

СПЕКТР НЕПАТОГЕННЫХ ВАРИАНТОВ В ГЕНЕ ТАЙТИНА И ГЕНАХ ВНУТРИ- И ВНЕСАРКОМЕРНОГО ЦИТОСКЕЛЕТА (TTN, MYBPC3, FLNC, RBM20) У ПАЦИЕНТОВ С РАЗЛИЧНЫМИ ВАРИАНТАМИ КАРДИОМИОПАТИЙ

Вахрушев Ю. А., Муравьев А. С., Козырева А. А., Жук С. В.,
Ротарь О. П., Костарева А. А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр имени
В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской
Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Вахрушев Юрий Алексеевич,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
E-mail: thevakh@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 28.04.2022
и принята к печати 07.06.2022.

Резюме

Актуальность. Гены белков саркомера, такие как MYBPC3, FLNC, TTN, RBM20, ассоциированы с развитием кардиомиопатий (КМП). Большое количество редких генетических вариантов затрудняет интерпретацию генетических исследований и оценку степени патогенности выявленных вариантов. Последнее осложняется отсутствием единой информационной базы с данными по частоте редких вариантов в условно здоровой российской популяции. Полиморфизмы в данных генах зачастую выступают в качестве модификаторов, отягощая клиническое течение КМП, обусловленных мутациями в других генах. **Цель.** Сравнить частоту редких (менее 0,1 %) миссенс- и укорачивающих вариантов в генах TTN, FLNC, MYBPC3, RBM20 в группе пациентов с КМП и в общей популяции. **Материалы и методы.** В группу КМП включен 251 пациент. В контрольную группу включены 192 мужчины (из исследования ЭССЕ-РФ). Было выполнено молекулярно-генетическое обследование при помощи технологии высокопроцессивного секвенирования с последующей верификацией выявленных генетических вариантов секвенированием по Сэнгеру. **Результаты.** Частота укорачивающих вариантов в генах TTN, FLNC, MYBPC3, RBM20 в группе больных КМП составила 7,17 %, а миссенс-вариантов — 56,6 %. 1,5 % из них являлись патогенными, 10 % — вероятно патогенными, 39,5 % — вариантами неопределенной значимости, 31 % — вероятно доброкачественными и 18 % — доброкачественными. Частота укорачивающих вариантов в генах TTN, FLNC, MYBPC3, RBM20 в контрольной группе составила 0,52 %, а миссенс-вариантов — 15,1 %. 38 % из них являлись вариантами неопределенной значимости, 58,6 % — вероятно доброкачественными и 3,4 % — доброкачественными. **Заключение.** Выявлена повышенная частота миссенс- и укорачивающих вариантов с частотой менее 0,1 % в генах TTN, FLNC, MYBPC3, RBM20 в группе пациентов с различными видами КМП.

Ключевые слова: высокопроцессивное секвенирование, кардиомиопатии, миозин-связывающий белок С, RBM20, тайтин, филламин С.

Для цитирования: Вахрушев Ю.А., Муравьев А.С., Козырева А.А., Жук С.В., Ротарь О.П., Костарева А.А. Спектр непатогенных вариантов в гене тайтина и генах внутри- и внесаркомерного цитоскелета (TTN, MYBPC3, FLNC, RBM20) у пациентов с различными вариантами кардиомиопатий. Трансляционная медицина. 2022;9(2):37-49. DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-2-37-49

SPECTRUM OF NON-PATHOGENIC VARIANTS IN THE TITIN GENE AND GENES OUTSIDE AND INTRA-CARCOMERIC CYTOSKELETON (TTN, MYBPC3, FLNC, RBM20) IN PATIENTS WITH VARIOUS VARIANTS OF CARDIOMYOPATHY

Yuriy A. Vakhrushev, Alexey S. Muravyov, Aleksandra A. Kozyreva, Sergey V. Zhuk, Oksana P. Rotar', Anna A. Kostareva

Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:

Yuriy A. Vakhrushev,
Almazov National Medical Research Centre,
Akkuratova str., 2, Saint Petersburg, Russia,
197341.
E-mail: vakhrushev_yua@almazovcentre.ru

Received 28 April 2022; accepted 07 June 2022.

Abstract

Background. Sarcomere protein genes such as *MYBPC3*, *FLNC*, *TTN*, *RBM20* are associated with cardiomyopathies (CMP). A large number of rare genetic variants complicates the interpretation genetic studies and assessing the pathogenicity. Moreover, there is a lack of an information about rare variants frequency in a healthy Russian population. Polymorphisms in these genes often act as modifiers, aggravating the clinical course of CMP caused by mutations in other genes. **Objective.** To compare the frequency of rare (less than 0.1 %) missense and truncating variants in the *TTN*, *FLNC*, *MYBPC3*, *RBM20* genes in the patients with CMP and in the general population. **Design and methods.** The CMP group included 251 patients. The control group included 192 men (from the ESSE-RF study). A molecular genetic examination was performed using high-processive sequencing technology, followed by verification by Sanger sequencing. **Results.** The frequency of truncating variants in the genes *TTN*, *FLNC*, *MYBPC3*, *RBM20* in the group with CMP was 7.17 %, and missense variants — 56.6 %: 11.5 % were pathogenic/likely pathogenic, 39.5 % — variants of uncertain significance, 49 % — probably benign/benign. The frequency of truncating variants in the *TTN*, *FLNC*, *MYBPC3*, *RBM20* genes in the control group was 0.52 %, and the frequency of missense variants was 15.1 %: 38 % were variants of uncertain significance, 62 % — probably benign/benign. **Conclusion.** Frequency of missense and truncating variants with a frequency of less than 0.1 % in the *TTN*, *FLNC*, *MYBPC3*, *RBM20* genes was increased in the group of patients with CMP.

Key words: cardiomyopathy, filamin C, myosin binding protein C, next generation sequencing, RBM20, titin.

For citation: Vakhrushev YuA, Muravyov AS, Kozyreva AA, Zhuk SV, Rotar' OP, Kostareva AA. Spectrum of non-pathogenic variants in the titin gene and genes outside and intra-carcomeric cytoskeleton (TTN, MYBPC3, FLNC, RBM20) in patients with various variants of cardiomyopathy. Translyatsionnaya meditsina=Translational Medicine. 2022;9(2):37-49. (In Russ.) DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-2-37-49

Список сокращений: ГКМП — гипертрофическая кардиомиопатия, ДКМП — дилатационная кардиомиопатия, ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота, КМП — кардиомиопатия, НМЛЖ — некомпактный миокард левого желудочка, РКМП — рестриктивная кардиомиопатия, ХСН — хроническая сердечная недостаточность, ACMG — Американский колледж медицинской генетики и геномики.

Введение

Кардиомиопатии (КМП) — это гетерогенная группа заболеваний миокарда, ассоциированных с механической и/или электрической дисфункцией, при которых обычно (но не всегда) выявляется неадекватная гипертрофия левого и/или правого желудочка или дилатация вследствие разнообразных причин, часто являющихся генетическими, при этом артериальная гипертензия, ишемическая

болезнь сердца, заболевания перикарда и клапанные пороки должны быть исключены как причина выявленных изменений [1]. Проявления кардиомиопатий могут варьировать от изолированных молекулярных изменений в кардиомиоцитах без выраженной клинической картины до развития фульминантной сердечной недостаточности.

В настоящее время существует два самых распространенных подхода к классификации кардиомиопатий. Первая, классификация Европейской ассоциации кардиологов (2008), разделяет КМП на 5 основных классов: дилатационная (ДКМП), гипертрофическая (ГКМП), рестриктивная (РКМП), аритмогенная (АКМП), и неклассифицируемые, куда входит, в том числе, некомпактный миокард левого желудочка (НМЛЖ). Также в рамках данной классификации КМП разделяются на семейные (генетические) и несемейные (негенетические) с установленным или неустановленным генетическим дефектом. За счет выделения морфофункциональных классов этот подход более клинически ориентирован, более удобен для использования в повседневной клинической практике. Вторая, классификация Американской ассоциации сердца (2006), разделяет данную группу заболеваний на первичные (которые, в свою очередь, делятся на наследственные, приобретенные и смешанные), в этом случае патологический процесс ограничивается сердцем, и вторичные, когда поражение миокарда существует как часть системного патологического процесса.

Диагностика КМП является многокомпонентной, имеет особенности для каждого отдельного вида кардиомиопатии и состоит как из стандартного сбора анамнестических, физикальных данных, так и инструментальных данных (электрокардиография (ЭКГ), суточное мониторирование ЭКГ, эхокардиография (ЭХОКГ), магнитно-резонансная томография (МРТ)) и молекулярно-генетического тестирования.

Согласно последним исследованиям генетического спектра кардиомиопатий, патогенные варианты в генах тайтина, филамина С и миозин-связывающего белка С являются наиболее частыми причинами развития ДКМП, ГКМП и РКМП [2, 3]. Белок RBM20 является фактором сплайсинга для молекулы тайтина, в связи с чем патологические варианты в нем приводят к изменению соотношения различных изоформ тайтина в кардиомиоците, что в свою очередь обуславливает развитие ранних и тяжелых форм КМП [4].

Тайтин является самым крупным белком в организме человека с молекулярной массой от 2,900 до 3,800 кДа, занимая половину всей длины сарко-

мера и связывая тем самым Z-диск и M-линию. Он осуществляет функцию поддержания пассивной жесткости в структуре саркомера за счет наличия иммуноглобулинподобных доменов, способных изменять свою длину при воздействии внешней силы. Одной из важнейших особенностей тайтина является его альтернативный сплайсинг, позволяющий синтезировать три изоформы данной молекулы: N2A, N2B и N2BA. В сердечной мышце экспрессируются две из них (N2B и N2BA), при этом N2B является более короткой и жесткой по сравнению с N2BA. В сердце взрослого здорового человека экспрессируется 30–40 % N2BA и 60–70 % N2B изоформ тайтина. Кроме того, правые отделы сердца экспрессируют большее количество N2BA, чем левые, а предсердия содержат больше N2BA, чем желудочки [5].

Ключевую роль в сплайсинге тайтина играет РНК-связывающая последовательность белка-20 (RBM20), кодируемая одноименным геном. Нарушение работы данного фактора сплайсинга приводит к сдвигу соотношения изоформ в миокарде в сторону более длинной и менее жесткой N2BA, что в свою очередь может способствовать эксцентрическому ремоделированию миокарда с последующим развитием ДКМП. Долгое время считалось, что мутации в гене *RBM20* приводят только к развитию ДКМП, но в 2017 году была доказана связь данного гена с развитием некомпактного миокарда левого желудочка [6]. При этом патогенные варианты в генах *TTN* и *RBM20* ассоциированы с развитием ДКМП в 31 % и 4,8 % всех случаев [7]. Также укорачивающие варианты в гене тайтина (*TTNtv*) являются наиболее частой причиной развития некомпактного левого желудочка [8]. Что касается других типов КМП, то варианты в гене тайтина ассоциированы со всеми из них, однако в значительно меньшей степени. Так, для ГКМП данный показатель составляет всего 1,3–4 % [3], а в случае с рестриктивной и аритмогенной КМП правого желудочка на сегодня доказана связь единичного миссенс-варианта для каждой патологии: p.Tyr16686Cys и p.Thr2896Ile [9].

Ген филамина С (*FLNC*), наряду с геном тайтина (*TTN*), является еще одним геном, ассоциированным со всеми типами КМП. Впервые мутации в гене филамина С были выявлены в качестве причины развития скелетных миопатий в 2005 году [10], и долгое время считалось, что они вызывают только данный тип патологии. Однако спустя несколько лет были проведены исследования, доказывающие влияние мутаций в данном гене на развитие всех типов КМП и подчеркивающие, что около трети пациентов с миопатиями имеют

патологию миокарда [11]. Более того, было доказано, что варианты в гене *FLNC* приводят к развитию КМП при отсутствии скелетно-мышечной патологии [12], а также могут служить причиной развития пролапса митрального клапана с аритмогенным фенотипом [13]. Как и в случае с геном тайтина, частота патогенных вариантов в контрольной популяции довольно высока и составляет около 4 % [14].

Миозин-связывающий белок С (MyBP-C) входит в состав толстых филаментов саркомера, располагаясь в А-диске так называемой С-зоны области перекрытия толстых и тонких нитей саркомера кардиомиоцита. В организме человека представлены три изоформы данного белка: медленная скелетно-мышечная, быстрая скелетно-мышечная и сердечная (сMyBP-C). Последняя экспрессируется исключительно в сердечной мышце и кодируется геном *MYBPC3*. По сравнению со скелетно-мышечными изоформами сMyBP-C содержит дополнительный иммуноглобулинподобный домен и множественные сайты фосфорилирования, необходимые для осуществления функции сигналинга. Мутации в гене *MYBPC3* представляют наиболее частую причину развития ГКМП (40–50 %), при этом большинство известных на сегодня мутаций в данном гене являются укорачивающими, приводя к обрезанию молекулы со стороны карбоксильной группы, захватывая при этом миозин- и тайтин-связывающие сайты. Помимо ГКМП, генетические варианты в *MYBPC3* также способны вызывать и другие формы кардиомиопатий, такие как ДКМП и некомпактный миокард левого желудочка. В 2014 году был проведен ряд мультицентровых исследований пациентов с ДКМП, в результате которых было показано, что мутации в гене *MYBPC3* встречаются примерно в 13 % случаев [15]. Также стоит отметить, что для данного гена характерен дозозависимый эффект, то есть наличие более одного генетического варианта приводит к более тяжелому течению и раннему началу заболевания [16].

В основе патогенеза различных КМП, вызванных укорачивающими мутациями, лежит гаплонедостаточность, которая приводит к тому, что мутантный аллель вовлекается в NMD (nonsense-mediated mRNA decay), а дефектный белок — в аутофаго-лизосомальный путь и убиквитин-протеасомную систему деградации в кардиомиоците [17]. Напротив, в основе патогенеза миссенс-вариантов лежит эффект неблагоприятного внутриклеточного воздействия стабильного мутантного сMyBP-C, нарушающего структуру и функцию саркомера. Также кардиомиоциты, полученные от носителей

мутаций в гене *MYBPC3*, обладают более высокой чувствительностью к ионам кальция по сравнению с контрольной группой [18, 19], что в свою очередь может объяснять диастолическую дисфункцию, без гипертрофии миокарда, встречающуюся у носителей мутаций в данном гене (20). Помимо этого, работа сMyBP-C также регулируется за счет различных посттрансляционных модификаций, таких как фосфорилирование, ацетилирование, карбонилирование, цитруллинирование, S-глутатионирование и S-нитрозилирование. Все они необходимы для осуществления нормальной сердечной деятельности, что можно отметить на примере фосфорилирования различных белков, которое снижается по мере развития ХСН.

Создание метода полногеномного секвенирования позволило в 2010 году впервые провести поиск генетических вариантов, ассоциированных с развитием ХСН. Было найдено два интронных полиморфизма в генах белка теплового шока *B7 (HSPB7)* и белка 4B, содержащего FERM домен (*FRMD4*), достоверно ассоциированных с ХСН [21]. В дальнейшем было идентифицировано еще 27 полиморфизмов, влияющих на возникновение ХСН в таких генах, как *BAG3*, *PITX2*, *SLC25A46* [22]. Таким образом, было доказано влияние вариантов в генах цитоскелета на развитие и клиническое течение ХСН. Первым из вышеперечисленных генов, ассоциация которого с развитием КМП и ХСН была доказана, был тайтин. В 2014 году было доказано влияние укорачивающих вариантов в данном гене на развитие ДКМП и ХСН [23]. Через два года было проведено аналогичное исследование в отношении гена *RBM20*, которое также подтвердило связь с развитием ДКМП и ХСН [24]. В 2017 году Эслингером с соавторами было проведено полногеномное секвенирование пациентов с ДКМП ($n = 2796$) и их сравнение с контрольной группой ($n = 6877$), в результате чего выявились шесть новых полиморфизмов, в том числе в генах тайтина и филамина С, которые были ассоциированы с развитием данной патологии [25]. Для оценки влияния подобных фоновых вариантов на развитие КМП и ХСН в группе пациентов с наследственными заболеваниями миокарда нами были выбраны гены цитоскелета, наиболее активно вовлеченные в процесс сокращения саркомера и ассоциированные с развитием различных типов КМП, а также ген *RBM20*, являющийся фактором сплайсинга для тайтина и ряда других белков цитоскелета.

Для оценки вклада данных фоновых вариантов на развитие КМП с выявленными причинными генетическими дефектами нами было проведено

высокопроцессивное секвенирование вышеперечисленных генов с использованием целевых панелей в группе больных различными типами КМП. В связи с этим целью работы явилось сравнение частоты редких (менее 0,1 %) миссенс- и укорачивающих вариантов в генах *TTN*, *FLNC*, *MYBPC3*, *RBM20* в группе пациентов с КМП и в общей популяции и определение вклада данных вариантов в развитие различных типов КМП.

Материалы и методы

В исследуемую группу пациентов были включены больные с различными видами КМП ($n = 251$). Диагноз дилатационной КМП ($n = 63$) был подтвержден согласно критериям — дилатация и снижение ФВ ЛЖ $< 50 \%$, не объяснимые иными причинами. Рестриктивная КМП ($n = 72$) диагностировалась на основе увеличения объема предсердий при нормальных или уменьшенных размерах полостей желудочков сердца, нарушение диастолической функции левого и/или правого желудочка при ЭХОКГ. Диагноз «гипертрофическая КМП» ($n = 53$) ставился при наличии необъяснимого асимметричного утолщения межжелудочковой перегородки более 15 мм по данным ЭХОКГ. Аритмогенная КМП ($n = 33$) была диагностирована в соответствии с International Task Force Criteria. Некомпактный миокард левого желудочка (НМЛЖ, $n = 30$) диагностирован при помощи критериев Chin, Stollberger при эхокардиографии и критериев Petersen при МРТ.

Все больные были генотипированы методом целевого секвенирования нового поколения с применением панели, содержащей 172 гена, наиболее часто ассоциированных с развитием сердечно-сосудистых патологий. У 193 из них были определены причинные патогенные, вероятно патогенные варианты и варианты неопределенной значимости с высокой вероятностью патогенного эффекта. Поскольку анализ данных по пациентам женского пола крайне затруднен из-за влияния гормонального фона на развитие сердечной недостаточности, то в исследование были включены только мужчины с данной патологией, и, соответственно, контрольная группа была также набрана из мужчин. При этом, согласно международным базам данных, существенные различия в частоте вариантов в данных генах между мужчинами и женщинами отсутствуют.

В контрольную группу включены мужчины Северо-Западного региона ($n = 192$) из исследования ЭССЕ-РФ (Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний и их факторов риска в регионах Российской Федерации), которое является крупнейшим эпидемиологическим исследованием на тер-

ритории России с участием трех федеральных медицинских исследовательских центров, продолжавшимся в течение десяти лет [26]. Все пациенты подписали информированное согласие на проведение необходимых методов обследования, в том числе генетического анализа. Работа была одобрена Этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Выделение ДНК проводилось следующим образом: дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) для генетического исследования была выделена из цельной крови с помощью набора FlexiGene DNA Kit. Для контроля качества выделенной ДНК были использованы электрофорез и спектрофотометрия, а для ее ультразвуковой обработки — система Bioruptor от компании Diagenode. Для приготовления библиотек были получены образцы ДНК размером 150 пар оснований. Оценка качества проводилась при помощи аппарата капиллярного электрофореза высокого разрешения Bioanalyzer 2100. Приготовление библиотек для высокопроцессивного секвенирования осуществлялось с помощью набора Sure Select Target Enrichment System. Было произведено восстановление концов образцов ДНК при помощи T4 и Klenow ДНК-полимеразы и T4 полинуклеотидной киназы и проведена очистка с помощью магнитных частиц AMPure X. На следующем этапе было последовательно осуществлено прикрепление полиА-хвоста и концевых адапторов. По окончании данного этапа оценивалось качество вышеуказанным методом капиллярного электрофореза высокого разрешения. Максимальный уровень пика находился в диапазоне от 225 до 275 пар оснований. Следующий этап состоял из двух параллельных процессов: гибридизации и приготовления магнитных частиц, покрытых стрептавидином. Далее производился захват гибридизованной ДНК магнитными частицами и последующая их отмывка.

Последний этап приготовления библиотек состоял в прикреплении индексов к полученным образцам методом амплификации, их очистке с помощью магнитных частиц и последующей оценке качества и концентрации полученных библиотек. Для создания зондов был использован сервис Agilent Sure Design. Было создано пять групп зондов для генов *TTN*, *FLNC*, *MYBPC3*, *RBM20*. Общее количество зондов составило 7840 штук, общая длина покрытия — 212 742 пар оснований.

Секвенирование выполнялось при помощи прибора Illumina MiSeq. Генетические варианты учитывались при количестве прочтений не менее десяти. Найденные генетические варианты были подтверждены при помощи полуавтоматического

секвенирования по Сэнгеру при помощи прибора Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer.

Результаты

На первом этапе был проведен анализ вариантов в генах *TTN*, *MYBPC3*, *RBM20* и *FLNC* в контрольной группе. При биоинформатическом анализе данных, полученных в результате секвенирования, было выявлено 2069 вариантов в гене *TTN*, 33 варианта в *FLNC*, 6 вариантов в *MYBPC3*, 4 варианта в *RBM20*, в том числе 1114 миссенс-вариантов, 1027 синонимичных вариантов, 64 миссенс-варианта в сайте сплайсинга, 4 синонимичных замены в сайте сплайсинга, 1 вариант со сдвигом рамки считывания, 1 делеция и 1 инсерция без сдвига рамки считывания (табл. 1).

После исключения вариантов с частотой более 0,1 %, для последующего анализа было оставлено 29 миссенс-вариантов, 8 синонимичных вариантов и 1 делеция со сдвигом рамки считывания соответственно. При этом все из вышеуказанных вариантов, за исключением одного синонимичного в гене филамина С, располагались в гене тайтина. Таким образом, частота миссенс-вариантов с частотой менее 0,1 % в контрольной группе составила 15,1 %, а укорачивающих — 0,52 %.

По распределению с точки зрения патогенности 11 из них являлись вариантами неопределенной

значимости, 17 — вероятно доброкачественными и 1 — доброкачественным. Патогенных и вероятно патогенных вариантов в группе контроля выявлено не было.

Найденные миссенс-варианты были также проанализированы на патогенность при помощи различных предиктивных биоинформатических программ, таких как FATHMM, Mutation Taster, SIFT (табл. 2). При этом большинство из них не являлись патогенными или вызывающими повреждение структуры белка.

На втором этапе было проведено секвенирование ДНК пациентов с различными типами КМП, и причинные варианты (патогенные, вероятно патогенные и варианты неопределенной значимости с высокой вероятностью быть ассоциированными с заболеванием) были идентифицированы во множестве различных генов, ассоциированных с КМП. Эти результаты являются предметом отдельных публикаций [27, 28]. В данной работе наше внимание было сфокусировано на фоновых вариантах, найденных в вышеуказанных генах.

При биоинформатическом анализе данных, полученных в результате секвенирования, после исключения вариантов с частотой более 0,1 % был выявлен 271 генетический вариант в гене *TTN*, 4 варианта в *FLNC*, 46 вариантов в *MYBPC3*, 9 ва-

Таблица 1. Распределение вариантов в генах *TTN*, *MYBPC3*, *RBM20* и *FLNC* в контрольной группе

Table 1. Distribution of variants in the *TTN*, *MYBPC3*, *RBM20*, and *FLNC* genes in the control group

Ген	Тип мутации	Общее количество	Количество с частотой менее 0,1 %
FLNC	Миссенс-варианты	2	0
FLNC	Синонимичные варианты	31	1
MYBPC3	Миссенс-варианты	6	0
RBM20	Миссенс-варианты	4	0
TTN	Делеция со сдвигом рамки считывания	1	1
TTN	Делеция без сдвига рамки считывания	1	1
TTN	Инсерция без сдвига рамки считывания	1	0
TTN	Миссенс-варианты	1102	29
TTN	Несинонимичная замена в сплайс-сайте	64	0
TTN	Синонимичная замена в сплайс-сайте	4	0
TTN	Синонимичные варианты	896	7
Итого		2112	39

Таблица 2. Характеристика патогенности миссенс-вариантов в контрольной группе по шкалам FATHMM, Mutation Taster, SIFT

Table 2. Characteristics of the pathogenicity of missense variants in the control group according to the scales FATHMM, Mutation Taster, SIFT

Миссенс-вариант	FATHMM	Mutation Taster	SIFT
2:178713327:T>C	Tolerated (0,6593)	Disease causing, Polymorphism(0,5876)	Tolerated (0,04277)
rs776154251	Tolerated (0,7001)	Disease causing, Polymorphism (0,81)	Tolerated (0,2068)
rs1001215658	No data	No data	No data
rs368321767	Tolerated (0,5435)	Disease causing (0,4195)	Tolerated (0,3325)
rs72650034	Tolerated (0,7025)	Polymorphism (0,08975)	Tolerated (0,3138)
rs202098308	Tolerated (0,6593)	Disease causing (0,4189)	Tolerated (0,2556)
rs55945684	Tolerated (0,6374)	Disease causing (0,4569)	Damaging (0,4819)
rs55945684	Tolerated (0,6374)	Disease causing (0,4569)	Damaging (0,4819)
rs147314430	Tolerated (0,5773)	Disease causing, Polymorphism (0,81)	Damaging (0,4371)
COSV59974869	Tolerated (0,6556)	Disease causing (0,4457)	Tolerated (0,3554)
rs199501185	Tolerated (0,6575)	Disease causing (0,5876)	Damaging (0,5646)
rs879099986	Tolerated (0,4106)	Disease causing, Polymorphism (0,81)	Tolerated (0,08335)
rs183482849	Tolerated (0,731)	Disease causing, Polymorphism (0,81)	Tolerated (0,2031)
rs776534823	Tolerated (0,6409)	Disease causing, Polymorphism (0,3858)	Tolerated (0,2107)
rs72648940	Damaging (0,8164)	Disease causing (0,81)	Damaging (0,6542)
rs72648206	Tolerated (0,5709)	Disease causing (0,4483)	Damaging (0,4504)
rs372304158	Tolerated (0,5435)	Disease causing (0,548)	Tolerated (0,3712)
rs1403788853	Tolerated (0,5594)	Disease causing (0,5293)	Damaging (0,5993)
rs185921345	Tolerated (0,7897)	Disease causing (0,4283)	Damaging (0,7849)
rs201394117	Tolerated (0,6818)	Disease causing, Polymorphism (0,81)	Tolerated (0,1018)
rs367774903	Tolerated (0,6683)	Disease causing (0,5876)	Damaging (0,9125)
2:178613067:G>C	Damaging (0,8615)	Disease causing (0,81)	Damaging (0,9125)
rs370137295	Tolerated (0,7131)	Disease causing (0,5876)	Tolerated, Damaging (0,4278)
rs191549948	Tolerated (0,6073)	Disease causing (0,81)	Damaging (0,9125)
rs1414717534	Tolerated (0,8081)	Disease causing (0,81)	Damaging (0,5013)
rs374394719	Tolerated (0,6409)	Polymorphism (0,08975)	Tolerated(0,1015)
rs371580084	Tolerated (0,7013)	Polymorphism (0,2615)	No data
2:178740121:T>G	Tolerated (0,7489)	Disease causing, Polymorphism (0,81)	Tolerated, Damaging(0,9125)
rs78535378	Tolerated (0,7048)	Polymorphism (0,2305)	Tolerated (0,05061)

Таблица 3. Распределение генетических вариантов в исследуемой группе пациентов с КМП

Table 3. Distribution of genetic variants in the study group of patients with CMP

Ген	Тип мутации	Количество с частотой менее 0,1 %
FLNC	Миссенс-варианты	4
MYBPC3	Миссенс-варианты	40
MYBPC3	Нонсенс-варианты	4
MYBPC3	Делеция со сдвигом рамки считывания	2
RBM20	Миссенс-варианты	9
TTN	Делеция со сдвигом рамки считывания	2
TTN	Нонсенс-варианты	10
TTN	Миссенс-варианты	253
TTN	Несинонимичная замена в сплайс-сайте	3
TTN	Синонимичные варианты	3
Итого		330

риантов в *RBM20*, в том числе 306 миссенс-вариантов, 3 синонимичных варианта, 3 миссенс-варианта в сайте сплайсинга, 14 нонсенс-вариантов, 4 делеции со сдвигом рамки считывания (табл. 3). Таким образом, частота миссенс-вариантов в группе больных КМП составила 56,6 %, а укорачивающих — 7,17 %.

По распределению с точки зрения патогенности 20 из них являлись патогенными, 32 — вероятно патогенными, 124 — вариантами неопределенной значимости, 99 — вероятно доброкачественными и 55 — доброкачественными. Большинство патогенных вариантов составили укорачивающие варианты. Однако даже при сравнении исключительно миссенс-вариантов было выявлено достоверное различие в их патогенности (табл. 4). При сравнении обнаруженных миссенс-вариантов в группе больных КМП с контрольной группой по шкалам FATHMM, Mutation Taster, SIFT достоверных различий выявлено не было (табл. 5, 6, 7). Также было проведено распределение генетических вариантов с учетом типа КМП (табл. 8).

Таким образом, при проведении высокопроцессивного секвенирования нами были определены спектр и частота фоновых вариантов в генах *TTN*, *FLNC*, *MYBPC3*, *RBM20* как в контрольной группе, так и в исследуемой группе пациентов с различными типами КМП, которые наряду с причинными мутациями способствуют фенотипической ре-

ализации ремоделирования миокарда. Также был проведен анализ патогенности полученных вариантов по классификации ACMG, а также по шкалам патогенности, таким как FATHMM, Mutation Taster, SIFT.

Обсуждение

В результате проведения высокопроцессивного секвенирования в двух группах нами было показано, что в общей популяции присутствуют как миссенс- (15,1 %), так и укорачивающие варианты (0,52 %). Эти показатели сопоставимы с данными международных исследований и значительно ниже показателей исследуемой группы больных с различными типами КМП (56,6 % и 7,17 % соответственно). Нами было предположено, что эти фоновые миссенс-варианты могут вносить вклад в развитие и более тяжелое течение как КМП, так и ХСН. На сегодняшний день опубликован ряд исследований, доказывающих влияние фоновых генетических вариантов на развитие КМП. Например, доказано влияние данных непатогенных вариантов на раннее начало и сердечно-сосудистые осложнения при ГКМП [29]. Этот феномен, прежде всего, обусловлен полигенностью и многофакторностью данных заболеваний. В частности, с развитием ДКМП в настоящее время ассоциировано как минимум 120 различных генов [30]. Также на сегодня доказано модифицирующее влияние однонуклеотид-

Таблица 4. Сравнение миссенс-вариантов в исследуемой и контрольной группах по степени патогенности**Table 4. Comparison of missense variants in the study group and control groups according to the degree of pathogenicity**

ACMG Classification	Группа КМП	Контрольная группа	P-value
Benign	55 (18 %)	1 (3,4 %)	< 0,05
Likely benign	95 (31 %)	17 (58,6 %)	
Uncertain significance	121 (39,5 %)	11 (38 %)	
Likely pathogenic	31 (10 %)	0 (0 %)	
Pathogenic	4 (1,5 %)	0 (0 %)	

Таблица 5. Сравнение патогенности миссенс-вариантов пациентов исследуемой группы больных КМП с контрольной группой на основе предиктивного структурного анализа при помощи программного пакета FATHMM**Table 5. Comparison of the pathogenicity of missense variants of patients in the study group of patients with CMP with the control group based on predictive structural analysis using the FATHMM software package**

Pathogenicity Scores	Группа КМП	Контрольная группа	P-value
FATHMM	0,6338	0,6519	> 0,05

Таблица 6. Сравнение патогенности миссенс-вариантов пациентов исследуемой группы больных КМП с контрольной группой на основе предиктивного структурного анализа при помощи программного пакета Mutation Taste**Table 6. Comparison of the pathogenicity of missense variants in patients of the study group of patients with CMP with the control group based on predictive structural analysis using the Mutation Taster software package**

	Группа КМП	Контрольная группа	P-value
Polymorphism	52 (18 %)	4 (14,8 %)	> 0,05
Disease causing, Polymorphism	47 (16,2 %)	7 (25,9 %)	
Disease causing	190 (65,5 %)	16 (59,3 %)	
Disease causing automatic	1 (0,3 %)	0 (0 %)	

ных полиморфизмов на формирование фенотипа множества различных сердечно-сосудистых заболеваний за счет плеiotропного действия генов саркомера, таких как *SCN5A* и *PKP2* [31]. При этом работает и обратный эффект: одновременное наличие нескольких полиморфизмов может

приводить к их сочетанному действию и формированию патологии. Косвенным подтверждением данной теории можно считать результаты полно-экзомных генетических исследований у пациентов с ГКМП и ДКМП, по результатам которых от 40 % до 60 % пациентов с ГКМП и от 15 %

Таблица 7. Сравнение патогенности миссенс-вариантов пациентов исследуемой группы больных КМП с контрольной группой на основе предиктивного структурного анализа при помощи программного пакета SIFT

Table 7. Comparison of the pathogenicity of missense variants of patients in the study group of patients with CMP with the control group based on predictive structural analysis using the SIFT software package

	Группа КМП	Контрольная группа	P-value
Tolerated	106 (37 %)	13 (48,1 %)	> 0,05
Damaging, tolerated	41 (14,3 %)	2 (7,4 %)	
Damaging	140 (48,7 %)	12 (44,5 %)	

Таблица 8. Распределение миссенс-вариантов по степени патогенности с учетом типа КМП

Table 8. Distribution of missense variants according to the degree of pathogenicity, taking into account the type of CMP

	РКМП (n = 80)	НМ (n = 33)	ДКМП (n = 66)	ГКМП (n = 50)	АКМП (n = 23)
Патогенные	0 (0 %)	1 (1,6 %)	2 (3,1 %)	0 (0 %)	1 (2,4 %)
Вероятно патогенные	7 (7,7 %)	5 (7,9 %)	8 (12,3 %)	7 (15,2 %)	4 (9,5 %)
Доброкачественные	13 (14,3 %)	11 (17,5 %)	15 (23,1 %)	10 (21,7 %)	7 (16,7 %)
Вероятно доброкачественные	34 (37,3 %)	16 (25,4 %)	14 (21,5 %)	16 (34,8 %)	15 (35,7 %)
Неопределенной значимости	37 (40,7 %)	30 (47,6 %)	26 (40 %)	13 (28,3 %)	15 (35,7 %)

до 40 % пациентов с ДКМП не имели патогенных вариантов, доказанно ассоциированных с данной патологией [32, 33]. Подобные исследования подтверждают полигенную основу развития КМП, когда нахождения одного патогенного варианта при молекулярно-генетическом обследовании у пациента может быть недостаточно, а проявление фенотипа происходит в результате одновременного сочетанного действия нескольких фоновых генетических факторов. В связи с этим актуальна перспектива более широкого использования генетического обследования не только пациентов с КМП, но и с другими сердечно-сосудистыми патологиями, приводящими к развитию ХСН, для исследования ассоциации генетических вариантов с данными патологиями, а также определения их роли в модуляции тече-

ния заболевания и формировании клинической картины. Так как на формирование КМП и ХСН влияет большое количество генов, необходимо использование широких панелей для генетического исследования либо проведение полноэкзомного секвенирования.

Результатом масштабного применения этих панелей может стать создание базы данных генетических вариантов по изучаемым генам в российской популяции, а также подготовка шкал стратификации риска сердечно-сосудистых заболеваний.

Выводы

1. Частота миссенс- и укорачивающих вариантов с частотой менее 0,1 % в генах *TTN*, *FLNC*, *MYBPC3*, *RBM20* в контрольной группе соответствует данным международных исследований.

Преимущественное большинство выявленных вариантов не ассоциированы со значимым нарушением структуры и функции белка.

2. Частота генетических фоновых вариантов (с частотой менее 0,1 %) в группе пациентов с КМП выше, чем в контрольной группе и в общей популяции, по данным международных исследований. Среди обнаруженных вариантов присутствовали патогенные и вероятно патогенные по классификации ACMG.

3. Выявленные фоновые варианты в генах *TTN*, *FLNC*, *MYBPC3*, *RBM20*, в особенности укорачивающие варианты, наряду с причинными могут вносить вклад в развитие КМП.

Ограничения исследования

В нашем исследовании существует ряд ограничений. Во-первых, не всем пациентам из контрольной группы выполнялось МРТ, соответственно, нельзя полностью исключить наличие у части из них КМП на ранней стадии, а также потенциальную возможность развития данной патологии в будущем. Во-вторых, несомненно, частые и полиморфные варианты в ряде других генов (*BAG4*, *HSPB7* и др.), доказанно ассоциированные с развитием ХСН и ДКМП, которые не входили в нашу работу, также могут вносить вклад в развитие исследуемых патологий. Кроме того, не было проведено детальное генетическое обследование и фенотипирование родственников пациентов, что не позволяет достоверно судить о вкладе выявленных вариантов в развитие заболевания. Несмотря на это, описанный нами феномен более высокой частоты вариантов в генах *TTN*, *FLNC*, *MYBPC3*, *RBM20* заслуживает внимания и может являться основой для проведения более углубленных дальнейших исследований.

Соблюдение этических норм

при проведении исследования

Исследование было выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской декларации. Протокол исследования был одобрен Этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России (протокол № 7-03.2019 от 15 марта 2019 г.). До включения в исследование у всех участников было получено письменное информированное согласие.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Финансирование / Funding

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 20-15-00271. / The work was supported by the grant of the Russian Science Foundation No. 20-15-00271.

Список литературы / References

1. Shlyakhto EV. Cardiology. National guide. Short edition, 2nd ed., Moscow: GEOTAR-Media, p. 816, 2019. In Russian [Шляхто Е.В. Кардиология. Национальное руководство. Краткое издание, 2-е изд. перераб. М.: ГЭОТАР-Медиа. 816 с., 2019].
2. Pugh TJ, Kelly MA, Gowrisankar S, et al. The landscape of genetic variation in dilated cardiomyopathy as surveyed by clinical DNA sequencing. *Genet Med*. 2014; 16(8):601–608. DOI: 10.1038/gim.2013.204.
3. Lopes LR, Zekavati A, Syrris P, et al. Genetic complexity in hypertrophic cardiomyopathy revealed by high-throughput sequencing. *J Med Genet*. 2013; 50(4):228–239. DOI: 10.1136/jmedgenet-2012-101270.
4. Grützner A, Garcia-Manyes S, Kötter S, et al. Modulation of titin-based stiffness by disulfide bonding in the cardiac titin N2-B unique sequence. *Biophys J*. 2009; 97(3):825–834. DOI: 10.1016/j.bpj.2009.05.037.
5. Neagoe C, Opitz CA, Makarenko I, et al. Gigantic variety: expression patterns of titin isoforms in striated muscles and consequences for myofibrillar passive stiffness. *J Muscle Res Cell Motil*. 2003; 24(2-3):175–189. DOI: 10.1023/a:1026053530766.
6. Sedaghat-Hamedani F, Haas J, Zhu F, et al. Clinical genetics and outcome of left ventricular non-compaction cardiomyopathy. *Eur Heart J*. 2017; 38(46):3449–3460. DOI: 10.1093/eurheartj/ehx545.
7. Zhang XL, Xie J, Lan RF, et al. Genetic Basis and Genotype-Phenotype Correlations in Han Chinese Patients with Idiopathic Dilated Cardiomyopathy. *Sci Rep*. 2020; 10(1):2226. DOI: 10.1038/s41598-020-58984-7.
8. Shibayama J, Yuzyuk TN, Cox J, et al. Metabolic remodeling in moderate synchronous versus dyssynchronous pacing-induced heart failure: integrated metabolomics and proteomics study. *PLoS One*. 2015; 10(3):e0118974. DOI: 10.1371/journal.pone.0118974.
9. Peled Y, Gramlich M, Yoskovitz G, et al. Titin mutation in familial restrictive cardiomyopathy. *Int J Cardiol*. 2014; 171(1):24–30. DOI: 10.1016/j.ijcard.2013.11.037.
10. Vorgerd M, van der Ven PF, Bruchertseifer V, et al. A mutation in the dimerization domain of filamin C causes a novel type of autosomal dominant myofibrillar myopathy. *Am J Hum Genet*. 2005; 77(2):297–304. DOI: 10.1086/431959.
11. Fürst DO, Goldfarb LG, Kley RA, et al. Filamin C-related myopathies: pathology and mechanisms. *Acta Neuropathol*. 2013; 125(1):33–46. DOI: 10.1007/s00401-012-1054-9.
12. Brun F, Gigli M, Graw SL, et al. FLNC truncations cause arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *J Med Genet*. 2020; 57(4):254–257. DOI: 10.1136/jmedgenet-2019-106394.
13. Bains S, Tester DJ, Asirvatham SJ, et al. A Novel Truncating Variant in FLNC-Encoded Filamin C May Serve as a Proarrhythmic Genetic Substrate for Arrhythmogenic Bileaflet Mitral Valve Prolapse Syndrome. *Mayo Clin Proc*. 2019; 94(5):906–913. DOI: 10.1016/j.mayocp.2018.11.028.

14. Cui H, Wang J, Zhang C, et al. Mutation profile of FLNC gene and its prognostic relevance in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Mol Genet Genomic Med*. 2018; 6(6):1104–1113. DOI: 10.1002/mgg3.488.
15. Haas J, Frese KS, Peil B, et al. Atlas of the clinical genetics of human dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J*. 2015; 36(18):1123–35a. DOI: 10.1093/eurheartj/ehu301.
16. Morita H, Rehm HL, Menesses A, et al. Shared genetic causes of cardiac hypertrophy in children and adults. *N Engl J Med*. 2008; 358(18):1899–908. DOI: 10.1056/NEJMoa075463.
17. Schlossarek S, Mearini G, Carrier L. Cardiac myosin-binding protein C in hypertrophic cardiomyopathy: mechanisms and therapeutic opportunities. *J Mol Cell Cardiol*. 2011; 50(4):613–620. DOI: 10.1016/j.jmcc.2011.01.014.
18. van Dijk SJ, Dooijes D, dos Remedios C, et al. Cardiac myosin-binding protein C mutations and hypertrophic cardiomyopathy: haploinsufficiency, deranged phosphorylation, and cardiomyocyte dysfunction. *Circulation*. 2009; 119(11):1473–1483. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.838672.
19. van Dijk SJ, Paalberends ER, Najafi A, et al. Contractile dysfunction irrespective of the mutant protein in human hypertrophic cardiomyopathy with normal systolic function. *Circ Heart Fail*. 2012; 5(1):36–46. DOI: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.111.963702.
20. Michels M, Soliman OI, Kofflard MJ, et al. Diastolic abnormalities as the first feature of hypertrophic cardiomyopathy in Dutch myosin-binding protein C founder mutations. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2009; 2(1):58–64. DOI: 10.1016/j.jcmg.2008.08.003.
21. Cappola TP, Li M, He J, et al. Common variants in HSPB7 and FRMD4B associated with advanced heart failure. *Circ Cardiovasc Genet*. 2010; 3(2):147–154. DOI: 10.1161/CIRCGENETICS.109.898395.
22. Reza N, Owens AT. Advances in the Genetics and Genomics of Heart Failure. *Curr Cardiol Rep*. 2020; 22(11):132. DOI: 10.1007/s11886-020-01385-z.
23. Haggerty CM, Damrauer SM, Levin MG, et al. Genomics-First Evaluation of Heart Disease Associated With Titin-Truncating Variants. *Circulation*. 2019; 140(1):42–54. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.119.039573.
24. Ma J, Lu L, Guo W, et al. Emerging Role for RBM20 and its Splicing Substrates in Cardiac Function and Heart Failure. *Curr Pharm Des*. 2016; 22(31):4744–4751. DOI: 10.2174/1381612822666160701145322.
25. Esslinger U, Garnier S, Korniat A, et al. Exome-wide association study reveals novel susceptibility genes to sporadic dilated cardiomyopathy. *PLoS One*. 2017; 12(3):e0172995. DOI: 10.1371/journal.pone.0172995.
26. Scientific and organizing committee of the ESSE-RF project. Epidemiology of cardiovascular diseases in different regions of Russia (esse-rf). The rationale for and design of the study. *Profilakticheskaya Meditsina*. 2013; 16(6):25–34. In Russian [Научно-организационный комитет проекта ЭССЕ-РФ. Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний в различных регионах России (ЭССЕ-РФ). Обоснование и дизайн исследования. Профилактическая медицина. 2013; 16(6):25–34.]
27. Kostareva A, Kiselev A, Gudkova A, et al. Genetic Spectrum of Idiopathic Restrictive Cardiomyopathy Uncovered by Next-Generation Sequencing. *PLoS One*. 2016; 11(9):e0163362. DOI: 10.1371/journal.pone.0163362.
28. Vakhrushev YuA, Vershinina TI, Fedotov PA, et al. Left ventricular noncompaction associated with titin-truncating variants in the TTN gene. *Russian Journal of Cardiology*. 2020; 25(10):4027. In Russian [Вахрушев Ю.А., Вершинина Т.И., Федотов П.А. и др. Некомпактный миокард левого желудочка, ассоциированный с укорачивающими вариантами в гене тайтина (TTN). Российский кардиологический журнал. 2020; 25(10):4027] DOI: 10.15829/1560-4071-2020-4027.
29. Burns C, Bagnall RD, Lam L, et al. Multiple Gene Variants in Hypertrophic Cardiomyopathy in the Era of Next-Generation Sequencing. *Circ Cardiovasc Genet*. 2017; 10(4):e001666. DOI: 10.1161/CIRCGENETICS.116.001666.
30. McNally EM, Mestroni L. Dilated Cardiomyopathy: Genetic Determinants and Mechanisms. *Circ Res*. 2017; 121(7):731–748. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.309396.
31. Cerrone M, Remme CA, Tadros R, et al. Beyond the One Gene-One Disease Paradigm: Complex Genetics and Pleiotropy in Inheritable Cardiac Disorders. *Circulation*. 2019; 140(7):595–610. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.035954.
32. Authors/Task Force members, Elliott PM, Anastakis A, et al. 2014 ESC Guidelines on diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy: the Task Force for the Diagnosis and Management of Hypertrophic Cardiomyopathy of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2014; 35(39):2733–2779. DOI: 10.1093/eurheartj/ehu284.
33. Weintraub RG, Semsarian C, Macdonald P. Dilated cardiomyopathy. *Lancet*. 2017; 390(10092):400–414. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)31713-5.

Информация об авторах:

Вахрушев Юрий Алексеевич, ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики и генетики ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Муравьев Алексей Сергеевич, лаборант-исследователь НИЛ молекулярного и клеточного моделирования и генной терапии НЦМУ «Центр персонализированной медицины», клинический ординатор кафедры детских болезней Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Козырева Александра Анатольевна, к.б.н., старший научный сотрудник Института молекулярной биологии и генетики ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Жук Сергей Владимирович, младший научный сотрудник НИЛ молекулярного и клеточного моделирования и генной терапии НЦМУ «Центр персонализированной медицины», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Ротарь Оксана Петровна, к.м.н., заведующий НИЛ эпидемиологии артериальной гипертензии ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Костарева Анна Александровна, д.м.н., директор Института молекулярной биологии и генетики ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Author information:

Yuriy A. Vakhrushev, assistant of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics and Genetics, Almazov National Research Centre;

Aleksey S. Muravyov, laboratory researcher at the Research Laboratory of Molecular and Cellular Modeling and Gene Therapy, World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Clinical Resident of the Department of Children's Diseases of the Institute of Medical Education, Almazov National Medical Research Centre;

Alexandra A. Kozyreva, Ph.D., Senior Researcher, Institute of Molecular Biology and Genetics, Almazov National Medical Research Centre;

Sergey V. Zhuk, Junior Researcher, Research Laboratory for Molecular and Cellular Modeling and Gene Therapy, World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Almazov National Medical Research Centre;

Oksana P. Rotar', Ph.D., Head of the Research Laboratory for the Epidemiology of Arterial Hypertension, Almazov National Medical Research Centre;

Anna A. Kostareva, Doctor of Medical Sciences, Director of the Institute of Molecular Biology and Genetics, Almazov National Medical Research Centre.