

Вайханская Т.Г.¹, Сивицкая Л.Н.², Даниленко Н.Г.², Курушко Т.В.¹, Давыденко О.Г.²

МУТАЦИИ ГЕНА ЛАМИНА А/С (LMNA) У ПАЦЕНТОВ С ДИЛАТАЦИОННОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ И ИХ ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ

¹Республиканский научно-практический центр «Кардиология»,
функциональная группа клинической патофизиологии кровообращения,
г. Минск, Беларусь

²Государственное научное учреждение «Институт генетики и цитологии»,
Национальная академия наук, лаборатория нехромосомной наследственности,
г. Минск, Беларусь

Vaikhanskaya T.G.¹, Sivitskaya L.N.², Danilenko N.G.², Kurushka T.V.¹, Davydenko O.G.²

LAMIN A/C GENE (LMNA) MUTATIONS IN PATIENTS WITH DILATED CARDIOMYOPATHY AND THEIR PHENOTYPIC MANIFESTATION

¹Republican Scientific and Practical Center of Cardiology,
Minsk, Belarus

²Institute of Genetics and Cytology, National Academy of Sciences,
Minsk, Belarus

АННОТАЦИЯ

В статье приведены современные представления о структуре и функциях ядерных белков ламинов, патологические механизмы генных ламиновых мутаций и лечебно-диагностические проблемы ламина-ассоциированных форм дилатационной кардиомиопатии (ДКМП). ДКМП, обусловленная мутациями ядерного гена ламина (LMNA), часто связана с нарушениями сердечного ритма, проводимости и различными скелетно-мышечными расстройствами. Это заболевание отличается неблагоприятным прогнозом, обусловленным высоким риском внезапной сердечной смерти из-за нарушений проводимости (жизнеугрожающие блокады) или желудочковой тахикардии (фатальные желудочковые тахикардии/фибрилляции). В статье представлены 2 клинических случая ламиновых фенотипов ДКМП, ассоциированных с мутациями гена LMNA. В обучающем аспекте для практических врачей изложены дифференциальные клинические признаки потенциальных носителей LMNA мутаций, так как генетическая диагностика ламиновых ДКМП позволяет своевременно определить оптимальную тактику лечения и необходимость профилактической имплантации кардиовертера-дефибриллятора.

Ключевые слова: белки ядерной ламина, мутации гена ламина А/С (LMNA), дилатационная кардиомиопатия (ДКМП), жизнеугрожающие аритмии, кардиовертер-дефибриллятор (КВД).

ABSTRACT

This article presents the current view on the structure and functions of nuclear lamin proteins, pathological phenotypes of persons with LMNA mutations and clinical problems of lamin-related dilated cardiomyopathy diagnostics and management. Dilated cardiomyopathy (DCM) caused by mutations in the LMNA gene is often associated with conduction disorders, cardiac arrhythmias and extracardiac features with discrete muscle disruption. This disease is characterized by a poor prognosis and high risk of sudden cardiac death due to conduction disturbances (life-threatening blockade) or ventricular tachyarrhythmias (fatal ventricular tachycardias/fibrillation). We describe here 2 cases of lamin-type DCM associated with definite LMNA mutations. Educational focus for reader-cardiologist is a recognition of potential carriers followed by molecular genetic testing for diagnostics of LMNA mutation and tissues regarding optimal management of patients, especially timing for prophylactic cardioverter-defibrillator.

Key words: nuclear lamin proteins, LMNA gene mutations, dilated cardiomyopathy (DCM), life-threatening arrhythmias, cardioverter-defibrillator.

Сведения об авторах:

Сивицкая Лариса Николаевна	ГНУ «Институт генетики и цитологии», НАН Беларуси, старший научный сотрудник лаборатории нехромосомной наследственности, канд. биол. наук Адрес: 220072, Беларусь, г. Минск, ул. Академическая 27, Тел.+375172686420, E- mail: cytoplasmic@mail.ru
Даниленко Нина Генусовна	ГНУ «Институт генетики и цитологии», НАН Беларуси, ведущий научный сотрудник лаборатории нехромосомной наследственности, канд. биол. наук, Адрес: 220072, Беларусь, г. Минск, ул. Академическая 27, Тел.+375172686420, E- mail: cytoplasmic@mail.ru
Курушко Татьяна Валентиновна	РНПЦ «Кардиология», врач отделения функциональной диагностики, 220036, Беларусь, г. Минск, ул. Р. Люксембург, 110, Тел.+375293506880, E- mail: tatkuco@mail.ru
Давыденко Олег Георгиевич	ГНУ «Институт генетики и цитологии», НАН Беларуси, д.б.н., член-корр. НАН Беларуси, заведующий лабораторией нехромосомной наследственности, Адрес: 220072, Беларусь, г. Минск, ул. Академическая, 27, Тел.+375172686420, E- mail: cytoplasmic@mail.ru
Автор для контакта с редакцией: Вайханская Татьяна Геннадьевна	РНПЦ «Кардиология», ведущий научный сотрудник функциональной группы клинической патофизиологии кровообращения, канд. мед. Наук, Адрес: 220036, Беларусь, г. Минск, ул. Р. Люксембург, 110 Тел.+375291307140, E- mail: tat_vaiikh@mail.ru

Ламины – это структурные белки, компоненты ядерной ламины – белковой сети, которая лежит под внутренней мембраной ядра и определяет его размер и форму. Ядерная ламина обеспечивает прочность ядерной оболочки и организацию ядерных пор, противостоит силам деформации и защищает хроматин от физических повреждений. Как показывают исследования последних лет, наряду с выполнением структурной функции, ламины принимают участие в контроле репликации ДНК, организации хроматина и в регуляции генной экспрессии, процессинга и апоптоза [1-4].

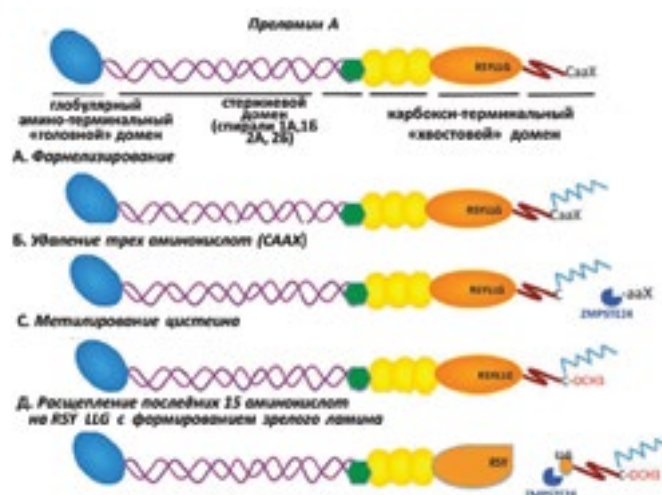
Ядерная ламина состоит из четырех ламиновых белков: А, В1, В2 и С. Ламины В1, В2 и В3 (их называют ламинами В-типа) кодируются двумя генами, LMNB1 и LMNB2 и синтезируются во всех клетках многоклеточных животных. Ламины А и С (так называемые ламины А-типа) являются продуктами альтернативного сплайсинга одного гена LMNA и обнаруживаются в сравнимых количествах в дифференцированных тканях всех позвоночных, в т.ч. человека. Все белки, ламины типа В и преламина А, синтезируются с консервативным мотивом на карбоксильном конце молекулы – СaaХ (С – цистеин, аа – две алифатические аминокислоты, Х – любая аминокислота) [5,6].

Преламина А и В для превращения в ламины (рис. 1: А-Д) подвергаются целой серии посттрансляционных модификаций, которые происходят на карбоксильном конце молекулы: А) фарнезилирование цистеина из СaaХ мотива; Б) эндопротеолиз и высвобождение последних трех аминокислот белка (ааХ); В) метилирование вновь образованного фарнезилцистеина; Д) второй эндопротеолиз, отщепляющий дополнительно 15 аминокислот с карбоксильного конца, в том числе и фарнезилцистеин.

У ламинов В второго протеолиза нет, они остаются с фарнезильной группой на С-конце. Функцией фарнезильной группы является установление связи ламина с ядерной мембраной либо путем прямого взаимодействия с липидной мембраной, либо опосредованно, с помощью белок-белковых взаимодействий [7,8].

Молекулы ламинов имеют массу 60–89 кДа и трехчленную структуру, состоящую из центрального альфа-спирального

Рисунок 1. Этапы созревания преламина в ламин А



Примечание: RSYLLG – аминокислотные остатки на С-конце белка в последовательности, указанной в однобуквенной номенклатуре (Ali J. Marian, Cardiogenetics, 2011, 1e6, с изменениями).

стержня, ограниченного коротким глобулярным аминокислотным «головным» доменом и длинным карбокси-терминальным «хвостовым» доменом. Большая часть ламиновых белков сконцентрирована в ядерной ламине, однако небольшая фракция обычно обнаруживается в нуклеоплазме [9]. Гены, кодирующие ламиновые белки, представлены в таблице 1.

Отдельные ламиновые белки А и В типа полимеризуются в клетках в гомополимеры, которые могут объединяться в ламине в единую сетчатую структуру, тогда как в нуклеоплазме такой упорядоченности не обнаруживается. Экспериментально, при последовательном избирательном сайленсинге каждого из ламиновых генов доказано, что формирование единой ламиновой сети происходит под контролем гена LMNB1. Выключение LMNA или LMNB2, в отличие от LMNB1, не оказывало влияния на структуру сети ламиновых белков в целом.

Таблица 1. Гены ламинов и кодируемые ими белки

Ген	Локус на хромосоме	Число экзонов	Белки, количество аминокислот	Примечания (тип синтеза)
LMNA	1q22	17	Ламин А - 654 Ламин С - 572	Альтернативный сплайсинг LMNA
LMNB1	5q23.2	12	Ламин В1 - 586	Обычный
LMNB2	19p13.3	14	Ламин В2 – 620 Ламин В3 – 483	Альтернативный сплайсинг

Предполагается, что ламиновый ген LMNB1 контролирует образование структурной основы ядерной ламины. Выявлено, что ламиновые белки В1 и В2 собираются в отдельные, но взаимосвязанные сети и по-разному взаимодействуют с сетью, образованной ламинами А и С. Установлено также, что ламиновые белки А-типа преимущественно ассоциируются с участками хроматина, богатыми генами [10], тогда как участки хромосом с малым числом генов связаны в ламине с белками В1 [11]. В нормальных клетках взаимодействие ламинов А- и В-типов между собой и с хроматином ядра создает возможность тонкой регуляции экспрессии генов. Нарушение этого процесса при поражении любого из ламиновых компонентов лежит в основе так называемых ламинопатий [10].

Ламинопатии. Заболевания, развивающиеся в результате мутаций в генах белков ядерной ламины, называют ламинопатиями. При этом, вышеуказанные синдромы могут вызываться мутациями как в генах собственно ламинов, так и в генах белков-партнеров (SREBP1, эмерины) и ферментов, участвующих в процессинге ламинов [12]. Клинические синдромы ламинопатий были описаны еще в конце 19-го века, однако лишь в 1999 году мутация гена ламина А/С была впервые выявлена у пациентов с аутосомно-доминантным заболеванием – мышечной дистрофией Эмери-Дрейфуса (EDMD) [13,14]. Позже с ламиновыми мутациями были ассоциированы более десятка клинических расстройств, формирующих уже известные синдромы с поражением, преимущественно, определенного вида ткани: поперечно-полосатые мышцы, жировая ткань, сердечный миокард, периферические нервы или множественные ткани в результате прогероидных фенотипов [15]. В таблице 2 приведены известные к настоящему времени синдромы и заболевания, генетически детерминированные ламиновыми мутациями.

Точный механизм развития ламин-ассоциированных заболеваний до сих пор еще детально не изучен. Доминируют две основные гипотезы, объясняющие наблюдаемые патологические фенотипы: структурная гипотеза и гипотеза «генной экспрессии». Согласно первой, недостаток ламинов или некорректная сборка мутантных ламиновых белков приводит к снижению прочности ядерной ламины и повышению уязвимости ядра и клетки в целом [1,16]. Прежде всего при этом страдают клетки, подвергающиеся механическому стрессу, такие как мышечные клетки и кардиомиоциты, с развитием дегенеративных изменений [17]. Вторая гипотеза предполагает нарушение взаимосвязи между ядерной ламинной и факторами транскрипции [2,18,19]. Недавно была сформулирована еще одна гипотеза, согласно которой мутация ламинов А/С или отсутствие ламинов А-типа могут провоцировать третий механизм патогенеза – временную декомпарментализацию (из-за нарушения целостности ядерной мембраны), приводящую к неадекватному обмену между ядерными и цитоплазматическими компонентами [20].

Кардиомиопатии, вызванные генными мутациями LMNA,

часто сопровождаются скелетно-мышечными расстройствами (периферические миопатии) различной степени выраженности. Чаще встречается мышечная дистрофия Эмери-Дрейфуса аутосомно-доминантного типа и поясно-конечностная мышечная дистрофия с нарушением атриовентрикулярной проводимости типа 1В. Иногда отмечаются изолированные скелетно-мышечные аномалии в виде мускульных гипо/гипертрофий конечностей.

Предварительный диагноз ламин-ассоциированной ДКМП можно предположить у пациентов с дефектами проводимости (атриовентрикулярная блокада или хронотропная дисфункция синусового узла); при сочетании ДКМП с аномалиями скелетных мышц (мышечная слабость/миопатии, сухожильные контрактуры, повышение уровня креатинфосфокиназы); при появлении суправентрикулярной или желудочковой тахикардии через несколько лет после выявления ДКМП. Дефекты проводимости, желудочковые и наджелудочковые аритмии манифестируют в возрасте 20-30 лет. Желудочковые тахикардии могут возникать на различных стадиях заболевания. Миопатический комплекс (слабость/миопатия скелетных мышц) может отсутствовать или присоединиться в поздней стадии болезни. Хронология симптомов и клинические проявления заболевания могут различаться между родственниками внутри одной семьи.

В качестве примера представляем два клинических случая ламин-ассоциированной ДКМП с сопутствующим миопатическим синдромом различной степени выраженности: первое наблюдение заболевания (пациентка К.) с быстрым прогрессирующим течением кардиомиопатии, бивентрикулярной дисфункцией и развитием тяжелой сердечной недостаточности (СН), сопровождающееся легкой изолированной скелетно-мышечной аномалией в виде умеренной гипотрофии бедренных мышц; второе наблюдение (пациент С.) с медленно-прогрессирующим течением ДКМП, умеренно выраженной СН и прогрессирующей мышечной дистрофией Эмери-Дрейфуса с тяжелыми нарушениями опорно-двигательных функций. Общей в двух случаях была кардиальная манифестация заболевания в виде аритмических и синкопальных эпизодов; и в первом, и во втором случае выявлены идентичные (синдром Фредерика) нарушения ритма (фибрилляция предсердий) и проводимости (атриовентрикулярная блокада 3 степени) с синкопе.

Клинический случай 1. Пациентка К., женщина 1991 г.р., без семейного анамнеза ДКМП. Первые жалобы в виде чувства сердцебиения и нарушения сердечного ритма появились в 21-летнем возрасте. При электрокардиографическом (ЭКГ) обследовании выявлены: низкий вольтаж комплексов QRS в стандартных и грудных отведениях, плохо визуализируемый низкоамплитудный зубец Р, синусовая брадикардия с ЧСС 50 уд. в 1 мин, АВ блокада 1 ст., одиночные предсердные экстрасистолы, в т.ч. с заблокированным проведением. При ультразвуковом исследовании сердца морфо-функциональной патологии не обнаружено: конечно-диастолический диаметр левого

Таблица 2. Клинические синдромы кардиальных и экстракардиальных ламинопатий

Ламинапатии	Клинические проявления	Тип наследования
Мышечная дистрофия Эмери-Дрейфуса 2 (EDMD2)	Ранние контрактуры локтей, ахиллова сухожилия и задней части шеи, жесткость позвоночника, медленно прогрессирующая мышечная слабость в руках и голенях, дилатационная кардиомиопатия с АВ блокадой	Аутосомно-доминантный
Мышечная дистрофия Эмери-Дрейфуса 3 (EDMD3)	Общая схожесть с EDMD2. Контрактуры, диффузная мышечная дистрофия, отсутствие кардиомиопатии	Аутосомно-рецессивный
Дилатационная кардиомиопатия 1A (CMD1A)	Дилатация и дисфункция миокарда, нарушения ритма и проводимости (АВ блокада и ПБЛНПГ), мышечная слабость, мышечная дистрофия, ограничение подвижности в суставах, контрактуры	Аутосомно-доминантный
Конечноностно-поясная мышечная дистрофия 1B (LGMD1B)	Прогрессирующая проксимальная мышечная слабость и гипотрофии, симптомы «крыловидных лопаток», «утиной походки», поясничный гиперлордоз	Аутосомно-доминантный
Частичная семейная липодистрофия Даннигана (FPLD2)	Пациенты рождаются с нормальным распределением жира, но после наступления половой зрелости проявляются региональные потери жира конечностей, сопутствующие сахарный диабет или резистентность к инсулину	Аутосомно-доминантный
Болезнь Шарко-Мари-Тута 2 типа (CMT2B1)	Характерно снижение нервной чувствительности, потеря больших миелинизированных волокон и аксональная дегенерация	Аутосомно-рецессивный
Мандибуло-акральная дисплазия тип А (MADA)	Характерна задержка роста, пациенты имеют уменьшенную челюсть, недоразвитые ключицы, другие врожденные аномалии скелета, частичную липодистрофию и прогероидные признаки	Аутосомно-рецессивный
Прогерия Хатчинсона-Гилфорда (HGPS)	Проявляются признаки ускоренного или преждевременного старения. Обычно пациенты умирают на втором десятилетии жизни от инфаркта миокарда или инсульта. Другими признаками являются склеротические изменения кожи, контрактуры суставов, выпуклые глаза, уменьшенные челюсти, уменьшение подкожно-жировой клетчатки, выпадение волос, пятнистость кожи и видимая подкожная сосудистая сеть, нарушения роста	Аутосомно-доминантный
Рестриктивная дермопатия	Задержка роста, плотная жесткая кожа, с эрозией на месте сгибов, поверхностные сосуды, облысение, микрогнатия и другие нарушения костей	Аутосомно-рецессивный
Синдром рука-сердце, словенский тип	Сочетание различных пороков развития верхних конечностей и врожденных пороков сердца. Степень мальформации рук различна. Кроме этого, характерны другие нарушения скелета. Наблюдаются дефекты межпредсердной и межжелудочковой перегородок, открытый артериальный проток, коарктация аорты, стеноз легочной артерии, пролапс митрального клапана	Аутосомно-доминантный

желудочка (КДД ЛЖ) 48 мм, конечно-систолический диаметр (КСД) ЛЖ 29 мм, конечно-диастолический объем (КДО) ЛЖ 123 мл, конечно-систолический объем (КСО) ЛЖ 47 мл; конечно-диастолический объем правого желудочка (КДО ПЖ) 63 мл, конечно-систолический объем ПЖ 28 мл, фракция выброса (ФВ) ЛЖ 62% (по Симпсону), фракция выброса правого желудочка (ФВ ПЖ) 55%. Через два года пациентка госпитализирована в республиканский кардиологический центр с клиническими признаками сердечной недостаточности (СН), соответствующими III ФК NYHA, с жалобами на приступы удушья по ночам, тяжесть и боли в правой подреберной области,

одышку, синкопе и предобморочные состояния. Клиника СН развивалась быстро, в течение 3-х месяцев с момента появления первых симптомов – одышки и слабости.

Объективно при осмотре: ЧДД 23 в 1 мин, PS = 51, ЧСС = 60 уд. в 1 мин., АД 100/60 мм рт. ст.; перкуторно – расширение границ сердца, разлитой верхушечный толчок; аускультативно – сердечные тоны аритмичные, систолический шум над мечевидным отростком, мелкопузырчатые хрипы в нижних отделах легких; пальпаторно – увеличение правой доли печени (+2,5 см от края реберной дуги); локально – периферические отеки стоп и голеней, признаки гипертрофии икроножных

мышц, умеренно выраженная гипотрофия бедренных мышц (преимущественно квадрицепсы) без снижения мышечной силы и тонуса с нормальными периостальными рефлексам. На ЭКГ: фибрилляция предсердий с ЧСС 51-60 в 1 мин, неполная блокада левой ножки пучка Гиса (альтернирующие блокады передневерхнего и задненижнего разветвления), интермиттирующая полная блокада правой ножки пучка Гиса. При эхокардиографическом (Эхо-КГ) исследовании выявлена дилатация и глобальная систолическая дисфункция обоих желудочков с дилатацией предсердий: ФВ ЛЖ 27%, среднее значение продольной деформации ЛЖ (mean global strain – ср. GS) – 8,6%; ФВ ПЖ 39%, продольная деформация ПЖ (ср. GS) – 9,8%; КДД ЛЖ 56 мм (индекс 28 мм/м²), КСД ЛЖ 46 мм, КДО ЛЖ 171 мл, КСО ЛЖ 124 мл; КДО ПЖ 122 мл, КСО ПЖ 74 мл; левопредсердный объем составил 78 мл, объем правого предсердия – 200 мл; среднее давление в легочной артерии (ср.ДЛА) – 28 мм рт. ст. Обнаружены признаки трабекулярного строения верхушки ЛЖ, заднебоковых отделов ЛЖ, верхушки ПЖ, межжелудочковой перегородки со стороны ПЖ. С помощью кардиореспираторного теста выявлено пиковое потребление кислорода (VO₂) в последние 30 сек физической нагрузки – пик VO₂ – 15,5 мл/кг/мин (диапазон половозрастной нормы 29-42 мл/кг/мин). При суточном мониторинге ЭКГ выявлены следующие нарушения сердечного ритма и проводимости: фибрилляция предсердий (ФП) брадисистолической формы со средней ЧСС 45 уд. в 1 мин; частая полиморфная желудочковая экстрасистолия (>300/час), в т.ч. парная (345 куплетов/сут) и групповая (13 триплетов/сут); в ночное и утреннее время зарегистрированы альтернирующие эпизоды синдрома Фредерика (АВ блокада 3 степени дистального типа общей длительностью 15 час/сут с минимальной ЧСС 24 уд. в 1 мин) и 40 пароксизмов неустойчивой желудочковой тахикардии двух морфологических форм (в виде блокады правой ножки пучка Гиса и задненижнего разветвления левой ножки пучка Гиса).

При лабораторно-биохимическом исследовании крови выявлено повышение уровней сывороточной креатинфосфокиназы – 293 U/L (норма 24-190 U/L) и мозгового натрийуретического пептида – 789 пг/ммоль (норма 0-50 пг/ммоль). При селективной ангиографии коронарных артерий видимых патологических изменений коронарного русла не обнаружено. С помощью сцинтиграфии миокарда (в состоянии покоя) выявлены зоны гипоперфузии в передней, переднебоковой, передневерхушечной и задней областях ЛЖ.

Магнитно-резонансное исследование выполнено пациентке на абдоминальной катушке в неполном объеме из-за значительных клинических проявлений левожелудочковой СН (приступы ОЛЖН) в горизонтальном положении в условиях сканирования. Выявлены признаки диффузной дилатации всех камер сердца; расширение легочного ствола до 44 мм (превышение диаметра аорты); снижение глобальной сократимости миокарда ЛЖ и ПЖ без признаков истончения и без жировой инфильтрации миокарда и эпикарда; повышенная трабекулярность миокарда ПЖ; жидкость в полости перикарда и в видимых отделах брюшной полости.

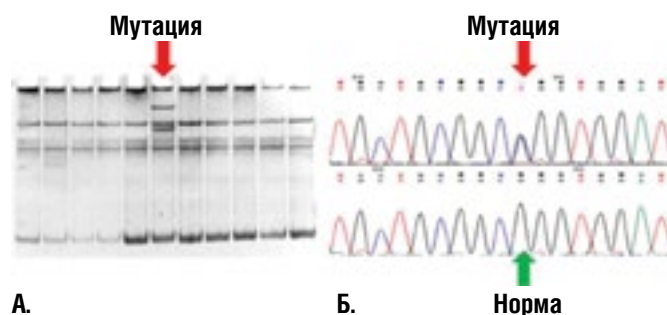
С целью первичной профилактики ВС пациентке проведена имплантация однокамерного кардиовертера-дефибриллятора (КВД).

Несмотря на проведение адекватной медикаментозной терапии (базовое лечение СН ингибиторами АПФ, бета-бло-

каторами, антагонистами альдостерона, диуретиками), наблюдалось дальнейшее прогрессирование симптомов СН с развитием асцита и гидроперикарда. Пациентку с клиническими признаками сердечной недостаточности, резистентной к фармакотерапии, и прогрессирующим негативным ремоделированием сердца (увеличение КДО ЛЖ до 180 мл и КСО ЛЖ до 140 мл; снижение ФВ ЛЖ до 22% и ср. GS ЛЖ до – 5,2%; увеличение КСО ПЖ до 93 мл и КДО ПЖ до 131 мл; уменьшение ФВ ПЖ до 29% и ср. GS ПЖ до – 4,9%; появление признаков выраженной легочной гипертензии со ср. ДЛА = 46 мм рт. ст.) включили в лист ожидания пересадки сердца с последующей дальнейшей успешной ортотопической трансплантацией сердца.

С согласия пациентки проведено молекулярно-генетическое исследование гена LMNA методом анализа конформационного полиморфизма одноцепочечных фрагментов ДНК (SSCP) и прямого секвенирования. В экзоне III гена LMNA было выявлено гетерозиготное носительство нуклеотидной замены G>C (рис. 2).

Рисунок 2. Результаты молекулярно-генетического исследования гена LMNA у пациентки К



А. Электрофореграмма SSCP-анализа экзона III гена LMNA; стрелкой указан образец с измененной конформацией одноцепочечных фрагментов ДНК.

Б. Фрагмент нуклеотидной последовательности экзона III с идентифицированной заменой G>C (мутация) и без нее (норма)

Согласно базе данных dbSNP NCBI, представленная замена соответствует с.569G>C в кДНК^{LMNA} (NM_170708, rs267607571) [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>]. На уровне белка эта мутация приводит к замещению аминокислотного остатка аргинина на пролин в позиции 190 – p.Arg190Pro. Следует отметить, что эта позиция считается «горячей точкой» в структуре ламина A/C. В таблице 3 представлены мутации, затрагивающие 190-й аминокислотный остаток, по данным UMD-LMNA Mutation Database (<http://www.umd.be/LMNA/> дата доступа 06.04.2015), включающие как одонуклеотидные замены, так и малые делеции/инсерции. Согласно этой базе данных, а также dbSNP NCBI, замена с.569G>C (p.Arg190Pro) ранее не описана, а носитель этой мутации уникален.

Мутация p.Arg190Pro локализуется в альфа-спиральном сегменте coil 1B ламина A/C. Наряду с еще двумя такими же сегментами, названными coil 1A и coil 2, он входит в состав «стержневого» rod-домена. Это центральный домен всех промежуточных филаментов, представленный в виде суперспирали (coiled coil); строение ламина A/C и организация доменов схематически изображены на рисунке 3.

Таблица 3. Мутации, описанные в кодоне 190 ламина А/С

Замена в белке	Замена в кДНК	Экзон	Кодон	Домен белка	Тип мутации	Результат мутации
	c.566_567delinsCC	3	190	Coil 1b	indels	indels
p.Arg190Trp	c.568C>T	3	190	Coil 1b	Ts	C>T
p.Arg190fsX22	c.568_1995del	3	190	Coil 1b	InF	Stop at 211
p.Arg190Gln	c.569G>A	3	190	Coil 1b	Ts	G>A

Рисунок 3. Доменная организация ламина А/С



Цилиндрами обозначены альфа-спиральные структуры (coil), овалами – глобулярные домены

Суперспираль – это третичная структура фибриллярных белков; в случае ламина А/С она формируется путем соединения двух молекул, когда их coil-сегменты скручиваются друг с другом, образуя «двойную спираль». Известно, что аминокислота пролин обладает крайне низким потенциалом к образованию регулярных спиральных структур. Включение пролина в состав альфа-спирального сегмента при мутации p.Arg190Pro отклоняет спираль от основной оси и изгибает ее. В дальнейшем при димеризации ламина А/С, осуществляемой путем взаимодействия coil-сегментов двух молекул, пролиновый остаток играет критическую роль, препятствуя формированию суперспирального домена. Последний крайне необходим для формирования ламиновой сети на внутренней поверхности ядерной оболочки. Вследствие этого ядерная ламина не способна в полной мере выполнять свои функции, что и приводит к развитию патологии.

Клинический случай 2. Пациент С., мужчина 1969 г.р. Впервые слабость в мышцах верхних и нижних конечностей появились в 5-летнем возрасте. С возрастом постепенно менялась походка «по типу утиной» и развивались контрактуры в шейном отделе позвоночника, локтевых и голеностопных суставах. К третьей декаде жизни сформировался миопатический симптомокомплекс с выраженным проксимальным тетрапарезом и множественными сухожильными контрактурами. Предварительные диагнозы миопатии Дюшен-Беккера и Крейтцфельда-Якоба уточнялись, проводилось молекулярно-генетическое исследование гена дистрофина (мутаций в 60 анализируемых экзонах не выявлено).

Манифестирование кардиальной патологии произошло в 40-летнем возрасте, когда впервые появились синкопальные состояния. Пациент в 2009 г. госпитализирован в РНПЦК с жалобами на одышку и обморочные состояния.

Объективно при осмотре: ЧДД 20 в 1 мин, PS = ЧСС = 36 в 1 мин., АД 125/60 мм рт. ст.; аускультативно – тоны сердца ритмичные, приглушены, дующий систолический шум над мечевидным отростком, мелкопузырчатые хрипы в нижних отделах легких; пальпаторно – печень у края реберной дуги; локально – периферические отеки голеней. Мышечно-неврологический статус: атрофия мышц плечевого пояса и спины с формированием поясничного гиперлордоза, гипотрофия мышц бедер; сгибательная контрактура локтевых и голеностопных суставов.

Мышечная сила снижена в руках и ногах, мышечный тонус не изменен, сухожильно-периостальные рефлексy с верхних и нижних конечностей не вызываются, нарушений чувствительности не выявлено. Передвигается при помощи трости.

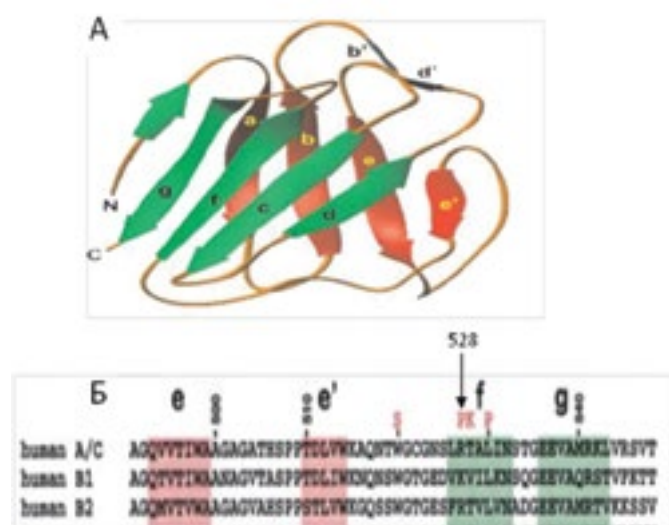
На ЭКГ: фибрилляция предсердий с ЧСС 36 в 1 мин, узловой замещающий ритм. При Эхо-КГ исследовании выявлена дилатация и обоих желудочков с умеренной систолической дисфункцией левого желудочка: ФВ ЛЖ 44%, ср. GS – 15,6%; КДД ЛЖ 65 мм, КСД ЛЖ 45 мм, КДО ЛЖ 204 мл, КСО ЛЖ 116 мл; КДО ПЖ 67 мл, КСО ПЖ 27 мл; ФВ ПЖ 60%; ср. ДЛА – 34 мм рт. ст. При суточном мониторингировании ЭКГ выявлены: фибрилляция предсердий (ФП) брадисистолической формы со средней ЧСС 38 уд. в 1 мин; основной ритм – узловой замещающего генеза на фоне синдрома Фредерика (ФП с АВ блокадой 3 степени) и эпизоды выскальзывающего идиовентрикулярного ритма с минимальной ЧСС 32 уд. в 1 мин), мономорфная одиночная желудочковая экстрасистолия (318 ЖЭС/сут); при лабораторно-биохимическом исследовании крови выявлено повышение уровней сывороточной креатинфосфокиназы – 471 U/L и мозгового натрийуретического пептида – 213 пг/ммоль. При селективной коронарной ангиографии атеросклеротических изменений венечных артерий не обнаружено. Пациенту имплантирован однокамерный электрокардиостимулятор (режим VVIR) и индивидуализирована медикаментозная терапия (верошпирон 25 мг/сут, метопролол суцинат 50 мг/сут и рамиприл 2,5-5 мг/сут). В 2010 г. неврологами верифицирован клинический диагноз: мышечная дистрофия Эмери-Дрейфуса. При динамическом 5-летнем наблюдении отмечалось дальнейшее прогрессирование скелетно-мышечной патологии без клинических признаков прогрессирования СН и негативного ремоделирования сердца. При контрольном обследовании в 2015 г. кардиальных жалоб не предъявляет (на фоне базовой медикаментозной терапии); передвигается с помощью костылей; на ЭКГ: фибрилляция предсердий, ритм ЭКС с ЧСС 60 уд. в 1 мин; при ХМ ЭКГ: ритм ЭКС (99%) в режиме VVIR с базовой частотой 60 уд. в 1 мин, 1% спонтанного ритма и 118 ЖЭС; при Эхо-КГ исследовании: ФВ ЛЖ 46%, ср. GS – 15,9 %; КДД ЛЖ 63 мм, КСД ЛЖ 44 мм, КДО ЛЖ 190 мл, КСО ЛЖ 102 мл; КДО ПЖ 68 мл, КСО ПЖ 27 мл; ФВ ПЖ 60%; ср. ДЛА – 34 мм рт. ст.

При молекулярно-генетическом исследовании у пациента выявлено гетерозиготное носительство мутации c.1247C>G (NM_001257374.2, rs57629361) в экзоне IX гена LMNA, который кодирует карбокси-терминальный «хвостовой» домен ламина А/С. Эта мутация приводит к замене аминокислотного остатка триптофана на аргинин в положении 528 первичной последовательности белка – p.Thr528Arg.

Пространственная структура хвостового домена ламина А/С имеет определенные сходства со вторичной структурой иммуноглобулинов, за что он получил название – Ig-подобный

домен. Его функция до сих пор не ясна, поэтому точно определить, какой эффект будут оказывать мутации в нем, затруднительно. При изучении пространственной структуры этого глобулярного домена выявлено, что он состоит из двух бета-листов (рис. 4 А). Один из них образован пятью, а другой – четырьмя бета-цепочками. Позиция 528 находится в цепи «f» пятикомпонентного бета листа (рис. 4 Б). Ученые полагают, что мутации в этой бета-цепочке нарушают укладку «хвостового» домена. Это снижает стабильность всего белка и приводит к развитию таких ламинопатий, как EDMD и LGMD1B [21].

Рисунок 4. Пространственная организация и первичная последовательность ламин [21]



А. Пространственная организация Ig-домена ламина А

Б. Фрагмент первичной последовательности ламин (491-548)

Цветом обозначены цепи, относящиеся к разным бета-листам; стрелкой указана позиция 528, сверху последовательности указаны замены, определенные для EDMD и LGMD

Еще одним предположительным механизмом нарушений, вызванных мутацией p.Thr528Arg, являются изменения в фосфолипид-связывающем С2 домене. Последний регулирует каталитическую активность некоторых ферментов, в том числе протеинкиназы С (ПКС), и структурно относится к Ig-домену [21]. Мутации в этой области могут привести к снижению активности ПКС, которая посредством фосфорилирования осуществляет контроль над функциями белков, участвующих в клеточных сигнальных путях. В результате клетки не могут быстро и согласованно реагировать на сигналы и их стрессоустойчивость снижается.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время известно более 55 генов, мутации которых ассоциированы с ДКМП [23-26]. По данным разных авторов, на долю первичных ДКМП, обусловленных мутациями генов, кодирующих структурные белки миокарда, приходится не менее 25-40% зарегистрированных случаев, а по некоторым данным – до 60% [24-27]. Ламиновый генотип ДКМП является прогностически наиболее неблагоприятным среди других генных мутаций: согласно результатам мета-анализа,

проведенного Van Berlo и С. Meune, у пациентов-носителей ламиновых аномалий отмечается высокая летальность; так, в течение 3-х летнего периода наблюдения выявлено 46% случаев внезапной смерти, несмотря на наличие пейсмекеров в группе больных с брадиаритмиями [28]. В исследовании М. Pasotti период наблюдения пациентов с ламин-ассоциированной ДКМП составил 36-107 (медиана 57) месяцев: в 55,1% случаев выявлены желудочковые тахикардии, 24,5% больных имплантированы кардиовертер-дефибрилляторы, у 32,7% носителей ламиновых мутаций зарегистрирована ВСС, а 30,6% пациентов проведена трансплантация сердца [29].

Точные критерии кардиоламиновых аномалий пока еще не разработаны, однако исследователями предложены некоторые клинические предикторы LMNA-связанной ДКМП. Поражение скелетных мышц (от незначительной мышечной слабости до выраженной миопатии), суправентрикулярная/желудочковая тахикардия, дефекты проводимости (атриовентрикулярные блокады различной степени выраженности, дисфункции синусового узла), умеренная дилатация левого желудочка – это основной симптомокомплекс клинических признаков, которые могут выявляться вне зависимости от наличия семейного анамнеза [30,31].

В многоцентровых крупных исследованиях проведен анализ клинических особенностей, выявленных у носителей ламиновых мутаций (среди семей с ДКМП и поясно-конечностной мышечной дистрофией). У пациентов отмечались типичные ЭКГ-признаки: низкая амплитуда зубца Р, удлинение интервала PR и нормальная длительность комплекса QRS [30-31]. Нарушения проводимости, наджелудочковые или желудочковые аритмии выявлены в начале жизни (до достижения 10 лет) у нескольких детей, в возрасте до 30 лет – у 74% лиц и старше 30 лет – у 92% пациентов; электрокардиостимуляторы были имплантированы в возрасте моложе 20 лет в 3 % случаев и старше 30 лет – в 44% [30]. Проведенные исследования продемонстрировали высокую внезапную смертность среди носителей мутации LMNA (средний возраст 46 лет), 46% погибли внезапно и 12% вследствие прогрессирующей СН. Смертность одинаково высока среди пациентов с изолированным сердечным фенотипом ламиновой ДКМП и у пациентов с сочетанной ДКМП и скелетно-мышечной дистрофией [30-35].

С 2010 г. обновлены практические рекомендации по генетической диагностике кардиомиопатий с включением специальной позиции по лечению и диагностике ламин-связанной ДКМП [36-41]. Основные положения европейских и американских кардиологов совпадают по концепции выделения ламиновых фенотипов ДКМП для обязательного молекулярно-генетического тестирования и, в случае идентификации LMNA-ассоциированной ДКМП, ранней имплантации кардиовертера-дефибриллятора для профилактики ВС [28-36].

Ретроспективное многоцентровое исследование 299 носителей кардиоламиновых мутаций подтвердило высокий риск развития желудочковой аритмии (период наблюдения 43 месяцев): у 18% пациентов развилась внезапная смерть, проводилась легочно-сердечная реанимация или терапия/разряд дефибриллятора [29]. У больных с имплантированным дефибриллятором частота терапии КВД составила 13% в год при вторичной профилактике и 8% в год – при первичной профилактике. Но основной фенотип кардиоламиновой аномалии – это ДКМП в сочетании с дефектами проводимости и/

или желудочковыми тахикардиями при наличии (или отсутствии) поражения скелетных мышц [28–36]. Заболевание связано с плохим прогнозом, обусловленным высоким риском внезапной сердечной смерти из-за нарушений проводимости (жизнеугрожающие блокады) или желудочковой тахикардии (фатальные желудочковые тахикардии/фибрилляции). Дефекты проводимости и наджелудочковые аритмии манифестируют в возрасте 20–30 лет, желудочковые тахикардии могут возникать на различных стадиях заболевания. Миопатический комплекс (слабость/миопатия скелетных мышц) может отсутствовать или присоединиться в поздней стадии болезни. Хронология симптомов и клинические проявления заболевания могут различаться между родственниками внутри одной семьи [24–42].

Таким образом, при выявлении дилатационной кардиомиопатии с признаками ламинарных аномалий: миопатический симптомокомплекс (мышечная слабость, мышечная гипотония, мышечные гипотрофии, гипорефлексия, контрактуры, повышение уровня сывороточной КФК); аритмический синдром (дефекты проводимости в виде атриовентрикулярной блокады или дисфункции синусового узла, появление суправентрикулярной или желудочковой тахикардии через 1–2 года после выявления ДКМП); синдром гипертрофического строения миокарда) независимо от наличия семейного анамнеза (семейные или идиопатические формы) в связи с крайне неблагоприятным прогнозом заболевания, необходимо проведение молекулярно-генетического анализа с секвенированием гена LMNA для верификации диагноза и определения оптимальной лечебной стратегии [43].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Burke B, Stewart CL. Life at the edge: the nuclear envelope and human disease. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002; 3: 575–585
- Cohen M, Lee KK, Wilson KL, Gruenbaum Y. Transcriptional repression, apoptosis, human disease and the functional evolution of the nuclear lamina. *Trends Biochem Sci* 2001; 26: 41–47
- Lammerding J, Schulze PC, Takahashi T et al. Lamin A/C deficiency causes defective nuclear mechanics and mechanotransduction. *J Clin Invest* 2004; 113(3): 370–8
- Hutchison CJ. Lamins: building blocks or regulators of gene expression? *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002; 3(11): 848–58
- Lin F, Worman HJ. Structural organization of the human gene encoding nuclear lamin A and nuclear lamin C. *J Biol Chem* 1993; 268: 16321–16326
- Dechat T. Nuclear lamins: Major factors in the structural organization and function of the nucleus and chromatin. *Genes Dev* 2008; 22: 832–853.
- Mattout A, Dechat T, Adam S A, Goldman and Gruenbaum Y. Nuclear lamins, diseases and aging//*Current Opinion in Cell Biology* 2006, 18:335–341
- Meshorer E, Gruenbaum Y. Gone with the Wnt/Notch: stem cells in laminopathies, progeria, and aging. *J Cell Biol* 2008; 181(1): 9–13
- Moir R., Yoon M., Khuon S., Goldman R. Nuclear lamins A and B1: Different pathways of assembly during nuclear envelope formation in living cells. *J Cell Biol* 2000; 151: 1155–1168
- Shimi T, Pfliegerhaer K, Kojima S, et al. The A- and B-type nuclear lamin networks: microdomains involved in chromatin organization and transcription //*Genes Dev* 2008; 22(24): 3409–3421
- Guelen L., Pagie L., Brasset E., et al. Domain organization of human chromosomes revealed by mapping of nuclear lamina interactions. *Nature* 2008; 453: 948–951
- Rajendran V., Purohit R., Sethumadhavan R. In silico investigation of molecular mechanism of laminopathy caused by a point mutation (R482W) in lamin A/C protein. *Amino Acids* 2012; 43 (2): 603–615
- Bonne G., Di Barletta M.R., Varnous S. et al. Mutations in the gene encoding lamin A/C cause autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Nat Genet* 1999; 21: 285–288
- Fatkin D., MacRae C., Sasaki T. et al. Missense mutations in the rod domain of the lamin A/C gene as causes of dilated cardiomyopathy and conduction-system disease. *N Engl J Med* 1999; 341: 1715–1724
- Worman H., Ostlund C., Wang Y. Diseases of the nuclear envelope. *Cold Spring Harb Perspect. Biol* 2010; 2: 760–776
- Houben F. De Vos W. H. Krapels I. P. et al. Cytoplasmic localization of PML particles in laminopathies. *Histochem Cell Biol* 2013; 139:119–134
- Hutchison CJ, Alvarez-Reyes M, Vaughan OA. Lamins in disease: why do ubiquitously expressed nuclear envelope proteins give rise to tissue-specific disease phenotypes? *J Cell Sci* 2001; 114(1): 9–19
- Wilson KL, Zastrow MS, Lee KK. Lamins and disease: insights into nuclear infrastructure. *Cell* 2001; 104(5): 647–650
- Schirmer EC, Foisner R. Proteins that associate with lamins: many faces, many functions. *Exp Cell Res* 2007; 313(10): 2167–2179
- De Vos WH, Houben F, Kamps MV et al. Repetitive disruptions of the nuclear envelope invoke temporary loss of cellular compartmentalization in laminopathies. *Hum Mol Genet* 2011; 20: 4175–4186
- Dhe-Paganon S1, Werner ED, Chi YI, Shoelson SE. J Structure of the globular tail of nuclear lamin. *Biol Chem* 2002; 277(20): 17381–17384.
- Verdaguer N, Corbalan-Garcia S, Ochoa WF Fita et al. Ca(2+) bridges the C2 membrane-binding domain of protein kinase Calpha directly to phosphatidylserine. *J EMBO* 1999; 18(22): 6329–6338
- Hershberger RE, Morales A, Siegfried JD. Clinical and genetic issues in dilated cardiomyopathy: A review for genetics professionals. *Genet Med* 2010; 12: 655–667
- Van Tintelen J. Peter , Petronella G. Pieper, Karin Y. Van Spaendonck-Zwarts et al. Pregnancy, cardiomyopathies, and genetics. *Cardiovascular Research* 2014; 101:571–578
- Jacoby D, McKenna WJ. Genetics of inherited cardiomyopathy. *Eur Heart J* 2012; 33: 296–304
- Fatkin D, Otway R, Richmond Z. Genetics of dilated cardiomyopathy. *Heart Fail Clin* 2010; 6: 129–140
- R. Weichenhan, T.M. Strom, A. Pfeufer et al. Cardiomyopathies. Targeted Next-Generation Sequencing for the Molecular Genetic Diagnostics of Cardiomyopathies. *J Circ Cardiovasc Genet* 2011; 4: 110–122
- Van Berlo JH, Meune C, Anselme F et al. Meta-analysis of clinical characteristics of 299 carriers of LMNA gene mutations: do lamin A/C mutations portend a high risk of sudden death? *J Mol Med* 2005; 83: 79–83
- Pasotti M, Klersy C, Pilotto A, et al. Long-term outcome and

- risk stratification in dilated cardiomyopathies. *J Am Coll Cardiol* 2008; 52: 1250-1260.
30. Ph.Charron, E. Arbustini, G. Bonne. What Should the Cardiologist know about Lamin Disease? *Arrhythmia & Electrophysiology* 2012; 1: 22-28
 31. Parks SB, Kushner JD, Nauman D et al. Lamin A/C mutation analysis in a cohort of 324 unrelated patients with idiopathic or familial dilated cardiomyopathy. *A. Heart J* 2008; 56: 161-169
 32. Meune C, Van Berlo JH, Anselme F et al. Primary prevention of sudden death in patients with lamin A/C gene mutations. *N Engl J Med* 2006; 354: 209-210
 33. Fernandez X, Dumont CA, Monserrat L et al. Sudden death in a patient with lamin A/C gene mutation and near normal left ventricular systolic function. *Int J Cardiol* 2008; 126: 136-137
 34. Ehlermann P, Lehrke S, Papavassiliu T, et al. Sudden cardiac death in a patient with lamin A/C mutation in the absence of dilated cardiomyopathy or conduction disease. *Clin Res Cardiol* 2011; 100: 547-551
 35. Van Rijsingen IA, Arbustini E, Elliott PM, et al. Risk factors for malignant ventricular arrhythmias in lamin A/C mutation carriers a European cohort study. *J Am Coll Cardiol* 2012; 59: 493-500
 36. Charron P, Arad M, Arbustini E, et al. Genetic counselling and testing in cardiomyopathies: a position statement of the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J* 2010; 1: 2715-2726
 37. Frey N, Katus HA. Dilated cardiomyopathy as a genetic disease: molecular and clinical aspects. *Internist* 2008; 49: 43-50
 38. Hershberger RE, Morales A, Siegfried JD. Clinical and genetic issues in dilated cardiomyopathy: A review for genetics professionals. *Genet. Med* 2010; 12: 655-667
 39. Jacoby D, McKenna WJ. Genetics of inherited cardiomyopathy. *Eur. Heart J* 2012; 33: 296-304
 40. Fatkin D, Otway R, Richmond Z. Genetics of dilated cardiomyopathy. *Heart Fail. Clin* 2010; 6: 129-140
 41. Hugh Watkins, Houman Ashrafian, D.Phil., Charles Fedwood. Inherited Cardiomyopathies. *New Engl. J Medicine* 2011; 364(17): 1643-1656
 42. Hershberger RE, Siegfried JD. Update 2011: clinical and genetic issues in familial dilated cardiomyopathy. *J Am. Coll. Cardiol* 2011; 57: 1641-1649
 43. Вайханская Т.Г., Сивицкая Л.Н, Даниленко Н.Г. и соавт. Что должен знать сегодня кардиолог о дилатационной кардиомиопатии, связанной с мутацией гена ламина (LMNA)? *Кардиология в Беларуси* 2013; 4 (29): 64-81.