

Федеральное медико-биологическое агентство

ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр спортивной медицины и реабилитации Федерального медико-биологического агентства»

ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства»

Говорун В.М., Шарова Е.И.

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ДЛЯ
ВЫЯВЛЕНИЯ ГРУПП ВЫСОКОГО РИСКА ВНЕЗАПНОЙ
СМЕРТИ НА ФОНЕ ИНТЕНСИВНОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ
НАГРУЗКИ (НА ОСНОВАНИИ МИРОВЫХ
СКРИНИНГОВЫХ ПРОТОКОЛОВ)**

Методические рекомендации

Под редакцией проф. В.В. Уйба

Москва 2018

ГРНТИ 76.35.41
УДК 61:796/799

Утверждены Ученым советом ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр спортивной медицины и реабилитации Федерального медико-биологического агентства» и рекомендованы к изданию (протокол № 16 от 29 марта 2018 г.). Введены впервые.

Говорун В.М., Шарова Е.И. Использование генетических маркеров для выявления групп высокого риска внезапной смерти на фоне интенсивной физической нагрузки (на основании мировых скрининговых протоколов). Методические рекомендации. Под ред. проф. В.В. Уйба // М.: ФМБА России, 2018. – 17 с.

Методические рекомендации предназначены для медицинского персонала спортсменов, врачей по спортивной медицине, врачей-специалистов, оказывающих медицинскую помощь спортсменам, а также аспирантов, ординаторов и студентов медицинских вузов и других специалистов, непосредственно участвующих в медицинском и медико-биологическом обеспечении спортсменов.

ГРНТИ 76.35.41
УДК 61:796/799

© Федеральное медико-биологическое агентство, 2018
© ФГБУ ФНКЦСМ ФМБА России, 2018
© ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России, 2018

Настоящие методические рекомендации не могут быть полностью или частично воспроизведены, тиражированы и распространены без разрешения Федерального медико-биологического агентства

СОДЕРЖАНИЕ

| | |
|---|----|
| ВВЕДЕНИЕ..... | 4 |
| ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ | |
| Использование генетических маркеров для выявления групп высокого риска внезапной смерти на фоне интенсивной физической нагрузки (на основании мировых скрининговых протоколов)..... | 8 |
| Приложение А..... | 15 |

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время мнение о генетическом характере большинства причин внезапной сердечной смерти в возрасте до 35 лет на фоне физической нагрузки является общепринятым. И при этом существует проблема высокого уровня ложноположительных диагнозов гипертрофическая кардиомиопатия у спортсменов из-за функциональной гипертрофии миокарда вследствие тренировок. Высокий уровень ложноположительных диагнозов у спортсменов высокого уровня не позволяет использовать данный диагноз для прогноза риска внезапной сердечной смерти. Сочетание известных генетических маркеров внезапной сердечной смерти и зафиксированных функциональными методами патологических изменений миокарда может стать удобным инструментом выявления группы высокого риска среди спортсменов.

Использование панелей генетических маркеров, ориентированных на выявление генетических вариантов, ассоциированных не только с гипертрофической кардиомиопатией, но и с другими сердечными особенностями и синдромами, позволит не только снизить количество ложноположительных диагнозов у спортсменов, но и проводить скрининг детей при поступлении в ДЮСШ.

1. Область применения

Настоящий документ распространяется на использование панелей генетических маркеров для выявления групп высокого риска внезапной смерти на фоне интенсивной физической нагрузки.

Документ определяет принципы выявления групп высокого риска внезапной смерти при кардиомиопатии путем использования панелей генетических маркеров.

Настоящий документ предназначен для применения специалистами научно-исследовательских, лечебно-диагностических и иных организаций, подотчетных ФМБА России, и осуществляющих медико-биологическое сопровождение спортсменов.

Область применения: спортивная медицина, практическое здравоохранение, медико-биологические исследования.

2. Нормативные ссылки

В настоящем документе использованы ссылки на следующие нормативные документы:
ГОСТ Р 52379-2005 «НАДЛЕЖАЩАЯ КЛИНИЧЕСКАЯ ПРАКТИКА».

Примечание. При пользовании настоящим документом целесообразно проверить действие ссылочных документов на территории России по соответствующим информационным указателям, опубликованным в текущем году.

3. Обозначения и сокращения

В настоящем документе применены следующие термины с соответствующими им определениями:

Гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП).

Трансторакальная эхокардиография (ТТЭ).

Дилатационная кардиомиопатия (ДКМ).

Неармирование левого желудочка (LVNC).

Ограничительная кардиомиопатия (RCM).

4. ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП) - это преимущественно аутосомно-доминантное заболевание, характеризующееся гипертрофией (утолщением) стенки левого и/или изредка правого желудочка, диагностируется при необъяснимой гипертрофии в отсутствие других сердечных или системных состояний, вызывающих сравнимую толщину стенки желудочка. При этом меньшая часть случаев не является генетически обусловленной. Гипертрофическая кардиомиопатия встречается с частотой 1/500 в общей популяции.

Диагноз обычно выставляется по результатам неинвазивных обследований - трансторакальной эхокардиографией (ТТЭ) и МРТ сердца. Они обычно обнаруживают асимметричную гипертрофию сердца с диастолической дисфункцией, которая может быть связана с обструкцией оттока и митральной регургитацией из-за аномальной анатомии митрального аппарата. Европейские рекомендации рекомендуют толщину стенки ≥ 15 мм для взрослых и $Z\text{-score} > 2$ для детей, чтобы сохранить диагноз независимо от инструмента, используемого для измерения.

Гипертрофическая кардиомиопатия оставалась идиопатичной в течение более одного столетия с хорошо документированным аутосомно-доминантным режимом наследования. С 1990-х годов в нескольких исследованиях было выявлено более 1500 мутаций, расположенных в более чем 11 генах. Основным гистологическим признаком являются хаотичное расположение миофибрилл, фиброз и признаки «болезни мелких коронарных сосудов».

Большинство мутаций происходит в компонентах гена, кодирующих сердечный саркомер, который является фундаментальной сократительной единицей сердечной мышцы. Микроскопически саркомер ограничивается линиями Z, к которым прикреплены тонкие нити (Рисунок 1). Редко мутации происходят в компонентах Z-диска или белков, управляющих потоками кальция. Гипертрофия также может быть связана со специфическими синдромами, которые имитируют НСМ, но не влияют на саркомер. Соответственно, гипертрофия сердца может быть классифицирована в зависимости от того, участвует ли саркомер или нет. Саркомерные мутации включают компоненты толстой миозиновой нити (MYH7, MYL2, MYL3), промежуточную нить (MYBPC3), тонкую актиновую нить (TNNT2, TNNI3, TNNC1, TPM, ACTC1), Z-диск (ACTN2, MYOZ2) и некоторые белки для управления потоками кальция (junctophilin, phospholamban). Все остальные мутации не являются саркомерными.

Большинство значимых мутаций происходит как замена аминокислоты другой (missense mutations). Эти замены изменяют физические и функциональные свойства белков, включенных

в саркомер, которые могут стимулировать гипертрофию. Реже происходят вставки или делеции нуклеотидов и приводят к мутациям в рамке считывания, которые сильно изменяют трансляцию мРНК и свойства белков. В целом большинство мутаций являются «частными», то есть конкретными для одной семьи. Молекулярные механизмы, приводящие к гипертрофии, пока малоизучены, тем не менее, некоторые пути чаще лежат в основе болезни; они связывают нарушенный биомеханический стресс, нарушают кальциевый цикл и чувствительность к нему, измененный энергетический гомеостаз и повышенный фиброз.

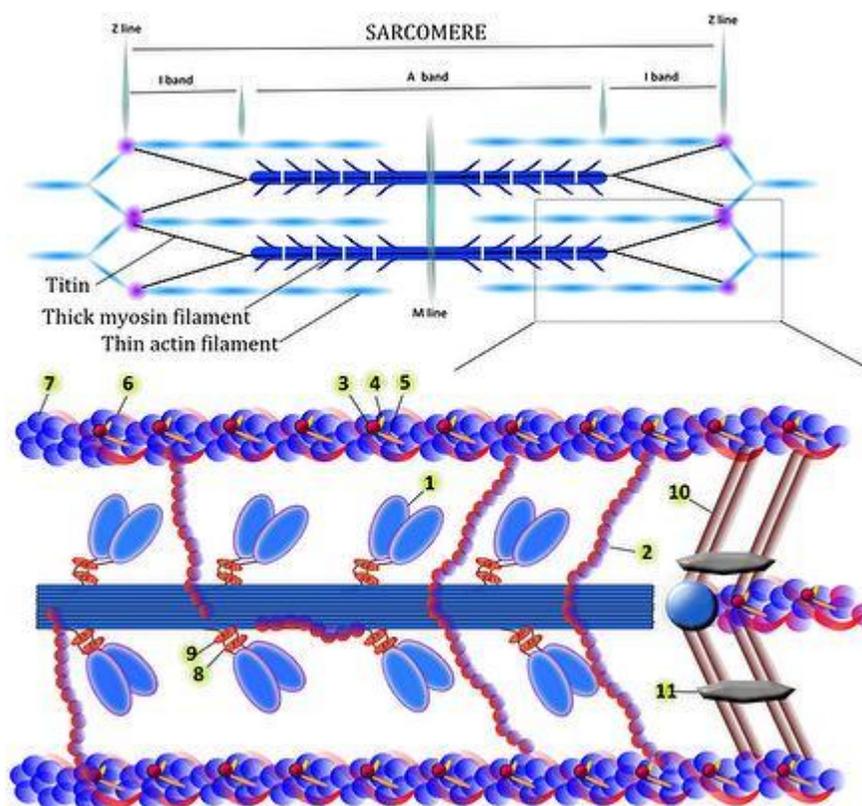


Рисунок 1 – Схематичное строение саркомера с мутациями белков, вызывающих гипертрофическую кардиомиопатию с их частотой

| | | | | | |
|----|-------|---------------------------------|----|--------|----------------------------------|
| 1 | MYH7 | Тяжелая цепь бета миозина (40%) | 2 | MYBPC3 | Миозин связывающий белок 3 (40%) |
| 3 | TNNC2 | Тропонин T2(5%) | 4 | TNN1 | Тропонин 1 (5%) |
| 5 | TNNC1 | Тропонин C1 (редко) | 6 | TPM | Тропомозин (2%) |
| 7 | ACTC | Альфа актин (редко) | 8 | MYL2 | Миозин 2 легкой цепи (редко) |
| 9 | MYL3 | Миозин 3 легкой цепи (1%) | 10 | ACTN2 | Альфа 2 актинин (редко) |
| 11 | MYOZ2 | Миозенин 2 (редко) | | | |

Генетическое тестирование, первоначально выполняемое в исследовательских целях, в настоящее время стало доступно в повседневной практике с момента изобретения секвенирования нового поколения. С тех пор был выявлен широкий диапазон мутаций, патогенность которых трудно подтвердить. В настоящее время установлена патогенность в 11 генах и двух группах мутаций.

А) Установленная патогенность

Патогенность хорошо установлена у 11 генов, среди которых мутации в генах MYH7 и MYBPC3 составляют около 80% установленных мутаций (таблица 1).

Также были выявлены некоторые редкие мутации с более низкими показателями патогенности в генах MYH6: тяжелая цепь миозина, TTN: Titin, CASQ2: Calsequestrin и др.

Таблица 1 - Гены с установленной патогенностью для ГКМП (адаптировано из базы данных HGNC и OMIM)

| Ген | Локус | Название по базе HGNC | Фенотип по OMIM | Ген по OMIM |
|--------|----------|---|-----------------|-------------|
| MYH7 | 14q11.2 | Myosin, heavy chain, cardiac muscle, Beta | CMH1 (192600) | 160760 |
| MYBPC3 | 11p11.2 | Myosin binding protein, cardiac | CMH4 (115197) | 600958 |
| TNNT2 | 1q32.1 | Troponin T type 2 (cardiac) | CMH2 (115195) | 191045 |
| TNNI3 | 19q13.42 | Troponin I, type 3 | CMH3 (613690) | 191044 |
| TPM1 | 15q22.2 | Tropomyosin 1 (α) | CMH 3 (115196) | 191010 |
| MYL2 | 12q24.11 | Myosin, light chain 2, regulatory, cardiac, slow | CMH 10 (608758) | 160781 |
| MYL3 | 3p21.31 | Myosin, light chain 3, alkali, ventricular, skeletal slow | CMH 8 (608751) | 160790 |
| ACTC1 | 15q14 | Actin, alpha, cardiac muscle 1 | CMH 11 (612098) | 102540 |
| ACTN2 | 1q43 | Actinin, α 2 | 612158 | 102573 |
| TNNC1 | 3p21.1 | Troponin C type1 (slow) | CMH 8 (613243) | 191040 |
| MYOZ2 | 4q26 | Myozenin 2 | CMH 16 (613838) | 605602 |

Разнообразие фенотипов в ГКМП является основным результатом его генетического разнообразия. Тем не менее, определенные мутации вместе вызывают основную часть более общих клинических признаков. Это мутации в следующих генах:

MYH7, по-видимому, производит широкие фенотипы с высокой пенетрантностью. В дополнение к гипертрофии может приводить к дилатационной кардиомиопатии (ДКМ), неармированию левого желудочка (LVNC), дистальной миопатии Лэнга и скапулоперониальному синдрому.

MYBPC3, похоже, ассоциируется с более поздним началом легкой гипертрофии и хорошим прогнозом.

TNNT2, несмотря на умеренную гипертрофию, как представляется, чаще вызывает внезапную сердечную смерть. Дополнительно вызывает ДКМ, ограничительную кардиомиопатию (RCM) и LVNC.

Фенотипы, ориентированные на определенные гены, как описано выше, могут улучшить вероятность успешного тестирования, ориентируя врача на некоторые потенциальные мутации и тем самым улучшая вероятность получения положительного результата.

В дополнение к точной идентификации пациентов с ГКМП, генетическое тестирование позволяет выявить две дополнительные группы:

Первая группа называется генотипической отрицательной группой генотипа (G+/P-). Она включает носителей мутаций без явной гипертрофии.

Вторая группа включает пациентов с гипертрофией желудочков, вызванных не саркомерными мутациями, и они являются фенокопиями ГКМП.

G+/P- группа важна, так как она может быть целью для терапии, направленной на остановку и даже предотвращение заболевания. Эта группа обычно не включается в исследования стратификации внезапной сердечной смерти. Сердечные события считаются нетипичными в этой группе. Эта группа требует тщательного и регулярного наблюдения, поскольку у пациентов может развиться гипертрофия в любое время, главным образом в подростковом возрасте. Некоторые эхокардиографические признаки могут предшествовать развитию открытой гипертрофии; они включают раннюю диастолическую дисфункцию, миокардиальные крипты и рубцы, и удлиненные митральные листочки. Магнитный резонанс сердца является ценным инструментом для лучшего анализа ситуации в данной группе.

Группа фенокопий представлена различными клиническими, электрокардиографическими и эхокардиографическими признаками, которые хорошо обобщены в гайдлайнах. Присутствие данных признаков должно повышать вероятность синдромов ГКМП и требует специфических диагностических тестов. Это комплексная группа, которая может привести к гипертрофии сердца с участием различных механизмов. Они реализуются при гликогенозах, лизосомальных болезнях накопления, митохондриальных расстройствах, сердечнососудистых синдромах, РАСопатиях, нервно-мышечных расстройствах, липодистрофических синдромах, амилоидозе. Наличие преэкситации в ЭКГ является ключевым признаком, связанным с болезнями накопления.

Считалось, что выявление причинно-следственных генов ГКМП улучшает стратификацию риска, а мутации генов первоначально обозначались как «злокачественные» или «доброкачественные». Однако сейчас стало понятно, что эта классификация ограничена. В настоящее время допускается, что одиночные мутации неточно прогнозируют диагноз.

Тем не менее, двойные мутационные носители могут иметь более высокий риск SCD, и они включены в руководящие принципы АСС/АНА в качестве модуляторов, которые в некоторых случаях могут поддержать решение о имплантации дефибриллятора.

Преимущества и ограничения использования генетических маркерных панелей

Подтверждение диагноза

Генетический скрининг является ценным инструментом, который может помочь подтвердить диагноз ГКМП даже в неоднозначных ситуациях. Этот тип скрининга также помогает идентифицировать пациентов высокого риска до появления открытой гипертрофии и устранения неопределенности для лиц с отрицательным тестом, особенно в связанных семейных скринингах. Поскольку ГКМП может влиять на 50% потомства, пренатальная и даже преимплантационная диагностика может быть полезна.

Предсказательная способность

Тесты положительны для 2/3 пациентов с историей ГКМП и 1/3 из тех, у кого впервые диагностирована гипертрофия левого желудочка. При этом более надежные результаты показывают опытные и сертифицированные центры. Чтобы улучшить результаты, генетический скрининг должен проводиться у большинства пациентов с клинически симптомами.

При этом:

- a) в отсутствие известной мутации отрицательное тестирование не исключает ГКМП;
- b) пациенты с необъяснимой гипертрофией желудочков и отрицательным генетическим тестом могут быть носителями ГКМП, и их следует внимательно отслеживать;
- c) отрицательное генетическое тестирование бесполезно для семейного скрининга, и в таких случаях клиническое наблюдение является более подходящим.

Многие мутации являются мутациями с неизвестной значимостью. Это неклассифицированные мутации, связь которых с риском заболевания неизвестна. Поэтому эти варианты не используются для семейного скрининга и требуют постоянной переоценки.

Генетический скрининг стал практически осуществимым в повседневной практике с внедрением автоматизированного секвенирования ДНК на основе секвенирования нового

поколения, которое позволяет проводить точную и воспроизводимую диагностику. Обычно используются панели, с помощью которых секвенируют значимые участки критичных генов.

Генетическая гетерогенность настолько велика, что патогенность некоторых идентифицированных мутаций во время скрининга не может быть продемонстрирована. Однако чтобы считаться патогенным, мутация должна соответствовать следующим критериям:

- Косегрегация с фенотипом ГКМП у членов семьи.
- Уже известна как причина ГКМП.
- Отсутствует в группах контроля сходной этничности.
- Структура и функция белка существенно изменены.

Изменение аминокислотной последовательности произошло в эволюционно высококонсервативной части белка, и изменчивость данной области практически не наблюдается у других видов, что указывает на ее важность для основной клеточной функции.

Если мутация не соответствует вышеуказанным критериям, она классифицируется как вариант неизвестного значения (VUS) или непатогенный вариант.

При этом в базах данных мутации регулярно переклассифицируются. Генетические базы данных, такие как база данных ESP, проект 1000 геномов и клинвар вместе позволяют получать упорядоченную информацию об идентифицированных мутациях генов.

Общий сценарий генетического тестирования спортсменов на гипертрофическую кардиомиопатию.

Ключевое отличие генетического скрининга спортсменов и генетического тестирования обычных людей обусловлено целью – если для не спортсменов целью является подтверждение наследственной природы фенотипа, то при скрининге спортсменов целью является исключение склонности к гипертрофической кардиомиопатии, и генетический тест является одним из инструментов исключения. Поэтому

а) в идеале все спортсмены должны пройти данный генетический скрининг, независимо от наличия негенетических факторов развития ГКМП;

б) в случае отрицательного тестирования или идентификации VUS спортсмен должен по-прежнему считаться носителем HCM и рассматриваться как таковой;

в) наличие семейной истории с подтвержденным носительством VUS варианта у аффецированного носителя должно являться подтверждением патогенной природы варианта для скрининга спортсменов.



Приложение А

Руководства и клинические рекомендации профессиональных сообществ по использованию генетических маркеров

| № | Библиографическая ссылка | Гиперссылка |
|---|--|---|
| 1 | Elliott P. M. et al. 2014 ESC Guidelines on diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy //Kardiologia Polska (Polish Heart Journal). – 2014. – Т. 72. – №. 11. – С. 1054-1126. | http://eurheartj.oxfordjournals.org/content/35/39/2733.full-text.pdf |
| 2 | Sen-Chowdhry S. et al. Update on hypertrophic cardiomyopathy and a guide to the guidelines //Nature Reviews Cardiology. – 2016. | |
| 3 | Genetic testing in management of hypertrophic cardiomyopathy – Fifth in series An article from the e-journal of the Council for Cardiology Practice Vol.13,N°26 - 21 Jul 2015 | https://www.escardio.org/Journals/E-Journal-of-Cardiology-Practice/Volume-13/genetic-testing-in-management-of-hypertrophic-cardiomyopathy-fifth-in-series |
| 4 | Maron B. J. et al. Eligibility and disqualification recommendations for competitive athletes with cardiovascular abnormalities: Task Force 3: hypertrophic cardiomyopathy, arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy and other cardiomyopathies, and myocarditis //Circulation. – 2015. – Т. 132. – №. 22. – С. e273-e280. | http://circ.ahajournals.org/content/132/22/e273.short |
| 5 | Alfares A. A. et al. Results of clinical genetic testing of 2,912 probands with hypertrophic cardiomyopathy: expanded panels offer limited additional sensitivity //Genetics in Medicine. – 2015. – Т. 17. – №. 11. – С. 880-888. | https://www.nature.com/articles/gim2014205 |