

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ АМИЛОИДНОГО ПОРАЖЕНИЯ МИОКАРДА: НЕ ТОЛЬКО ATTR И AL. КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Андреева С. Е.¹, Снетков П. П.², Вахрушев Ю. А.¹, Пьянков И. А.²,
Язневич О. О.¹, Борцова М. А.¹, Морозкина С. Н.², Каява А. В.³,
Костарева А. А.¹, Успенская М. В.²

Контактная информация:

Костарева Анна Александровна,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
E-mail: anna.kostareva@ki.se

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр имени
В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской
Федерации, Санкт-Петербург, Россия

² Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования «Национальный
исследовательский университет ИТМО», Санкт-Петербург, Россия

³ Исследовательский центр клеточной биологии Монпелье,
Монпелье, Франция

Статья поступила в редакцию 07.11.2022
и принята к печати 12.12.2022.

Резюме

Нарушение работы системы протеостаза и накопление конформационно-измененных белков в миокарде — одна из новых концепций патогенеза хронической сердечной недостаточности (ХСН). Мы предположили, что помимо хорошо изученных форм транстиретинового (ATTR) и AL-амилоидоза, у ряда пациентов может развиваться амилоидное поражение миокарда из ранее не описанных амилоидных предшественников, в связи с нарушением фолдинга структурных белков миокарда. Мы приводим описание клинического случая пациента с гипертрофическим и рестриктивным фенотипом кардиомиопатии, клиникой бивентрикулярной сердечной недостаточности, потребовавшей решения вопроса о трансплантации сердца, у которого были исключены известные формы амилоидоза.

По данным генетического тестирования у пациента была выявлена протяженная делеция в гене гигантского протеина тайтина (*TTN*). С помощью методов биоинформатического анализа и молекулярного моделирования мы показываем, как данная мутация потенциально могла привести к разворачиванию соответствующего ему белка и открытию мотивов, склонных к агрегации, для межмолекулярных взаимодействий и, таким образом, придать данному протеину амилоидогенные свойства.

Полученные результаты позволяют более детально расшифровать молекулярный патогенез ХСН на фоне кардиомиопатий и послужить планированию дальнейших исследований с целью индивидуального профилирования рисков при различных формах амилоидоза и разработки более персонализированного лечения таких пациентов в будущем.

Ключевые слова: амилоид, биоинформатический анализ, миокард, молекулярное моделирование, протеостаз, тайтин, хроническая сердечная недостаточность, *TTN*.

Для цитирования: Андреева С.Е., Снетков П.П., Вахрушев Ю.А., Пьянков И.А., Язневич О.О., Борцова М.А., Морозкина С.Н., Каява А.В., Костарева А.А., Успенская М.В. Молекулярные основы амилоидного поражения миокарда: не только ATTR и AL. Клинический случай. Трансляционная медицина. 2022;9(6):26-35. DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-6-26-35

MOLECULAR BASIS OF AMYLOID DEPOSITION IN MYOCARDIUM: NOT ONLY ATTR AND AL. CASE REPORT

Sofiya E. Andreeva¹, Petr P. Snetkov², Yurii A. Vakhrushev¹,
Ivan A. Piankov², Oksana O. Yaznevich², Mariya A. Bortsova¹,
Svetlana N. Morozkina², Andrey V. Kajava³, Anna A. Kostareva¹,
Mayya V. Uspenskaya²

Corresponding author:

Anna A. Kostareva,
Almazov National Medical Research Centre,
Akkuratova str., 2, Saint Petersburg, Russia,
197341.
E-mail: anna.kostareva@ki.se

¹ Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

² ITMO University, Saint Petersburg, Russia

³ Montpellier Cell Biology Research Center, Montpellier, France

Received 07 November 2022; accepted
12 December 2022.

Abstract

Alterations in the proteostasis network and accumulation of misfolded protein aggregates — is one of the new pathogenesis concepts of chronic heart failure. We hypothesis in addition to well-known transthyretin (ATTR) and AL-amyloidosis some patients may represent amyloid lesion in myocardium came from undescribed amyloidogenic precursors due to misfolding of myocardial structural proteins.

Here, we report on the case of patient with hypertrophic and restrictive phenotype of cardiomyopathy, biventricular heart failure, considered for heart transplant, and excluded known types of amyloidosis. Genetic testing revealed extended deletion in the gene of giant protein titin (*TTN*).

We present with the use of bioinformatic analysis and molecular modeling how this mutation could lead to unfolding of corresponding protein and open its amyloidogenic motifs for intermolecular interactions, therefore, provide amyloidogenic ability. This data enables in more detail to decipher the pathogenesis of chronic heart failure on the background of cardiomyopathy, planning further studies for development of personalized risk profiling in different types of amyloidosis and elaborate more personalized treatment approach for such patients in the future.

Key words: amyloid, bioinformatic analysis, chronic heart failure, molecular modeling, myocardium, proteostasis, titin, *TTN*.

For citation: Andreeva SE, Snetkov PP, Vakhrushev YuA, Piankov IA, Yaznevich OO, Bortsova MA, Morozkina SN, Kajava AV, Kostareva AA, Uspenskaya MV. Molecular basis of amyloid deposition in myocardium: not only ATTR and AL. Case report. *Translyatsionnaya meditsina=Translational Medicine*. 2022; 9(6):26-35. (In Russ.) DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-6-26-35

Список сокращений: ЛГ — легочная гипертензия, ЛЖ — левый желудочек, ФВ — фракция выброса, ХСН — хроническая сердечная недостаточность, ХСНсФВ — хроническая сердечная недостаточность с сохранной фракцией выброса, ЭхоКГ — эхокардиография, ATTR — транстиретиновый амилоидоз, ATTRmut — транстиретиновый амилоидоз вследствие мутации в гене транстиретина, ATTRwt — транстиретиновый амилоидоз «дикого» типа.

Введение

Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) остается одной из ведущих причин смерти в мире [1]. Согласно существующим моделям, она представляет растущую угрозу для здравоохранения будущего, преимущественно за счет когорты пожилых пациентов с сохранной фракцией выброса (ХСНсФВ) [1, 2]. Несмотря на значительные достижения в лечении ХСН в последние годы, для ХСНсФВ существует меньше

препаратов, влияющих на прогноз, что во многом связывают с большой гетерогенностью когорты ХСНсФВ в плане этиологии [1]. Относительно недавно ХСН и, в особенности, ХСНсФВ и основные предрасполагающие к ней факторы — старение, гипертензия, ожирение, сахарный диабет 2 типа — были ассоциированы с нарушениями в протеостазе и накоплением конформационно-измененных белков [3–5].

Одним из ярких примеров данного патогенетического механизма является амилоидное поражение сердца [1]. Точная его распространенность неизвестна, однако, по данным одного исследования, амилоидное поражение выявлялось у 14 % пациентов с сохранной фракцией выброса после эндомикардиальной биопсии [6]. В основе амилоидоза сердца лежит отложение нерастворимых макромолекулярных белковых масс, которые, образовавшись, не могут быть утилизированы системами протеостаза и белковой деградации. Находясь в интерстициальном пространстве миокарда или внутри самих кардиомиоцитов, такие массы нарушают механические свойства ткани, внутриклеточный гомеостаз, эластичность и сократимость, неблагоприятно влияют на процесс механотрансдукции и компенсаторной гипертрофии. Это ведет к формированию различных фенотипов кардиомиопатий — наиболее часто гипертрофической и рестриктивной, — что сопровождается развитием сначала диастолической, а на поздних стадиях и систолической дисфункции и сердечной недостаточности [3, 4, 7–9]. Инфильтрация проводящей системы приводит к блокадам проведения и фибрилляции предсердий, которая возникает практически у всех пациентов с амилоидозом сердца и ассоциирована с внутрисердечным тромбозом [9].

Отложения, возникающие в процессе амилоидоза, состоят из фибрилл, которые обычно образуются белками с длинными (более 30 остатков) участками с неструктурированной конформацией либо нестабильными и неправильно свернутыми третичными структурами [10]. Несмотря на разнообразие известных амилоидных предшественников, все они в итоге образуют базовый мотив в виде β -складчатого слоя [11]. Последний формирует характерные жесткие, неразветвленные, линейные фибриллы диаметром около 6–12 нм [11–13]. β -складчатые слои формируют β -арки, в которых слои взаимодействуют друг с другом по типу «стерической молнии», подобной молнии-застежке, что придает исключительную стабильность всей амилоидной фибрилле и обуславливает ее способность к самосборке [11, 12].

Вышеописанный механизм развития амилоидоза в принципе является универсальным и лежит в основе многих вариантов амилоидного поражения различных систем и органов, а также близок по молекулярному механизму ко многим заболеваниям, ассоциированным с накоплением малорастворимых белковых субстанций и нарушением белкового протеостаза, таким как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, многие формы скелетно-мышечных миопатий [11].

Амилоидогенез зависит от трех базовых факторов: конформационных свойств белка-предшественника амилоида, способности развернутых или структурно нестабильных участков к формированию амилоидных фибрилл и состояния системы протеостаза в организме у конкретного человека. Под протеостазом подразумевается баланс между синтезом, фолдингом белков и своевременным удалением старых, неправильно свернутых и поврежденных протеинов [4]. К основным эффекторным путям системы протеостаза относят направленную аккумуляцию и утилизацию неправильно свернутых белков в эндоплазматическом ретикулуме или в митохондриях, повышение экспрессии белков теплового шока и других шапероновых структур, а также пути деградации — убиквитин-протеасомную систему и аутофагию [3, 14, 15]. Еще одним фактором, определяющим амилоидогенный потенциал белка, являются его природные конформационные свойства, зависимость правильного сворачивания белка от шаперонов, степень испытываемого механического воздействия и эффективность работы систем белковой деградации в микроокружении. Локализация же амилоидных отложений во многом определяется характером формирующихся эпитопов при аномальной агрегации белка и их тропностью к белкам внеклеточного матрикса различных органов и систем [9, 16].

Так, пониженная структурная стабильность, конформационная неустойчивость белка транстиретина — сывороточного переносчика тиреоидных гормонов и ретинола — на фоне возрастного понижения эффективности белков-шаперонов приводит к формированию транстиретинового амилоидоза (ATTR) «дикого» типа (ATTRwt) — формы, которая раньше называлась сенильным амилоидозом [9, 16]. Тропность транстиретина к матриксным белкам, локализующимся, в частности, в миокарде, определяет его преимущественную локализацию в интерстициальном пространстве сердца и паренхиматозных органов и тот факт, что ATTRwt является одной из самых частых причин амилоидного поражения миокар-

да в пожилом возрасте. Еще большей тропностью к миокарду и склонностью к прогрессирующему агрессивному амилоидообразованию обладают мутантные формы транстиретина, что лежит в основе классического не сенильного транстиретинового амилоидоза (ATTRmut), который ранее назывался семейной формой ATTR [9, 17]. Схожий механизм поражения миокарда наблюдается при AL-амилоидозе, обусловленном большой концентрацией сывороточных молекул легких цепей иммуноглобулинов при онкогематологической патологии [18]. Спектр *сывороточных* предшественников амилоида постепенно расширяется, что ведет к описанию новых форм амилоидоза с интерстициальным поражением преимущественно почек и печени (LECT2), органа зрения и нервной системы (гелзолин), легких [19, 20].

Формирование нерастворимых белковых агрегатов может происходить и внутри самой клетки. Так, нарушение внутриклеточной работы системы протеостаза приводит не только к формированию классических амилоидных структур, но и к накоплению белковых масс в виде олигомеров, отдельных фибрилл и аморфных агрегатов [3]. Миофибриллярные миопатии, актинопатия и болезнь накопления миозина являются хорошо известными примерами из этой группы заболеваний [21, 22].

Диагностика амилоидоза сердца включает в себя как неинвазивные методы, такие как электрофорез, иммунофиксация белков крови и мочи, сцинтиграфия сердца с ⁹⁹Tc-DPD, генетическое тестирование (при подозрении на наследственные варианты амилоидоза), так и морфологическое исследование биоптатов различной локализации с окрашиванием в красный цвет Конго и поляризационной микроскопией [23].

Согласно большому числу публикаций по нарушению протеостаза при сердечной недостаточности, количество амилоидных протеинов, ассоциированных с поражением именно сердца, остается неизменным [3–5, 9]. Тем не менее, у ряда пациентов с агрессивным течением кардиомиопатий, положительной морфологической окраской на амилоидоз (Конго красный, Сириус красный), а также данными сцинтиграфии в пользу амилоидного поражения сердца нам не удавалось проверить известные кардиальные формы амилоида (ATTRwt, ATTRmut или AL-амилоидоз), что позволило заподозрить у них накопление амилоидных структур из ранее не описанных амилоидогенных белков-предшественников. Раскрытие молекулярных механизмов амилоидогенеза на примере этих случаев может стать шагом на пути к поиску бо-

лее эффективных терапевтических подходов у таких пациентов и при сердечной недостаточности в целом.

В данной работе представлен пример пациента с рестриктивным фенотипом кардиомиопатии, клиническими признаками подозрительными в отношении амилоидного поражения миокарда и отсутствием данных за известные формы амилоидоза сердца (AL или ATTR). Нашей задачей являлась идентификация новых белков, способных инициировать или усугубить амилоидное поражение миокарда с помощью методов секвенирования нового поколения, а также подходов молекулярного моделирования и биоинформатики, с целью оценки влияния мутаций в идентифицированных белках-кандидатах на предмет участия в амилоидогенезе.

Клинический случай

Мужчина 64 лет поступил в кардиологическое отделение федерального центра с жалобами на чувство нехватки воздуха и давящие боли за грудиной при незначительных физических нагрузках (ходьба на 40–60 метров). Пациент страдал артериальной гипертензией, имел постоянную форму фибрилляции предсердий около 10 лет, а также ишемическую болезнь сердца, которая была подтверждена по результатам стресс-эхокардиографии. Состояние пациента значительно ухудшалось в течение года до обращения, когда стали нарастать признаки прогрессирования сердечной недостаточности по обоим кругам кровообращения вплоть до эпизодов ортопноэ. Сопутствующие заболевания были представлены сахарным диабетом 2-го типа, облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей. Индекс курильщика — 38 пачка/лет.

Электрокардиограмма при поступлении выявила нормосистолическую форму фибрилляции предсердий и снижение вольтажа комплекса QRS во всех отведениях, эпизоды неустойчивой желудочковой тахикардии. По данным эхокардиографии (ЭхоКГ), у пациента была снижена фракция выброса (ФВ) левого желудочка (ЛЖ) по Симпсон до 24 %, миокард левого желудочка был умеренно утолщен, а соотношение размеров камер сердца носило рестриктивный характер: предсердия превышали размеры желудочков (табл. 1). Также имела место легочная гипертензия (ЛГ) умеренной степени и наличие умеренного выпота в полости перикарда. Анализ архива ЭхоКГ показал, что 10 лет назад ФВ ЛЖ была в норме, отмечалась гипертрофия ЛЖ по концентрическому типу с толщиной стенок миокарда до 16 мм,

Таблица 1. Результаты ЭхоКГ пациента с рестриктивным фенотипом кардиомиопатии в возрасте 64 лет

Сокращения: ЗС — задняя стенка левого желудочка, КДО — конечный диастолический объем, КДР — конечный диастолический размер, КСО — конечный систолический объем, КСР — конечный систолический размер, МЖП — межжелудочковая перегородка, УО — ударный объем, TAPSE — систолическая экскурсия кольца трикуспидального клапана.

Table 1. ECHO CG results of a patient with a restrictive cardiomyopathy phenotype at the age of 64 years

Параметры	Описание
Фракция выброса левого желудочка по Simpson, %	24
Левое предсердие	Объем 154 мл, индекс объема 82 мл/м ² Размер 60 мм
Левый желудочек	МЖП 12 мм, ЗС 12 мм КДР 46 мм, КСР 40 мм КДО 93 мл, индекс объема 49 мл/м ² КСО 73 мл, индекс объема 38 мл/м ² УО 20 мл
Индекс массы миокарда левого желудочка, г/м ²	109
Относительная толщина стенок левого желудочка	0,52
Правое предсердие, мм	48*67
Правый желудочек, мм	45
TAPSE, мм	9
Расчетное систолическое давление в легочной артерии	67 мм рт. ст. Нижняя полая вена спадается менее 50 %
Клапанный аппарат	Митральная регургитация 2 степени, трикуспидальная регургитация 2 степени
Расхождение листков перикарда	Максимально до 27 мм

и пациент долгое время трактовался в рамках диагноза ГКМП.

Проведено комплексное обследование, которое исключило возможные причины ухудшения: не выявлено гемодинамически значимого поражения коронарного русла при коронарной ангиографии, данных за текущий или констриктивный перикардит также получено не было. Снижение сократительной способности миокарда на фоне отсутствия дилатации, рубцовых изменений, стенозов коронарных артерий при сохранении умеренной толщины стенок миокарда заставило в качестве дифференциального диагноза исключать первичные генетически обусловленные заболевания миокарда, а также болезни накопления.

В связи с подозрением на амилоидоз сердца (рестриктивный фенотип, выпот в полости перикарда, снижение сократительной способности ми-

окарда при концентрическом ремоделировании) была выполнена магнитно-резонансная томография сердца, которая подтвердила отсутствие значимых рубцовых изменений миокарда и признаков известных болезней накопления.

Мужчина рассматривался в качестве кандидата на включение в лист ожидания трансплантации сердца, однако от данной стратегии было решено воздержаться в связи со множественной сопутствующей патологией и возрастом пациента. Была назначена комплексная терапия ХСН, включая сартаны, антагонисты минерал-кортикоидных рецепторов, бета-адреноблокаторы, ингибиторы натрий-глюкозного котранспортера и петлевые диуретики, на фоне которой через 6 месяцев наблюдалось клиническое улучшение, явления сердечной недостаточности были компенсированы на уровне III функционального класса.

Генетическое исследование, биоинформатический анализ и молекулярное моделирование

Для уточнения молекулярной причины заболевания было выполнено сначала целевое (панель генов, ассоциированных с наследственным поражением миокарда), а в последующем экзомное секвенирование (параллельное экзомное секвенирование на приборе Illumina Nexseq 2000 с исполь-

зованием набора целевых экзомных зондов), проведен анализ выявленных генетических вариантов и дана их оценка в соответствии с действующими рекомендациями ACMG по интерпретации данных о последовательности ДНК человека. Было выявлено несколько генетических вариантов, потенциально ассоциированных с поражением миокарда: патогенный вариант в гене *TTN* (NM_001256850.1:c.69185_69186delCA: p.Leu23062GlnfsTer28)

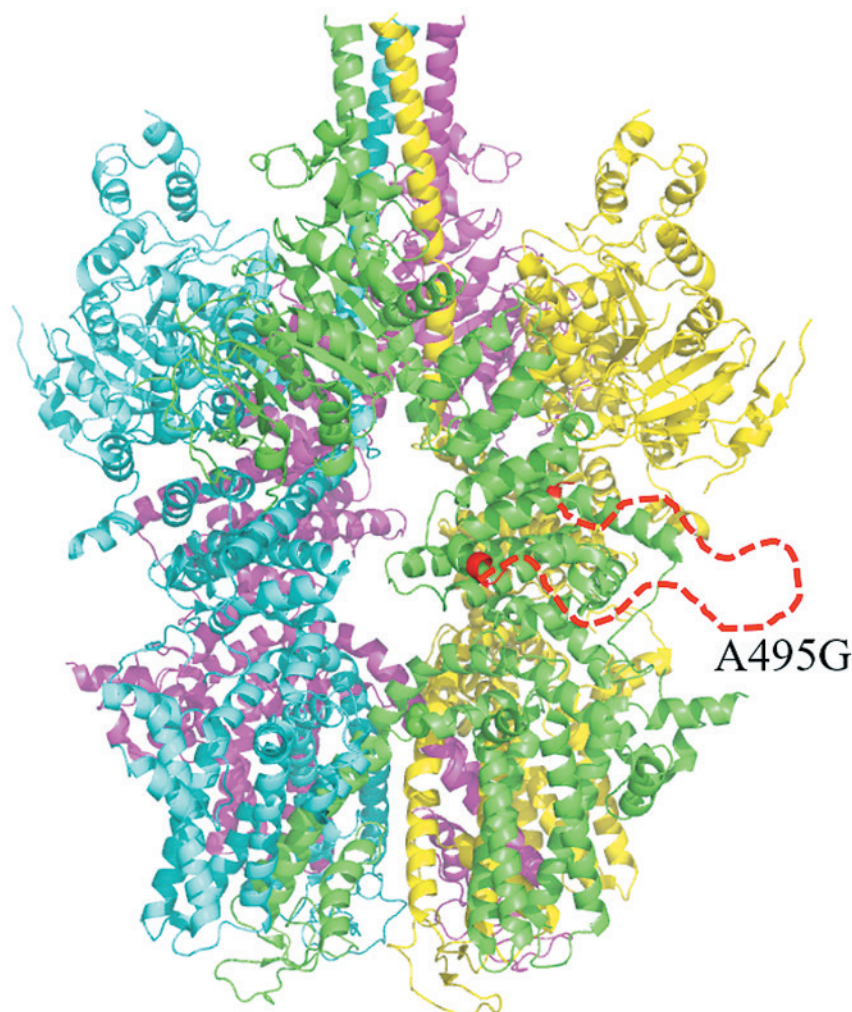


Рис. 1. Трехмерная структура катионного канала временного рецепторного потенциала TRPM4, определенная методом криоэлектронной микроскопии (код PDB 5WP6)

Отдельные субъединицы рецептора окрашены в зеленый, голубой, фиолетовый и желтый цвета. Замена A495G расположена в области, которая не была экспериментально определена в структуре. Эта область имеет гибкую, динамическую конформацию и схематично показана на одном из мономеров канала прерывистой красной линией. Рисунок подготовлен с использованием программы PyMol [31].

Figure 1. Three-dimensional structure of the TRPM4 temporal receptor potential cation channel determined by cryoelectron microscopy (PDB code 5WP6)

The individual subunits of the receptor are colored green, blue, violet, and yellow. The A495G substitution is located in a region that has not been experimentally determined in the structure. This region has a flexible, dynamic conformation and is shown schematically on one of the channel monomers as a dashed red line. The figure was prepared using the PyMol program [31].

и вероятно патогенный вариант в гене *MYH7* (14:23432746-G-A, *MYH7*:p.P132L, COSV62516204), а также вариант неопределенной значимости в гене *TRPM4* (rs756114804). Вариант P132L в гене *MYH7* ранее был ассоциирован с развитием гипертрофической кардиомиопатии и, вероятнее всего, определял у данного пациента развитие гипертрофии миокарда с толщиной стенок 16 мм и фенотип ГКМП на ранних этапах развития заболевания до присоединения систолической дисфункции и признаков рестриктивного ремоделирования. Таким образом, вклад варианта P132L в гене *MYH7* в формирование изначальных признаков заболевания с учетом данных литературы не представлялся сомнительным, однако он не мог полностью объяснить наблюдаемую у пациента динамику развития заболевания.

На следующем этапе нами было проведено сопоставление наблюдаемых аминокислотных замен в белках *TRPM4* и *TTN* с нативными белковыми структурами. В своем анализе влияния мутации на нативные структуры мы использовали банк данных PDB известных 3D-структур [24]. Когда необходимые структуры не были найдены в PDB, они были смоделированы новым методом молекулярного моделирования, AlphaFold (рис. 1 и 2) [25, 26]. Были проведен анализ пространственных структур нативных белков и их сравнение со структурами, содержащими мутации.

Далее нами был проведен биоинформатический анализ аминокислотных последовательностей выбранных белков и их мутантов с целью предсказания амилоидогенности. Для этого анализа использовался недавно разработанный пайплайн TAPASS [27, 28]. Этот пайплайн позволяет

обнаруживать амилоидогенные области, расположенные в неупорядоченных областях белков, что значительно улучшает предсказание образования амилоидов.

Первым был проанализирован вариант *TRPM4* (NM_017636.4):c.1484C>G(p.Ala495Gly) в белке кальций-активируемого неселективного катионного канала TRPM4. Трехмерная структура TRPM4 известна и представляет собой пору, образованную в мембране четырьмя идентичными цепями (рис. 1) [29, 30]. Локализация замены Ala495Gly в 3D-структуре показала, что она расположена в плохо структурированном участке и на периферии поры. Такая мутация не может повлиять на стабильность центральной части (кора) нативной структуры. В то же время, будучи неструктурированным, этот участок белка открыт для межмолекулярных взаимодействий, которые могут привести к агрегации. В целом, замена аланина на маленький глицин может увеличить агрегационный потенциал этой области, однако биоинформатические программы для предсказания амилоидогенности не обнаружили там склонных к агрегации мотивов [28].

На следующем этапе был детально проанализирован вариант *Leu23062GlnfsTer28* в гене *TTN*. Тайтин — самая длинная белковая молекула, состоящая из 26 000–34 000 остатков, и мутация представляет собой большую делецию — примерно половину всего белка [32]. Тайтин состоит из tandemных повторов домена, размером около 100 аминокислотных остатков [32]. Делеция затрагивает несколько полных доменов, образующих tandemные повторы, а также часть одного из доменов, в котором отсутствует существенная часть структуры (рис. 2). Такое изменение может привести к структурной дестаби-

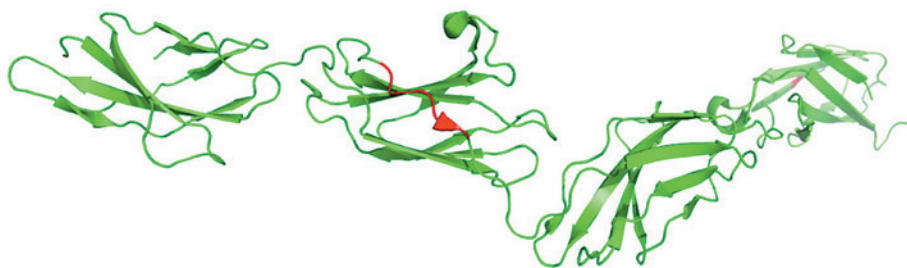


Рис. 2. Структурная модель фрагмента тайтина из четырех повторяющихся доменов

Красным цветом показано начало протяженной делеции в одном из доменов — примерно в положении 15 600 молекулы на 26 000–34 000 остатков. Рисунок подготовлен с использованием программы PyMol [31].

Figure 2. Structural model of a titin fragment of four repeat domains

Red color shows the beginning of an extended deletion in one of the domains — approximately at position 15 600 of the molecule for 26 000–34 000 residues. The figure was prepared using the PyMol program [31].

лизации или полному разворачиванию укороченного домена (рис. 2). Предсказание амилоидогенности укороченного домена продемонстрировало, что в его последовательности есть несколько склонных к агрегации мотивов. В отсутствие делеции эти амилоидогенные участки скрыты внутри 3D-структур доменов. Удаление же части домена может дестабилизировать структуру и открыть мотивы, склонные к агрегации, для межмолекулярных взаимодействий. Все это может привести к нарушению белковой структуры и указывать на непосредственное вовлечение данного белка в формирование внутриклеточных белковых агрегатов, ассоциированных с развитием кардиомиопатий.

Обсуждение

В представленном клиническом случае у пациента пожилого возраста с изначальным диагнозом ГКМП наблюдались клинические признаки, характерные для болезней накопления или амилоидного поражения миокарда, как то: рестриктивный фенотип кардиомиопатии, снижение сократимости миокарда на фоне отсутствия значимых стенозов коронарных артерий и рубцовых изменений в миокарде, низкий вольтаж комплексов QRS. Однако инструментальное, лабораторное и генетическое тестирование не подтвердило у пациента наличия наиболее частых форм амилоидного поражения сердца (ATTRwt, ATTRmut и AL-амилоидоза) [33]. Наличие гипертонической болезни, ишемической болезни сердца, сахарного диабета 2 типа и генерализованного атеросклероза, вероятно, могло способствовать диастолической и систолической дисфункции миокарда у данного пациента, однако не объясняло до конца прогрессирующего течения сердечной недостаточности и формирования систолической дисфункции и рестриктивного ремоделирования на фоне изначальных признаков ГКМП [34]. В связи с этим мы провели поиск молекулярно-генетических причин развития патологии и анализ потенциальной амилоидогенности выявленных вариантов для определения их вклада в прогрессирование заболевания. В результате экзомного секвенирования был обнаружен вариант в гене *MYH7*, характерный для ГКМП, а также варианты в генах *TRPM4* и *TTN*. Вариант в гене *MYH7* наиболее вероятно определял развитие гипертрофии левого желудочка у данного пациента на ранних этапах заболевания, однако его наличие изолированно не могло объяснить развитие систолической дисфункции и низкий вольтаж комплексов QRS на ЭКГ, что заставило провести дополнительный анализ, направленный на выявление потенциальных причин болезней накопления или амилоид-

ного поражения миокарда. Существует несколько причин, по которым мутации могут способствовать образованию белком агрегатов или амилоида. Во-первых, мутации могут изменять сворачивание белка в его нативную структуру [27]. Во-вторых, они могут дестабилизировать нативную трехмерную структуру белка, а развернутые области белка могут открывать свои валентности для межмолекулярных взаимодействий, наблюдаемых в амилоидах [27]. Наконец, мутации могут локально увеличивать амилоидообразующий потенциал белков [27]. Поэтому далее выявленные в генах *TRPM4* и *TTN* варианты были подробно проанализированы биоинформатическими методами на предмет их вовлечения в рассматриваемую кардиомиопатию.

Анализ варианта *TRPM4* не выявил вероятных связей с повышением амилоидогенности соответствующего ему белка. В то же время было продемонстрировано, что делеции, обнаруженные в *TTN*, составляющие практически половину кодируемого им гигантского протеина, могут привести к нарушению фолдинга и агрегации, что может свидетельствовать о непосредственном его участии в образовании внутриклеточных агрегатов, дисфункции кардиомиоцитов и формировании рестриктивного фенотипа кардиомиопатии.

К ограничениям данной работы можно отнести тот факт, что пациенту не было проведено морфологического исследования биоптата миокарда с целью верификации амилоидных отложений, а также сцинтиграфия миокарда с ⁹⁹Tc-DPD. Выдвинутые гипотезы о молекулярном патогенезе требуют дальнейшего экспериментального подтверждения с использованием протеомного анализа и масс-спектрометрии.

Заключение

В представленном клиническом примере продемонстрировано, что установление генетической этиологии заболевания в сочетании с современными методами биоинформатического анализа и молекулярного моделирования позволяют более детально расшифровывать патогенез хронической сердечной недостаточности в сложных клинических случаях. Полученные результаты не только позволяют улучшить понимание возможных молекулярных механизмов образования амилоида анализируемыми белками, но и проводить индивидуальное профилирование рисков для различных форм амилоидоза. Эти знания могут послужить основой для планирования и интерпретации последующих экспериментов, а также выбора эффективной фармацевтической терапии и перехода к персонализированной медицине в будущем.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциально-го конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Благодарности / Acknowledgments

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 21-74-20093). / The work was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation (project No. 21-74-20093).

Список литературы / References

- McDonagh TA, Metra M, Adamo M, et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *Eur Heart J*. 2021;42(36):3599–3726. DOI: 10.1093/eurheartj/ehab368.
- Lippi G, Sanchis-Gomar F. Global epidemiology and future trends of heart failure. *AME Med J*. 2020;5:15. DOI: 10.21037/amj.2020.03.03.
- Gouveia M, Schmidt C, Teixeira M, et al. Characterization of Plasma SDS-Protein Aggregation Profile of Patients with Heart Failure with Preserved Ejection Fraction. *J Cardiovasc Transl Res*. 2022. DOI: 10.1007/s12265-022-10334-w.
- Henning RH, Brundel BJM. Proteostasis in cardiac health and disease. *Nat Rev Cardiol*. 2017;14(11):637–653. DOI: 10.1038/nrcardio.2017.89.
- Ayyadevara S, Mercanti F, Wang X, et al. Age- and Hypertension-Associated Protein Aggregates in Mouse Heart Have Similar Proteomic Profiles. *Hypertension*. 2016;67(5):1006–1013. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.06849.
- Hahn VS, Yanek LR, Vaishnav J, et al. Endomyocardial Biopsy Characterization of Heart Failure With Preserved Ejection Fraction and Prevalence of Cardiac Amyloidosis. *JACC Heart Fail*. 2020;8(9):712–724. DOI: 10.1016/j.jchf.2020.04.007.
- Gouveia M, Xia K, Colón W, et al. Protein aggregation, cardiovascular diseases, and exercise training: Where do we stand? *Ageing Res Rev*. 2017;40:1–10. DOI: 10.1016/j.arr.2017.07.005.
- Predmore JM, Wang P, Davis F, et al. Ubiquitin proteasome dysfunction in human hypertrophic and dilated cardiomyopathies. *Circulation*. 2010;121(8):997–1004. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.904557.
- Rubin J, Maurer MS. Cardiac Amyloidosis: Overlooked, Underappreciated, and Treatable. *Annu Rev Med*. 2020;71:203–219. DOI: 10.1146/annurev-med-052918-020140.
- Baker KR, Rice L. The amyloidoses: clinical features, diagnosis and treatment. *Methodist Deakey Cardiovasc J*. 2012;8(3):3–7. DOI: 10.14797/mdcj-8-3-3.
- Sawaya MR, Hughes MP, Rodriguez JA, et al. The expanding amyloid family: Structure, stability, function, and pathogenesis. *Cell*. 2021;184(19):4857–4873. DOI: 10.1016/j.cell.2021.08.013.
- Kajava AV, Baxa U, Steven AC. Beta arcades: recurring motifs in naturally occurring and disease-related amyloid fibrils. *FASEB J*. 2010;24(5):1311–1319. DOI: 10.1096/fj.09-145979.
- Makin OS, Serpell LC. Structures for amyloid fibrils. *FEBS J*. 2005;272(23):5950–5961. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2005.05025.x.
- Morimoto RI. Cell-Nonautonomous Regulation of Proteostasis in Aging and Disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2020;12(4):a034074. DOI: 10.1101/cshperspect.a034074.
- Klaips CL, Jayaraj GG, Hartl FU. Pathways of cellular proteostasis in aging and disease. *J Cell Biol*. 2018;217(1):51–63. DOI: 10.1083/jcb.201709072.
- Ihne S, Morbach C, Obici L, et al. Amyloidosis in Heart Failure. *Curr Heart Fail Rep*. 2019;16(6):285–303. DOI: 10.1007/s11897-019-00446-x.
- Yamamoto H, Yokochi T. Transthyretin cardiac amyloidosis: an update on diagnosis and treatment. *ESC Heart Fail*. 2019;6(6):1128–1139. DOI: 10.1002/ehf2.12518.
- Blancas-Mejia LM, Misra P, Dick CJ, et al. Immunoglobulin light chain amyloid aggregation. *Chem Commun (Camb)*. 2018;54(76):10664–10674. DOI: 10.1039/c8cc04396e.
- Mann BK, Bhandohal JS, Cobos E, et al. LECT-2 amyloidosis: what do we know? *J Investig Med*. 2022;70(2):348–353. DOI: 10.1136/jim-2021-002149.
- Arias CQ, Martic S. Gelsolin Amyloidosis: aggregation propensities of wild and mutant peptides and their inhibition. *Alzheimer's Dement*. 2021;17(S2):e058332. DOI: 10.1002/alz.058332.
- Olivé M, Abdul-Hussein S, Oldfors A, et al. New cardiac and skeletal protein aggregate myopathy associated with combined MuRF1 and MuRF3 mutations. *Hum Mol Genet*. 2015;24(13):3638–3650. DOI: 10.1093/hmg/ddv108.
- Zaganas I, Mastorodemos V, Spilioti M, et al. Genetic cause of heterogeneous inherited myopathies in a cohort of Greek patients. *Mol Genet Metab Rep*. 2020;25:100682. DOI: 10.1016/j.ymgmr.2020.100682.
- Yilmaz A, Bauersachs J, Bengel F, et al. Diagnosis and treatment of cardiac amyloidosis: position statement of the German Cardiac Society (DGK). *Clin Res Cardiol*. 2021;110(4):479–506. DOI: 10.1007/s00392-020-01799-3.
- Protein Data Bank. <https://www.rcsb.org>
- Jumper J, Evans R, Pritzel A, et al. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*. 2021;596(7873):583–589. DOI: 10.1038/s41586-021-03819-2.
- Mirdita M, Schütze K, Moriwaki Y, et al. ColabFold: making protein folding accessible to all. *Nat Methods*. 2022;19(6):679–682. DOI: 10.1038/s41592-022-01488-1.

27. Falgarone T, Villain É, Guettaf A, et al. TAPASS: Tool for annotation of protein amyloidogenicity in the context of other structural states. *J Struct Biol.* 2022;214(1):107840. DOI: 10.1016/j.jsb.2022.107840.

28. TAPASS — Tool for Annotation of Protein Amyloidogenicity in the context of other Structural States.

<https://bioinfo.crbm.cnrs.fr/index.php?route=tools&tool=32>

29. Winkler PA, Huang Y, Sun W, et al. Electron cryo-microscopy structure of a human TRPM4 channel. *Nature.* 2017;552(7684):200–204. DOI: 10.1038/nature24674.

30. Osmanli Z, Falgarone T, Samadova T, et al. The Difference in Structural States between Canonical Proteins and Their Isoforms Established by Proteome-Wide Bioinformatics Analysis. *Biomolecules.* 2022;12(11):1610. DOI: 10.3390/biom12111610.

31. Schrödinger Technical. The PyMOL Molecular Graphics System.

<https://pymol.org/2/> (2015)

32. Azad A, Poloni G, Sontayananon N, et al. The giant titin: how to evaluate its role in cardiomyopathies. *J Muscle Res Cell Motil.* 2019;40(2):159–167. DOI: 10.1007/s10974-019-09518-w.

33. Garcia-Pavia P, Rapezzi C, Adler Y, et al. Diagnosis and treatment of cardiac amyloidosis: a position statement of the ESC Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J.* 2021;42(16):1554–1568. DOI: 10.1093/eurheartj/ehab072.

34. Yan WF, Gao Y, Zhang Y, et al. Impact of type 2 diabetes mellitus on left ventricular diastolic function in patients with essential hypertension: evaluation by volume-time curve of cardiac magnetic resonance. *Cardiovasc Diabetol.* 2021;20(1):73. DOI: 10.1186/s12933-021-01262-1.

Информация об авторах:

Андреева София Евгеньевна, аспирант кафедры кардиологии, врач-кардиолог, лаборант-исследователь, НЦМУ «Центр персонализированной медицины», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Снетков Петр Петрович, к.т.н., старший инженер, Центр химической инженерии, Университет ИТМО;

Вахрушев Юрий Алексеевич, младший научный сотрудник НИЛ молекулярного и клеточного моделирования и геномной терапии, НЦМУ «Центр персонализированной медицины», ассистент кафедры клинической лабораторной медицины и генетики Института медицинского образования, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Пьянков Иван Алексеевич, аспирант химико-биологического кластера, инженер научно-исследовательского центра биоинженерии, Университет ИТМО;

Язневич Оксана Олеговна, врач-кардиолог кардиологического отделения № 8 ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Борцова Мария Александровна, заведующий кардиологическим отделением № 8 ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Морозкина Светлана Николаевна, к.х.н., доцент центра химической инженерии, ведущий научный сотрудник научно-исследовательского центра биохимической инженерии, Университет ИТМО;

Каява Андрей Вилхович, к.х.н., профессор, руководитель лаборатории структурной биоинформатики и молекулярного моделирования исследовательского центра клеточной биологии Монпелье, Университет Монпелье;

Костарева Анна Александровна, д.м.н., доцент кафедры внутренних болезней Института медицинского образования, директор Института молекулярной биологии и генетики ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Успенская Майя Валерьевна, д.т.н., профессор, директор центра химической инженерии, директор НОЦ «ГПН — ИТМО», руководитель МНИИ «БиоИнженерия», Университет ИТМО.

Author information:

Sofiya E. Andreeva, postgraduate student, cardiologist, research laboratory assistant, World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Almazov National Medical Research Centre;

Petr P. Snetkov, PhD, senior engineer, Center of Chemical Engineering, ITMO University;

Yurii A. Vakhrushev, research assistant, Research Laboratory of Molecular and Cellular Modeling and Gene Therapy, Almazov National Medical Research Centre;

Ivan A. Piankov, PhD student, ChemBio cluster, engineer of International Scientific and Research Institute of Bioengineering, ITMO University;

Oksana O. Yaznevich, cardiologist, Cardiology Department, Almazov National Medical Research Centre;

Mariya A. Bortsova, head of Cardiology Department, Almazov National Medical Research Centre;

Svetlana N. Morozkina, PhD, Associate Professor, leading researcher, Center for Chemical Engineering, ITMO University;

Andrey V. Kajava, PhD, Professor, head of Structural Bioinformatics and Molecular Modeling group, Centre de Recherche de Biochimie Macromoléculaire;

Anna A. Kostareva, D.M.Sc., PhD, Associate Professor, head of the Institute of Molecular Biology and Genetics, Almazov National Medical Research Centre;

Mayya V. Uspenskaya, D.Sc, Professor, Head of Chemical Engineering Center, Head of Gazprom Neft-ITMO Research Center, Head of Research Institute Bioengineering, ITMO University.