидоза и охарактеризовать особенности клинического течения заболевания у пациентов с сердечной недостаточностью (СН).

Материал и методы. Было обследовано 257 пациентов с хронической сердечной недостаточностью (ХСН). Поиск мутаций в гене *TTR* проводили с помощью анализа конформационного полиморфизма однонитевых фрагментов ДНК с последующим секвенированием. Проведены клинико-лабораторные и инструментальные методы диагностики (электрокардиография, суточное мониторирование ЭКГ, эхокардиография, рентгенография органов грудной клетки, биопсия подкожно-жировой клетчатки с последующей окраской конго красным, определение уровня каппа- и лямбда-цепей в сыворотке крови и моче, электрофорез сывороточных белков, стерильная пункция, эндомикардиальная биопсия).

Результаты. Мутации в гене *TTR* были обнаружены у 12 из 257 пациентов (4,6 %). У 6 пациентов диагностированы мутации Val30Met (позиция в гене (1679G>A) во 2 экзоне) (Табл. 1). Выраженная симметричная концентрическая гипертрофия левого желудочка (ЛЖ), фенокопия гипертрофической кардиомиопатии (ГКМП) была обнаружена у 4 пациентов с мутацией Val30Met. В двух других случаях имело место сочетание фенотипов гипертрофического (Г) + рестриктивного (Р). В половине случаев прогрессирующего течения СН, ассоциированной с кардиомиопатическими фенотипами в гене ТТР обнаружены не Val30Met мутации. Асимметричная гипертрофия ЛЖ и гипертрофия межжелудочковой перегородки (толщина 22 мм),

фенокопия ГКМП диагностирована у пациента с мутацией N98N (позиция в гене (6819C>T) в 4 экзоне), ранее не описанной. Дилатация предсердий, пограничная симметричная гипертрофия ЛЖ (толщина стенки 13–14 мм), признаки легочной гипертензии 1 степени и нарушение диастолической функции (фенокопия рестриктивной кардиомиопатии (РКМП)) были выявлены у 4 пациентов с не Val30Met мутациями в гене *TTR* (два пациента с мутацией H90N (позиция в гене (3951A>C) в 3 экзоне), два других с G6S (позиция в гене с.76 G>A во 2 экзоне) и у оставшегося с Del9 мутацией (позиция в гене del(GACTTCTCC) в некодирующей части 4 экзона) диагностирован дилатационный фенотип. У всех пациентов наблюдались наджелудочковые и желудочковые нарушения ритма высоких градаций; кроме того, у трех пациентов нарушения ритма сочетались с атриовентрикулярными и сино-атриальными блокадами 2–3 степени в сочетании с пароксизмами фибрилляции предсердий, что потребовало установки им электрокардиостимулятора. Было зарегистрировано 3 случая внезапной смерти. На ранних стадиях заболевания систолическая функция была сохранена, однако затем наблюдалось ее снижение. Сердечная недостаточность наряду с периферической и автономной полинейропатией различной степени выраженности являлись ведущими клиническими симптомами у обследованных пациентов с мутацией Val30Met. У всех пациентов с мутацией Val30Met заболевание сопровождалось прогрессирующей ортостатической гипотензией. У всех пациентов с не Val30Met мутациями в гене ТТР не было обнаружено клинически значимой периферической или автономной полинейропатии; в 2 случаях при жировой аспирационной биопсии не обнаружено амилоида.

Заключение. В обследованной когорте пациентов с ХСН, ассоциированной с кардиомиопатическими фенокопиями, обнаружена относительно высокая частота мутаций в гене ТТР.

По нашим данным в когорте пациентов российской популяции на долю транстретинового амилоидной кардиомиопатии в структуре синдрома ХСН с сохраненной фракцией выброса приходится 4,6 % [4]. При этом только в половине случаев, а именно при ТТР-Val30Met-амилоидозе, имела место типичная клиническая картина. Роль не Val30Met мутаций в гене ТТР в генезе СН, ассоциированной с фенокопиями кардиомиопатий, остается открытой. Наша работа является первым этапом изучения вариабельности гена *TTR* у больных кардиомиопатиями в Санкт-Петербурге. Санкт-Петербург не является эндемическим регионом по ТТР-САП.

Таблица 1. Спектр мутаций в гене транстиретина в когорте пациентов Северо-западного региона России

Мутация	Позиция в гене транстиретина	Носители	Метод выявления	Литературные данные
V30M	(1679G>A) во 2 экзоне	Обнаружена у 6 неродственных пациентов	SSCP, секвенирование, ПДРФ	Описана ранее
H90N	(3951A>C) в 3 экзоне	Обнаружена у 2 пациента и его матери	SSCP, секвенирование, ПДРФ	Описана ранее
N98N	(6819C>T) в 4 экзоне	Обнаружена у 1 пациента	SSCP, секвенирование	Обнаружена впервые
Del9	del(GACTTCTCC) в некодирующей части 4 экзона	Обнаружена у 1 пациента и двух его дочерей от разных браков	SSCP, секвенирование	Описана ранее
G6S	с.76 G>A во 2 экзоне	Обнаружена у 2 неродственных пациентов	SSCP, секвенирование, ПДРФ	Описана ранее, неамилоидогенная

По нашим данным заболевание в основном носит спорадический характер, возраст манифестации клинических проявлений ТТР-САП варьировался от 45 до 50 лет. Поражение сердца выявляли через 10–15 лет. У всех пациентов имела место прогрессирующая ортостатическая гипотония. На конечной стадии заболевания имела место трансформация ГКМП в РКМП, легочная гипертензия, фибрилляция предсердий, тромбоэмболические осложнения, прогрессирующая застойная сердечная недостаточность. Смерть пациентов наступала через 15–20 лет от начала заболевания.

Создание в России национального банка данных таких больных, раннее выявление семейных случаев заболевания поможет заложить основы своевременной диагностики и оптимизации терапии при этой сложной и до конца не изученной патологии.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Список литературы / References

1. Andrade C, Canijo M, Klein D et al. The genetic aspects of the familial amyloidotic polyneuropathy: Portuguese type of amyloidosis. Hum. Genet. 1969; 7: 163–175.
2. Wilczek HE, Larsson M, Ericzon BG. Long-term data from the Familial Amyloidotic Polyneuropathy World Transplant Registry (FAPWTR). Amyloid. 2011; 18 (Suppl 1): 193–195.

3. Соловьев К. В., Грудина Н.А., Семернин Е.Н. и соавт. Мутации V30M, H90N и del9 в гене транстиретина у больных с кардиомиопатиями в Санкт-Петербурге. Генетика. 2011; 47 (2): 1–7.

Информация об авторах

Гудкова Александра Яковлевна — доктор медицинских наук, заведующая лабораторией кардиомиопатий Института сердечно-сосудистых заболеваний ГБОУ ВПО «ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова», профессор кафедры факультетской терапии ГБОУ ВПО «ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова», ведущий научный сотрудник Института молекулярной биологии и генетики ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России;

Семернин Евгений Николаевич — кандидат медицинских наук, руководитель отдела НИО инфильтративных заболеваний сердца Института молекулярной биологии и генетики ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России;

Полякова Анжелика Александровна — младший научный сотрудник лаборатории кардиомиопатий Института сердечно-сосудистых заболеваний ГБОУ ВПО «ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова», старший научный сотрудник НИО инфильтративных заболеваний сердца Института молекулярной биологии и генетики ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России;

Крутиков Александр Николаевич — кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник НИО инфильтративных заболеваний сердца Института молекулярной биологии и генетики ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России;

Соловьев Кирилл Владимирович — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики ФГБНУ «Институт эксперимен-

тальной медицины»;

Грудинина Наталья Андреевна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», старший научный сотрудник НИО инфильтративных заболеваний сердца Института молекулярной биологии и генетики ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России;

Шавловский Михаил Михайлович — доктор медицинских наук, руководитель лаборатории молекулярной генетики человека ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», профессор кафедры молекулярной генетики СЗГМУ им. И.И. Мечникова.

Author information

Aleksandra Ya. Gudkova, MD, Head, Laboratory of cardiomyopathies, Institute of cardiovascular diseases at Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Professor, Department of faculty at Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, senior research fellow, Institute of molecular biology and genetics, Federal Almazov North-West Medical Research Centre;

Eugene N. Semernin, PhD, Head of Laboratory of infiltrative heart diseases, Institute of molecular biology and genetics, Federal Almazov North-West Medical Research Centre;

Anzhelika A. Polyakova, Junior Researcher, Laboratory of cardiomyopathy, Institute of cardiovascular diseases Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, senior researcher of laboratory of infiltrative heart diseases, Institute of molecular biology and genetics, Federal Almazov North-West Medical Research Centre;

Aleksandr N. Krutikov, PhD, Leading Researcher, Laboratory of infiltrative heart diseases, Institute of molecular biology and genetics, Federal Almazov North-West Medical Research Centre

Kirill V. Solovyov, candidate of biological sciences, senior researcher of the laboratory of molecular genetics of Scientific Research Institute of Experimental Medicine RAMS;

Natalia A. Grudinina, candidate of biological sciences, Senior Researcher, Laboratory of molecular genetics of Scientific Research Institute of Experimental Medicine RAMS; Senior Researcher, Institute of molecular biology and genetics, Federal Almazov North-West Medical Research Centre

M. M. Shavlovsky, MD, Head of the laboratory of human molecular genetics Russian Academy of Sciences Institute of experimental medicine, Professor of molecular genetics in North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov