Оригинальные исследования

© ИВАНОВА А. А., МАКСИМОВ В. Н., КОЛЕСНИК К. Н., САВЧЕНКО С. В., ВОЕВОДА М. И.

УДК 616.12

ИССЛЕДОВАНИЕ СВЯЗИ МУТАЦИЙ *D4301N* И *I22160T* ГЕНА *TTN* С ВНЕЗАПНОЙ СЕРДЕЧНОЙ СМЕРТЬЮ

А. А. Иванова¹, В. Н. Максимов^{1,3}, К. Н. Колесник¹, С. В. Савченко^{3,4}, М. И. Воевода^{1,2}

¹Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины, Новосибирск, директор – член-корр. РАН М. И. Воевода; ²Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики

Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, директор – академик РАН Н. А. Колчанов;

³ФГБОУ ВО Новосибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения РФ, ректор – д. м. н., проф. И. О. Маринкин; ⁴Новосибирское областное клиническое бюро судебно-медицинской экспертизы, начальник – д. м. н., проф. В. П. Новоселов.

Цель исследования. Поиск и изучение ассоциации с внезапной сердечной смертью (ВСС) в популяции г. Новосибирска ультраредких мутаций *D4301N* (*rs767084399*) и *I22160T* (*rs727505175*) гена *TTN*, выявленных методом полноэкзомного секвенирования (Whole Exome Next-Generation DNA Sequencing) в случаях внезапной смерти, произошедшей по неизвестной причине.

Материалы и методы. Группа внезапной сердечной смерти (ВСС) сформирована с использованием критериев ВОЗ и Европейского общества кардиологов ($n=381$, средний возраст пациентов – $53,3 \pm 8,8$ года, мужчины – 72,7 %, женщины – 27,3 %). Контрольная группа подобрана по полу и возрасту из банка ДНК международных проектов HAPIEE (Health, Alcohol and Psychosocial factors In Eastern Europe), MONICA (Multinational MONItoring of trends and determinants in CARdiovascular disease) ($n=377$, средний возраст – $53,1 \pm 8,3$ года, мужчины – 68,3 %, женщины – 31,7 %). Выделение ДНК проводили методом фенол-хлороформной экстракции из ткани миокарда в группе ВСС, и венозной крови в контрольной группе. Генотипирование выполняли методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом полиморфизма глин рестрикционных фрагментов по оригинальной методике.

Результаты. В группе ВСС и контрольной группе не выявлено носителей редкого аллеля А мутации *D4301N* и редкого аллеля С мутации *I22160T* гена *TTN*.

Заключение. Мутации *D4301N* и *I22160T* гена *TTN* не связаны с ВСС в исследуемой выборке внезапно умерших жителей г. Новосибирска.

Ключевые слова: внезапная сердечная смерть, одонуклеотидный полиморфизм, *TTN*, *rs767084399*, *rs727505175*.

THE RESEARCH OF RELATIONS *D4301N* AND *I22160T* *TTN* GENE MUTATIONS TO SUDDEN CARDIAC DEATH

A. A. Ivanova¹, V. N. Maksimov^{1,3}, K. N. Kolesnik¹, S. V. Savchenko^{3,4}, M. I. Voevoda^{1,2}

¹Institution of Internal and Preventive Medicine, Novosibirsk 630089, Russian Federation;

²Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk 630090, Russian Federation; ³Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk 630091, Russian Federation;

⁴Novosibirsk Regional Office of Forensic Medical Examination, Novosibirsk 630087, Russian Federation.

Aim of the research. To search and study the association with sudden cardiac death (SCD) in the Novosibirsk population of ultra rare mutations *D4301N* (*rs767084399*) and *I22160T* (*rs727505175*) *TTN* gene identified by whole exome sequencing (Whole Exome Next-Generation DNA Sequencing) in cases of sudden death that occurred on unknown reason.

Materials and methods. SCD Group was formed using the WHO criteria for sudden cardiac death and the European Society of Cardiology ($n = 381$, mean age $53,3 \pm 8,8$ years, men – 72.7 %, women – 27.3 %). The control group was chosen by sex and age from the DNA bank of international projects HAPIEE (Health, Alcohol and Psychosocial factors In Eastern Europe), MONICA (Multinational MONItoring of trends and determinants in CARDiovascular disease) ($n = 377$, mean age $53.1 \pm 8,3$ years, men – 68.3 %, women – 31.7 %). DNA extraction was performed by a phenol-chloroform extraction from myocardial tissue in SCD group, and venous blood in the control group. Genotyping was performed by polymerase chain reaction followed by analysis of restriction fragment length polymorphism by the original method.

Results. Under the SCD and the control group were not found carriers of the rare allele A D4301N mutation and rare allele C with mutation I22160T TTN gene.

Conclusion. Mutations D4301N and I22160T TTN gene is not associated with sudden cardiac death in the studied selection of suddenly died inhabitants of Novosibirsk.

Key words: sudden cardiac death, single nucleotide polymorphism, TTN, rs767084399, rs727505175.

Введение

Внезапная смерть определяется Европейским обществом кардиологов как нетравматическая, неожиданная смерть, наступившая в течение одного часа (24 часов при отсутствии свидетелей смерти) с момента возникновения симптомов у человека, состояние которого ранее оценивалось как стабильное. Термин «внезапная сердечная смерть» используется в случаях, если врожденное или приобретенное, потенциально смертельное заболевание сердца было известно при жизни умершего, или на аутопсии обнаружено заболевание сердца/сосудов, которое, возможно, привело к летальному исходу, или в ходе проведения качественного посмертного исследования не выявлено экстракардиальных причин развития внезапного летального исхода, и тогда, предположительно, смерть является аритмической [22].

В Соединенных Штатах Америки число лиц умерших внезапной сердечной смертью (ВСС) насчитывает около 360000 человек ежегодно [3]. В России учет количества внезапных сердечных смертей не проводится, но стоит отметить, что Российская Федерация занимает одно из лидирующих мест в мире по смертности населения от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). При этом до 50% летальных исходов вследствие ССЗ составляет внезапная сердечная смерть

[3, 6]. Мужчины умирают внезапной сердечной смертью чаще, чем женщины (6,68 и 1,4 человека на 100000 населения в год, соответственно). С возрастом число умерших внезапной сердечной смертью увеличивается, достигая пика после 40 лет [7]. В большинстве случаев в основе развития внезапной сердечной смерти лежит ишемическая болезнь сердца, у 15% больных которой внезапный летальный исход является первым симптомом болезни [23]. Реже внезапная сердечная смерть развивается на фоне кардиомиопатий (преимущественно гипертрофической и дилатационной) и синдромов нарушения ритма сердца. Несмотря на то, что риск развития внезапной сердечной смерти наивысший у лиц перенесших остановку сердца, инфаркт миокарда, или имеющих сердечную недостаточность в анамнезе, до 80% внезапных сердечных смертей развиваются у пациентов с асимптомным течением какого-либо сердечно-сосудистого заболевания [23].

Персонализированный подход к каждому пациенту открывает новые горизонты для современной медицины [7]. Идентификация лиц группы высокого риска развития внезапной сердечной смерти очень важна в отношении проведения качественной профилактики внезапного летального исхода [5]. Однако в связи с тем, что большинство случаев внезапных сердечных смертей происходит у лиц

без очевидных факторов риска по данной нозологии или бессимптомным течением сердечно-сосудистой патологии, полноценное выявление лиц, входящих в группу высокого риска становится сложной задачей [7]. Так как внезапная сердечная смерть является мультифакториальной нозологией, активно изучается молекулярно-генетическая основа ее развития, проводится поиск молекулярно-генетических маркеров, которые могут быть в дальнейшем использованы с целью идентификации лиц высокого риска внезапной сердечной смерти и проведения качественной лечебно-профилактической работы для предотвращения ее наступления. Научно-исследовательские проекты по поиску молекулярно-генетических маркеров внезапной сердечной смерти представляют собой исследования дизайна случай-контроль, в которых на причастность к внезапной сердечной смерти проверяются конкретные однонуклеотидные полиморфизмы генов. В связи с развитием молекулярной генетики и биоинформатики становится всё более распространенным исследование внезапной сердечной смерти с помощью метода секвенирования следующего поколения, также популярными остаются и полногеномные ассоциативные исследования. Однако результаты, полученные в исследованиях современными высокотехнологичными молекулярно-генетическими методами, требуют проверки в проектах дизайна случай-контроль, в которых не всегда удается подтвердить сделанные современными методами находки. Кроме того, стоит отметить необходимость проведения собственных молекулярно-генетических исследований, поскольку генетическая гетерогенность разных популяционных, возрастных, половых групп не позволяет вслепую экстраполировать результаты зарубежных исследований на собственную популяцию.

На сегодняшний день существует несколько исследований внезапной сердечной смерти

методами секвенирования следующего поколения [2, 11, 12, 18, 24]. В ходе данных исследований были получены новые ранее неизвестные молекулярно-генетические маркеры внезапной сердечной смерти, что является важным шагом для понимания молекулярно-генетической основы и патогенеза внезапной сердечной смерти. Выявленные однонуклеотидные полиморфизмы и мутации требуют проверки причастности к внезапной сердечной смерти в определенных половых, возрастных и этнических популяционных группах.

Мутации D4301N и I22160T гена *TTN* были обнаружены в ходе проведения посмертного полноэкзомного секвенирования и ген-специфичного анализа 117 генов-кандидатов внезапной смерти у 14 внезапно умерших по неизвестной причине лиц европеоидной расы (средний возраст $17,4 \pm 8,6$ лет). В среднем в каждом случае внезапной смерти было выявлено 12758 ± 2016 несинонимичных вариантов, из которых 79 ± 15 локализованы в исследуемых 117 генах-кандидатах. В числе ультраредких однонуклеотидных вариантов, которые отсутствуют в доступных экзомных базах данных, выявлены мутации D4301N и I22160T гена *TTN* [19]. Таким образом, целью данного исследования является проверка ассоциации мутаций D4301N и I22160T гена *TTN* с внезапной сердечной смертью в выборке умерших внезапной сердечной смертью жителей г. Новосибирска.

Материалы и методы

Группа внезапной сердечной смерти сформирована с использованием критериев внезапной сердечной смерти ВОЗ и Европейского общества кардиологов [22]. В группу включено 379 внезапно умерших вне лечебно-профилактических учреждений жителей Октябрьского района г. Новосибирска. В ходе проведения стандартного судебно-медицинского исследования на базе ГБУЗ НСО «НОКБСМЭ» у умерших забирались ткани

миокарда массой 5-10 г, которая хранилась в дальнейшем при температуре -20°C до этапа выделения ДНК. Средний возраст лиц включенных в группу ВСС составил $53,2 \pm 8,7$ года (мужчины – 70,9 %, женщины – 29,1 %). По данным аутопсии смерть лиц включенных в группу ВСС была расценена, как смерть сердечного генеза. Основные патологоанатомические диагнозы протоколов судебно-медицинского исследования – острая коронарная недостаточность и острая недостаточность кровообращения. Патологоанатомический диагноз острая коронарная недостаточность входит в клиническое понятие внезапной сердечной смерти, и предполагает, что летальный исход развився в течение 6-8 часов с момента возникновения острого спазма коронарных артерий, который не разрешился [14]. Диагноз острая недостаточность кровообращения предполагает, что летальный исход наступил вследствие неспособности сердца обеспечить адекватное кровоснабжение органов и тканей, однако причина развития данного состояния не была установлена после проведения качественного патологоанатомического исследования, так называемая внезапная сердечная смерть – диагноз исключения [14, 22]. Из группы ВСС исключены: лица с морфологическими изменениями ткани сердца характерными для инфаркта миокарда, поскольку согласно МКБ-10 смерть по причине ИМ не относится к ВСС; лица, находящиеся в состоянии алкогольного или наркотического опьянения, которое могло послужить причиной развития летального исхода или способствовать его развитию на фоне имеющейся кардиальной патологии; лица с патологоанатомическим диагнозом гипертрофическая/дилатационная кардиомиопатия.

Контрольная группа сформирована из жителей того же района города ($n = 377$), соответствующего пола и возраста. Лица, включенные в контрольную группу – участники международных исследований Multinational MONItoring of trends and

determinants in Cardiovascular disease (MONICA) и Health, Alcohol and Psychosocial factors In Eastern Europe (HAPIEE). В ходе проведения данных проектов у участников была забрана венозная кровь в пробирки с 0,5М ЭДТА, которая хранилась при температуре -20°C до этапа выделения ДНК. Средний возраст лиц в группе контроля $53,1 \pm 8,3$ года (мужчины – 68,3 %, женщины – 31,7%).

Выделение ДНК осуществлялось методом фенол-хлороформной экстракции из ткани миокарда лиц, включенных в группу ВСС, и венозной крови лиц, включенных в контрольную группу.

Генотипирование групп по мутациям *D4301N* и *I22160T* гена *TTN* проводилось с использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов по оригинальной методике.

Для генотипирования по *D4301N* гена *TTN* использовали праймеры: 5'-GAGAATAAACTGGTGCCTTCA-3' (F) и 5'-CAGACATACTCTCC-TTGATGGTCT-3' (R). Смесь для ПЦР объемом 25 мкл включала: Трис-HCl (pH 9,0) 75 мМ, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 20 мМ, Tween-20 0,01%, 2,5 мМ MgCl_2 , по 0,4 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единицу активности Taq-ДНК-полимеразы («Сиб-Энзим», Новосибирск). Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 33 цикла, включающих денатурацию 95°C 30 секунд, отжиг праймеров 58°C 30 секунд и элонгацию 72°C 30 секунд. Рестрикцию проводили с 10 единицами активности рестриктазы TaqI («СибЭнзим», Новосибирск). Детекцию продуктов амплификации и рестрикции осуществляли методом электрофореза в 5% полиакриламидном геле с последующим окрашиванием бромистым этидием (EtBr). Размер продукта амплификации 114 п.н. После проведения рестрикции при генотипе AA детектировался продукт 114 п.н., при GG генотипе – продукты 71

п.н. и 39 п.н., при гетерозиготном генотипе AG все перечисленные продукты: 114 п.н., 71 п.н., 39 п.н.

Для генотипирования по I22160T гена *TTN* использовали праймеры: 5'- CTCACTGGAAT-TACCAATCAGCGTA -3' (F) и 5'- GCTGTCCTT-TACAGTCAGTGTGG -3' (R). Смесь для ПЦР объемом 25 мкл включала: Трис-HCl (pH 9,0) 75 mM, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 20mM, Tween-20 0,01%, 3,0 mM MgCl_2 , по 0,3 mM каждого праймера, 0,3 mM смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единицу активности Taq-ДНК-полимеразы («СибЭнзим», Новосибирск). Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 33 цикла, включающих денатурацию 95°C 30 секунд, отжиг праймеров 60°C 30 секунд и элонгацию 72°C 30 секунд. Рестрикцию проводили с 10 единицами активности рестриктазы RsaI («СибЭнзим», Новосибирск). Детекцию продуктов амплификации и рестрикции осуществляли методом электрофореза в 5% полиакриламидном геле с последующим окрашиванием бромистым этидием (EtBr). Размер продукта амплификации 186 п.н. После проведения рестрикции при генотипе TT детектировались продукты 124 п.н. и 62 п.н., при CC генотипе - продукты 124 п.н., 38 п.н. и 22 п.н., при гетерозиготном генотипе TC все перечисленные продукты: 124 п.н., 62 п.н., 38 п.н. и 22 п.н.

Результаты и обсуждение

В ходе генотипирования группы лиц умерших ВСС и контрольной группы не было выявлено носителей редкого аллеля А мутации D4301N и редкого аллеля С мутации I22160T гена *TTN*. Все лица, включенные в исследование, имеют генотип GG по мутации D4301N и TT по мутации I22160T гена *TTN* (табл. 1).

В основе исследования лежит предположение,

что мутации D4301N и I22160T гена *TTN* могут быть связаны с внезапной сердечной смертью в исследуемой выборке, так как они были обнаружены в ходе зарубежного исследования 14 случаев внезапной смерти, произошедших по необъясненной причине методом полноэкзомного секвенирования следующего поколения. Обе миссенс-мутации отсутствуют в доступных экзомных базах данных. При этом миссенс-мутация I22160T-*TTN* является предположительно патогенной по данным трех предиктивных платформ (Polyphen2, Provean, Mutation Assessor). Тогда как мутация D4301N-*TTN* по данным этих же платформ является доброкачественной. Мутация D4301N выявлена в случае внезапно умершей во сне женщины в возрасте 25 лет, смерть которой по данным аутопсии была расценена как аритмическая, при судебно-медицинском исследовании обнаружены очаги миокардиального фиброза и гипертрофия кардиомиоцитов. Мутация I22160T обнаружена в случае 29-летнего мужчины умершего при неизвестных обстоятельствах, по данным аутопсии причиной летального исхода явилась ишемическая болезнь сердца, отмечено сужение просвета и утолщение стенки коронарных артерий [19].

Мутации D4301N и I22160T локализованы в гене *TTN*, который кодирует белок титин – крупнейший белок саркомера поперечно-полосатых мышц [15].

Таблица 1

Частоты генотипов мутации D4301N и I22160T гена *TTN* в исследуемых группах

Ген	Мутация	Генотип	ВСС		Контрольная группа	
			n	%	n	%
<i>TTN</i>	D4301N	GG	379	100,0	377	100,0
		GA	0	0	0	0
		AA	0	0	0	0
		Итого:	379	100,0	377	100,0
	I22160T	TT	379	100,0	377	100,0
		TC	0	0	0	0
		CC	0	0	0	0
		Итого:	379	100,0	377	100,0

Ген *TTN* расположен на длинном плече 2-й хромосомы (2q31), состоит из 364 экзонов и является одним из крупнейших генов человека. Альтернативный сплайсинг гена реализуется в образовании трех изоформ белка титина: N2B (3,0 МДа), N2BA (3,2-3,7 МДа) и FCT (фетальный кардиальный титин, ~3,7 МДа). Изоформы состоят из четырех регионов: Z-линии (прикрепление к Z-диску саркомера), I-бэнда (ответственен за эластичность), A-бэнда (стабилизатор для толстых миофиламентов), и M-линии (прикрепление к M-линии саркомера, перекрывается с другой молекулой титина в антипараллельной ориентации, модулятор экспрессии титина). Также титин содержит сайты связывания для других протеинов. A-бэнд представляет собой повторы иммуноглобулинов и фибронектина. I-бэнд содержит два tandemных региона иммуноглобулинов по обе стороны от PEVK-региона, богатого пролином, глутаматом, валином и лизином [16]. Последовательность I-бэнда определяет свойства каждой изоформы, тогда как все остальные три составляющие белка являются строго консервативными для всех изоформ. Чем более эластичен I-бэнд, тем меньше пассивное напряжение кардиомиоцитов. Для изоформы N2BA характерна большая эластичность I-бэнда по сравнению с N2B [9]. Показано, что изменение соотношения изоформ белка приводит к развитию кардиальной патологии. В моделях на животных в случае дилатационной кардиомиопатии индуцированной тахикардией выявлено увеличение количества изоформы N2B, в гипертензионной модели выявлено уменьшение соотношения изоформ N2BA/N2B. При биопсии левого желудочка у пациентов с диастолической сердечной недостаточностью также отмечено уменьшение соотношения изоформ N2BA/N2B. У пациентов с хронической сердечной недостаточностью на фоне ишемической болезни сердца уровень N2BA составляет около 50%, тогда как в левом желудочке

лиц из контрольной группы его содержание около 30%. Повышение соотношения N2BA/N2B выявлено в случае неишемической дилатационной кардиомиопатии. Обнаружен специфический фактор — РНК-связывающий мотив 20 (Rbm20), который играет главную роль в регуляции альтернативного сплайсинга титина. У нокаутированных по Rbm20 мышей экспрессируется крупная изоформа титина (около 3,8 МДа), наиболее растяжимая, связанная с развитием дилатационной кардиомиопатии [25]. Мутации Rbm20 также ассоциированы с экспрессией более растяжимого белка и развитием дилатационной кардиомиопатии [1].

Известные мутации в гене *TTN* связывают с развитием дилатационной (25% семейных форм и 18% спорадических) и гипертрофической кардиомиопатий [8, 13]. Также с мутациями в гене *TTN* ассоциированы случаи аритмогенной правожелудочковой и рестриктивной кардиомиопатий [9, 20]. Показана связь мутаций гена с редкими формами миопатий. Например, гетерозиготное носительство делеции/инсерции 11 п.н. в позиции 293269-293279 гена (rs281864927) связано с развитием поздней тибиальной мышечной дистрофии. В случае гомозиготного носительства этой же мутации развивается мышечная дистрофия LIMB-GIRDLE [10]. Мутация ARG279TRP (rs138060032) ассоциирована с развитием наследственной миопатии с ранней дыхательной недостаточностью [17]. Делеции 1 п. н. в 380 экзоне (291394delA, rs587776772) и 8 п.н. в 358 экзоне гена (289385delACCAAGTG, rs199469665) в гомозиготном состоянии вызывают раннюю миопатию с развитием фатальной кардиомиопатии [4].

Мутация D4301N (rs767084399, с.12901G>A) гена связана с заменой аспарагиновой кислоты на аспарагин в 4301 позиции аминокислотной последовательности белка титина (p.Asp4301Asn). Данная позиция аминокислотной последовательности белка титина принадлежит

иммуноглобулину подсемейства промежуточных (I-set) иммуноглобулинов, которые часто встречаются в составе мышечных белков [21].

Мутация I22160T (rs727505175, c.66479T>C) гена связана с заменой изолейцина на треонин в 22160 позиции аминокислотной последовательности белка титина (p.Ile22160Thr). Также как и в случае мутации D4301N позиция 22160 аминокислотной последовательности белка титина принадлежит иммуноглобулину.

Мутации D4301N и I22160T отсутствуют в доступных экзомных базах данных, они не были изучены на предмет ассоциации с каким-либо заболеванием после их обнаружения в зарубежном исследовании методом полноэкзомного секвенирования следующего поколения. Обе мутации являются несинонимичными, миссенс-мутациями, которые связаны с заменой одной аминокислоты на другую в аминокислотной последовательности белка титина. Предположительно, мутация I22160T является возможно патогенной, тогда как мутация D4301N предположительно является доброкачественной. Аминокислотные замены касаются структуры иммуноглобулинов, имеющих в составе I- и A-бэндов белка титина. Известные мутации гена связаны с развитием кардиомиопатий, и реже миопатий. Возможно, что исследуемые мутации гена D4301N и I22160T также реализуют свой вклад в патогенез внезапной сердечной смерти через развитие кардиомиопатий. В случае мутации D4301N гена *TTN* в зарубежном исследовании на аутопсии выявлена гипертрофия кардиомиоцитов, что косвенно может говорить о подтверждении данного предположения. Возможно, что поскольку из исследуемой группы ВСС были исключены лица с патологоанатомическим диагнозом гипертрофическая/дилатационная кардиомиопатия, не удалось подтвердить ассоциацию мутаций D4301N и I22160T гена *TTN* с внезапной сердечной смертью в исследуемой выборке.

Но это не исключает возможность того, что мутации D4301N и I22160T гена *TTN* могут быть связаны кардиомиопатией и/или внезапной сердечной смертью причиной которой она является.

Заключение

В ходе проведенного исследования не было выявлено случаев D4301N-*TTN* и I22160T-*TTN* ассоциированной внезапной сердечной смерти. Мутации D4301N и I22160T гена *TTN* не связаны с внезапной сердечной смертью в исследуемой выборке внезапно умерших жителей г. Новосибирска.

Благодарности

Авторы выражают глубокую признательность академику Юрию Петровичу Никитину и профессору Софье Константиновне Малютиной за предоставленную возможность сформировать контрольную группу на материале когорт HAPIEE и MONICA.

Работа поддержана грантом РФФИ № 16-34-00147.

Литература

1. Beqqali A., Bollen I.A., Rasmussen T.B., van den Hoogenhof M.M., van Deutekom H.W., Schafer S., Haas J., Meder B., Sørensen K.E., van Oort R.J., Mogenssen J., Hubner N., Creemers E.E., van der Velden J., Pinto Y.M. A Mutation in the Glutamate-rich Region of RBM20 Causes Dilated Cardiomyopathy through Missplicing of Titin and Impaired Frank-Starling Mechanism // *Cardiovasc. Res.* – 2016. – Vol. 121, № 1. – P. 452-463.
2. Brion M., Blanco-Verea A., Sobrino B., Sanctori M., Gil R., Ramos-Luis E., Martinez M., Amigo J., Carracedo A. Next generation sequencing challenges in the analysis of cardiac sudden death due to arrhythmogenic disorders // *Electrophoresis.* – 2014. – Vol. 353. – P. 111-116.
3. Buxton A.E., Waks J.W., Shen C., Chen P.S. Risk stratification for sudden cardiac death in North

- America — current perspectives // *J. Electrocardiol.* — 2016. — DOI:10.1016/j.jelectrocard.2016.07.018.
4. Carmignac V., Salih M.A.M., Quijano-Roy S., Marchand S., Al Rayess M.M., Mukhtar M.M., Urtizberea J.A., Labeit S., Guicheney P., Leturcq F., Gautel M., Fardeau M., Campbell K.P., Richard I., Estournet B., Ferreira A. C-terminal titin deletions cause a novel early-onset myopathy with fatal cardiomyopathy // *Ann. Neurol.* — 2007. — Vol. 61. — P. 340-351.
5. Eranti A., Aro A.L., Kenttä T., Holkeri A., Tikkanen J.T., Junttila M.J., Huikuri H.V. 12-lead electrocardiogram as a predictor of sudden cardiac death: from epidemiology to clinical practice // *Scand. Cardiovasc. J.* — 2016. — Vol. 10. — P. 1-7.
6. European detailed mortality database (DMDb) [Electronic resource]. Available from: <http://data.euro.who.int/dmdb/> (cited 2016 Jan 30).
7. Faragli A., Underwood K., Priori S.G., Mazzanti A. Is There a Role for Genetics in the Prevention of Sudden Cardiac Death? // *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* — 2016. — DOI:10.1111/jce.13028.
8. Gerull B., Gramlich M., Atherton J., McNabb M., Trombitas K., Sasse-Klaassen S., Seidman J.G., Seidman C., Granzier H., Labeit S., Frenneaux M., Thierfelder L. Mutations of *TTN*, encoding the giant muscle filament titin, cause familial dilated cardiomyopathy // *Nature Genet.* — 2002. — Vol. 30. — P. 201-204.
9. Gigli M., Begay R.L., Morea G., Graw S.L., Sinagra G., Taylor M.R., Granzier H., Mestroni L. A Review of the Giant Protein Titin in Clinical Molecular Diagnostics of Cardiomyopathies // *Front. Cardiovasc. Med.* — 2016. — Vol. 21, № 3. — P. 21.
10. Hackman P., Vihola A., Haravuori H., Marchand S., Sarparanta J., de Seze J., Labeit S., Witt C., Peltonen L., Richard I., Udd B. Tibial muscular dystrophy is a titinopathy caused by mutations in *TTN*, the gene encoding the giant skeletal-muscle protein titin // *Am. J. Hum. Genet.* — 2002. — Vol. 71. — P. 492-500.
11. Hata Y., Kinoshita K., Mizumaki K., Yamaguchi Y., Hirono K., Ichida F., Takasaki A., Mori H., Nishida N. Postmortem genetic analysis of sudden unexplained death syndrome under 50 years of age: A next-generation sequencing study // *Heart Rhythm.* — 2016. — Vol. 13, № 7. — P. 1544-1551.
12. Hertz C.L., Christiansen S.L., Ferrero-Miliani L., Fordyce S.L., Dahl M., Holst A.G., Ottesen G.L., Frank-Hansen R., Bundgaard H., Morling N. Next-generation sequencing of 34 genes in sudden unexplained death victims in forensics and in patients with channelopathic cardiac diseases // *Int. J. Legal. Med.* — 2015. — Vol. 129, № 4. — P. 793-800.
13. Hinson J.T., Chopra A., Nafissi N., Polacheck W.J., Benson C.C., Swist S., Gorham J., Yang L., Schafer S., Sheng C.C., Haghighi A., Homsy J., Hubner N., Church G., Cook S.A., Linke W.A., Chen C.S., Seidman J.G., Seidman C.E. Titin mutations in iPSCs define sarcomere insufficiency as a cause of dilated cardiomyopathy // *Science.* — 2015. — Vol. 349. — P. 982-986.
14. Kakturskij L.V., Rybakova M.G., Kuznecova I.A. Sudden cardiac death: morphological diagnostic. — SPb, 2008. — P. 21-22.
15. Krüger M., Kötter S. Titin, a Central Mediator for Hypertrophic Signaling, Exercise-Induced Mechanosignaling and Skeletal Muscle Remodeling // *Front. Physiol.* — 2016. — Vol. 7. — P. 76.
16. Kumar S., Mishra A., Srivastava A., Bhatt M., Garg N., Agarwal S.K., Pande S., Mittal B. Role of common sarcomeric gene polymorphisms in genetic susceptibility to left ventricular dysfunction // *J. Genet.* — 2016. — Vol. 95, № 2. — P. 263-272.
17. Lange S., Xiang F., Yakovenko A., Vihola A., Hackman P., Rostkova E., Kristensen J., Brandmeier B., Franzen G., Hedberg B., Gunnarsson L.G., Hughes S.M., Marchand S., Sejersen T., Richard I., Edstrom L., Ehler E., Udd B., Gautel M. The kinase domain of titin controls muscle gene expression and protein turnover // *Science.* — 2005. — Vol. 308. — P. 1599-1603.

18. Loporcaro C.G., Tester D.J., Maleszewski J.J., Kruisselbrink T., Ackerman M.J. Confirmation of cause and manner of death via a comprehensive cardiac autopsy including whole exome next-generation sequencing // *Arch. Pathol. Lab. Med.* — 2014. — Vol. 138, № 8. — P. 1083-1089.

19. Narula N., Tester D.J., Paulmichl A., Maleszewski J.J., Ackerman M.J. Post-mortem Whole exome sequencing with gene-specific analysis for autopsy-negative sudden unexplained death in the young: a case series // *Pediatr. Cardiol.* — 2015. — Vol. 36, № 4. — P. 768-778.

20. Neiva-Sousa M., Almeida-Coelho J., Falcão-Pires I., Leite-Moreira A.F. Titin mutations: the fall of Goliath // *Heart Fail. Rev.* — 2015. — Vol. 20, № 5. — P. 579-588.

21. Pernigo S., Fukuzawa A., Pandini A., Holt M., Kleinjung J., Gautel M., Steiner R.A. The crystal structure of the human titin:obscurin complex reveals a conserved yet specific muscle M-band zipper module // *J. Mol. Biol.* — 2015. — Vol. 427, № 4. — P. 718-736.

22. Priori S.G., Aliot E., Blomstrom-Lundqvist C., Blom N., Borggrefe M., Camm J., Elliott P.M., Fitzsimons D., Hatala R., Hindricks G., Kirchhof P., Kjeldsen K., Kuck K.H., Hernandez-Madrid A., Nikolaou N., Norekvål T.M., Spaulding C., Van Veldhuisen D.J.. The Task Force for the Management of Patients with Ventricular Arrhythmias and the Prevention of Sudden Cardiac Death of the European Society of Cardiology (ESC) // *G. Ital. Cardiol.* — 2016. — Vol. 17, № 2. — P. 108-170.

23. Sanchis-Gomar F., Perez-Quilis C., Leischik R. Lucia A. Epidemiology of coronary heart disease and acute coronary syndrome // *Ann. Transl. Med.* — 2016. — Vol. 4, № 13. — P. 256.

24. Tan Z.P., Xie L., Deng Y., Chen J.L., Zhang W.Z., Wang J., Yang J.F., Yang Y.F. Whole-exome sequencing identifies Y1495X of SCN5A to be

associated with familial conduction disease and sudden death // *Sci Rep.* — 2014. — Vol. 4. — P. 5616.

25. Yin Z., Ren J., Guo W. Sarcomeric protein isoform transitions in cardiac muscle: a journey to heart failure // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2015. — Vol. 1852, № 1. — P. 47-52.

References

1. Beqqali A., Bollen I.A., Rasmussen T.B., van den Hoogenhof M.M., van Deutekom H.W., Schafer S., Haas J., Meder B., Sørensen K.E., van Oort R.J., Mogensen J., Hubner N., Creemers E.E., van der Velden J., Pinto Y.M. A Mutation in the Glutamate-rich Region of RBM20 Causes Dilated Cardiomyopathy through Missplicing of Titin and Impaired Frank-Starling Mechanism // *Cardiovasc. Res.* — 2016. — Vol. 121, № 1. — P. 452-463.

2. Brion M., Blanco-Verea A., Sobrino B., Santori M., Gil R., Ramos-Luis E., Martinez M., Amigo J., Carracedo A. Next generation sequencing challenges in the analysis of cardiac sudden death due to arrhythmogenic disorders // *Electrophoresis.* — 2014. — Vol. 353. — P. 111-116.

3. Buxton A.E., Waks J.W., Shen C., Chen P.S. Risk stratification for sudden cardiac death in North America — current perspectives // *J. Electrocardiol.* — 2016. — DOI:10.1016/j.jelectrocard.2016.07.018.

4. Carmignac V., Salih M.A.M., Quijano-Roy S., Marchand S., Al Rayess M.M., Mukhtar M.M., Urtizberea J.A., Labeit S., Guicheney P., Leturcq F., Gautel M., Fardeau M., Campbell K.P., Richard I., Estournet B., Ferreira A. C-terminal titin deletions cause a novel early-onset myopathy with fatal cardiomyopathy // *Ann. Neurol.* — 2007. — Vol. 61. — P. 340-351.

5. Eranti A., Aro A.L., Kenttä T., Holkeri A., Tikkanen J.T., Junttila M.J., Huikuri H.V. 12-lead electrocardiogram as a predictor of sudden cardiac death: from epidemiology to clinical practice // *Scand. Cardiovasc. J.* — 2016. — Vol. 10. — P. 1-7.

6. European detailed mortality database (DMDB) [Electronic resource]. Available from: <http://data.euro.who.int/dmdbContext/> (cited 2016 Jan 30).
7. Faragli A., Underwood K., Priori S.G., Mazzanti A. Is There a Role for Genetics in the Prevention of Sudden Cardiac Death? // *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* — 2016. — DOI:10.1111/jce.13028.
8. Gerull B., Gramlich M., Atherton J., McNabb M., Trombitas K., Sasse-Klaasnen S., Seidman J.G., Seidman C., Granzier H., Labeit S., Frenneaux M., Thierfelder L. Mutations of *TTN*, encoding the giant muscle filament titin, cause familial dilated cardiomyopathy // *Nature Genet.* — 2002. — Vol. 30. — P. 201-204.
9. Gigli M., Begay R.L., Morea G., Graw S.L., Sinagra G., Taylor M.R., Granzier H., Mestroni L. A Review of the Giant Protein Titin in Clinical Molecular Diagnostics of Cardiomyopathies // *Front. Cardiovasc. Med.* — 2016. — Vol. 21, № 3. — P. 21.
10. Hackman P., Vihola A., Haravuori H., Marchand S., Sarparanta J., de Seze J., Labeit S., Witt C., Peltonen L., Richard I., Udd B. Tibial muscular dystrophy is a titinopathy caused by mutations in *TTN*, the gene encoding the giant skeletal-muscle protein titin // *Am. J. Hum. Genet.* — 2002. — Vol. 71. — P. 492-500.
11. Hata Y., Kinoshita K., Mizumaki K., Yamaguchi Y., Hirono K., Ichida F., Takasaki A., Mori H., Nishida N. Postmortem genetic analysis of sudden unexplained death syndrome under 50 years of age: A next-generation sequencing study // *Heart Rhythm.* — 2016. — Vol. 13, № 7. — P. 1544-1551.
12. Hertz C.L., Christiansen S.L., Ferrero-Miliani L., Fordyce S.L., Dahl M., Holst A.G., Ottesen G.L., Frank-Hansen R., Bundgaard H., Morling N. Next-generation sequencing of 34 genes in sudden unexplained death victims in forensics and in patients with channelopathic cardiac diseases // *Int. J. Legal Med.* — 2015. — Vol. 129, № 4. — P. 793-800.
13. Hinson J.T., Chopra A., Nafissi N., Polacheck W.J., Benson C.C., Swist S., Gorham J., Yang L., Schafer S., Sheng C.C., Haghighi A., Homsy J., Hubner N., Church G., Cook S.A., Linke W.A., Chen C.S., Seidman J.G., Seidman C.E. Titin mutations in iPS cells define sarcomere insufficiency as a cause of dilated cardiomyopathy // *Science.* — 2015. — Vol. 349. — P. 982-986.
14. Kakturskij L.V., Rybakova M.G., Kuzneva I.A. Sudden cardiac death: morphological diagnostic. — SPb, 2008. — P. 21-22.
15. Krüger M., Kötter S. Titin, a Central Mediator for Hypertrophic Signaling, Exercise-Induced Mechanosignaling and Skeletal Muscle Remodeling // *Front. Physiol.* — 2016. — Vol. 7. — P. 76.
16. Kumar S., Mishra A., Srivastava A., Bhatt M., Garg N., Agarwal S.K., Pande S., Mittal B. Role of common sarcomeric gene polymorphisms in genetic susceptibility to left ventricular dysfunction // *J. Genet.* — 2016. — Vol. 95, № 2. — P. 263-272.
17. Lange S., Xiang F., Yakovenko A., Vihola A., Hackman P., Rostkova E., Kristensen J., Brandmeier B., Franzen G., Hedberg B., Gunnarsson L.G., Hughes S.M., Marchand S., Sejersen T., Richard I., Edstrom L., Ehler E., Udd B., Gautel M. The kinase domain of titin controls muscle gene expression and protein turnover // *Science.* — 2005. — Vol. 308. — P. 1599-1603.
18. Loporcaro C.G., Tester D.J., Maleszewski J.J., Kruisselbrink T., Ackerman M.J. Confirmation of cause and manner of death via a comprehensive cardiac autopsy including whole exome next-generation sequencing // *Arch. Pathol. Lab. Med.* — 2014. — Vol. 138, № 8. — P. 1083-1089.
19. Narula N., Tester D.J., Paulmichl A., Maleszewski J.J., Ackerman M.J. Post-mortem Whole exome sequencing with gene-specific analysis for autopsy-negative sudden unexplained death in the young:

a case series // *Pediatr. Cardiol.* – 2015. – Vol. 36, № 4. – P. 768-778.

20. Neiva-Sousa M., Almeida-Coelho J., Falcão-Pires I., Leite-Moreira A.F. Titin mutations: the fall of Goliath // *Heart Fail. Rev.* – 2015. – Vol. 20, № 5. – P. 579-588.

21. Pernigo S., Fukuzawa A., Pandini A., Holt M., Kleinjung J., Gautel M., Steiner R.A. The crystal structure of the human titin:obscurin complex reveals a conserved yet specific muscle M-band zipper module // *J. Mol. Biol.* – 2015. – Vol. 427, № 4. – P. 718-736.

22. Priori S.G., Aliot E., Blomstrom-Lundqvist C., Blom N., Borggrefe M., Camm J., Elliott P.M., Fitzsimons D., Hatala R., Hindricks G., Kirchhof P., Kjeldsen K., Kuck K.H., Hernandez-Madrid A., Nikolaou N., Norekvål T.M., Spaulding C., Van Veldhuisen D.J.. The Task Force for the Management of Patients with Ventricular Arrhythmias and the Prevention of Sudden Cardiac Death of the European Society of Cardiology (ESC) // *G. Ital. Cardiol.* – 2016. – Vol. 17, № 2. – P. 108-170.

23. Sanchis-Gomar F., Perez-Quilis C., Leischik R. Lucia A. Epidemiology of coronary heart disease and acute coronary syndrome // *Ann. Transl. Med.* – 2016. – Vol. 4, № 13. – P. 256.

24. Tan Z.P., Xie L., Deng Y., Chen J.L., Zhang W.Z., Wang J., Yang J.F., Yang Y.F. Whole-exome sequencing identifies Y1495X of SCN5A to be associated with familial conduction disease and sudden death // *Sci Rep.* – 2014. – Vol. 4. – P. 5616.

25. Yin Z., Ren J., Guo W. Sarcomeric protein isoform transitions in cardiac muscle: a journey to heart failure // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2015. – Vol. 1852, № 1. – P. 47-52.

Сведения об авторах

Иванова Анастасия Андреевна – младший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины.

Адрес: 630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1; тел. 8(383)2642516; e-mail: ivanova_a_a@mail.ru.

Максимов Владимир Николаевич – доктор медицинских наук, профессор кафедры медицинской генетики и биологии медико-профилактического факультета, ФГБОУ ВО Новосибирский государственный медицинский университет МЗ РФ, заведующий лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины.

Адрес: 630091, г. Новосибирск, ул. Красный проспект, 52; Российская Федерация, 630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1; тел. 8(383)2642516, e-mail: medik11@mail.ru.

Колесник Ксения Николаевна – младший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины.

Адрес: 630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1; тел. 8(383)2642516; e-mail: ksenya-kolesnik@mail.ru.

Савченко Сергей Владимирович – доктор медицинских наук, профессор кафедры судебной медицины лечебного факультета, ФГБОУ ВО Новосибирский государственный медицинский университет МЗ РФ, Новосибирское областное клиническое бюро судебно-медицинской экспертизы.

Адрес: 630091, г. Новосибирск, ул. Красный проспект, 52; 63008, г. Новосибирск, ул. Немирова-Данченко, 134; e-mail: dr.serg62@yandex.ru.

Воевода Михаил Иванович – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор, Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины, заведующий лабораторией молекулярной генетики человека, Федеральный исследовательский центр Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук.

Адрес: 630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1; 630090, г. Новосибирск, пр. академика Лаврентьева, 10; тел. 8(383)3730981; e-mail: mvovoda@yandex.ru.

Authors

Ivanova Anastasiya Andreevna – Junior Researcher of the Laboratory of Molecular genetic studies of internal diseases, Institution of Internal and Preventive Medicine.

Address: Russian Federation, 630089, Novosibirsk, st. B. Bogatkova, 175/1, tel. 8(383)2642516, e-mail: ivanova_a_a@mail.ru.

Maksimov Vladimir Nikolaevich – Doct. Med. Sc., Associate Professor, Professor of the Department of Medical genetics and biology at the medical-prophylactic faculty, Novosibirsk State Medical University; Head of the Laboratory of Molecular genetic studies of internal diseases, Institution of Internal and Preventive Medicine.

Address: Russian Federation, 630089, Novosibirsk, st. B. Bogatkova, 175/1; Russian Federation, 630091, Novosibirsk, Krasnyj prospect, 52, tel. 8(383)2642516, e-mail: medik11@mail.ru.

Kolesnik Kseniya Nikolaevna – Junior Researcher of the Laboratory of Molecular genetic studies of internal diseases, Institution of Internal and Preventive Medicine.

Address: Russian Federation, 630089, Novosibirsk, st. B. Bogatkova, 175/1, tel. 8(383)2642516, e-mail: ksenya-kolesnik@mail.ru.

Savchenko Sergey Vladimirovich – Doct. Med. Sc., Professor of the Department of Forensic Medicine at the medical faculty, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk Regional Office of Forensic Medical Examination.

Address: Russian Federation, 630091, Novosibirsk, Krasnyj prospect, 52; Russian Federation, 630087, Novosibirsk, st. Nemirovicha-danchenko, 134, e-mail: dr.serg62@yandex.ru.

Vovoda Mikhail Ivanovich – Doct. Med. Sc., Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director, Institution of Internal and Preventive Medicine, Head of the Laboratory of Molecular Human Genetics, Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences.

Address: Russian Federation, 630089, Novosibirsk, st. B. Bogatkova, 175/1; Russian Federation, 630090, Novosibirsk, prospect ak. Lavrenteva, 10, tel. 8(383)3730981, e-mail: mvovoda@yandex.ru.