



Обзор

Кардиомиопатии, ассоциированные с мутациями гена десмина: молекулярный патогенез и гентерапевтические подходы

Кочергин-Никитский К.С.¹ • Заклязьминская Е.В.^{2,3} • Лавров А.В.^{1,3} • Смирнихина С.А.¹

Кардиомиопатия – широко распространенная группа заболеваний сердечно-сосудистой системы. Генетически обусловленные кардиомиопатии связывают с нарушениями более чем в 100 различных генах, в том числе в гене *DES*, кодирующем белок десмин – один из основных белков промежуточных филаментов, обеспечивающих структурную и функциональную целостность миоцитов. Мутации в гене *DES* приводят к развитию десминзависимых кардиомиопатий, характеризующихся высокой степенью тяжести течения и неблагоприятным прогнозом. До настоящего времени специфического лечения кардиомиопатии не разработано. Имеющиеся консервативные и хирургические подходы направлены на замедление темпов прогрессирования сердечной недостаточности и профилактику внезапной сердечной смерти, но их эффективность ограничена. Развитие методов гентерапии и геномного

редактирования может способствовать созданию эффективных методов этиотропной терапии десминопатий. Опубликован ряд работ, посвященных применению методов гентерапии при кардиомиопатиях различной генетической природы, включая ассоциированные с мутациями в гене *DES*. В области терапии десминопатий методы геномного редактирования пока не используются. Тем не менее многообещающие результаты получены при использовании систем редактирования CRISPR/Cas9 и TALEN для коррекции “gain-of-function” мутаций в некоторых других генах, таких как *MYBPC3* и *PLN*. Имеются данные, указывающие на возможность улучшения симптоматики десминзависимой кардиомиопатии, вплоть до бессимптомного течения после нокаута мутантного аллеля с сохранением функции белка за счет экспрессии только нормального аллеля. Мы считаем, что подходы, основанные на

технологии геномного редактирования, представляют собой перспективное направление для разработки эффективных специфических методов лечения десминопатий.

Ключевые слова: кардиомиопатия, десмин, десминопатия, медицинская генетика, геновая терапия, геномное редактирование, CRISPR/Cas9

Для цитирования: Кочергин-Никитский КС, Заклязьминская ЕВ, Лавров АВ, Смирнихина СА. Кардиомиопатии, ассоциированные с мутациями гена десмина: молекулярный патогенез и гентерапевтические подходы. Альманах клинической медицины. 2019;47(7):603–13. doi: 10.18786/2072-0505-2019-47-025.

Поступила 29.05.2019; принята к публикации 18.06.2019; опубликована онлайн 09.07.2019

Неишемические кардиомиопатии – гетерогенная группа прогрессирующих заболеваний сердца, ассоциированных с различными вариантами структурного ремоделирования миокарда и ведущих к развитию сердечной недостаточности [1, 2]. Термин «кардиомиопатия» впервые предложил Уоллес Бригден (Wallace Brigden) в 1957 г. для описания заболеваний миокарда неясной этиологии без поражения коронарного кровотока [3, 4]. Основа современной классификации была заложена Всемирной организацией здравоохранения в 1995 г. [5], когда с учетом функциональных и этиологических факторов были выделены 4 типа кардиомиопатии: дилатационная (ДКМП), гипертрофическая (ГКМП), рестриктивная (РКМП), аритмогенная кардиомиопатия правого желудочка (АКПЖ), а также гетерогенная группа неклассифицированных кардиомиопатий, включающая в себя фиброэластоз миокарда, некомпактный миокард, обменные кардиомиопатии и др.

В настоящее время рабочие классификации, используемые американской (АНА, 2006) и европейской (ESC, 2008) кардиологическими ассоциациями, существенно различаются, однако базовым остается выделение морфофункциональных вариантов ремоделирования и деление на первичные (семейные и спорадические) и вторичные формы.

Оба подхода к систематике кардиомиопатии имеют свои ограничения, особенно в случаях трансформирующихся и перекрывающихся фенотипов, а также вследствие неоднозначной связи между этиологическими факторами (в том числе генетическими) и результирующим фенотипом [2, 4, 6–8]. Первичные кардиомиопатии – одно из самых распространенных наследственных заболеваний человека, их суммарная частота в популяции достигает 0,5% [9]. Генетическое разнообразие этой группы заболеваний также очень велико. Идентифицировано более 100 генов, ответственных за различные варианты кардиомиопатий.



В 2014 г. Всемирная федерация сердца (WHF) предложила новый подход, впервые объединяющий не только патоморфологические и функциональные характеристики миокарда, спектр экстракардиальных нарушений, но и генетическую причину заболевания. Данный подход был воплощен в номенклатуре MOGE(S), включающей пять основных категорий: М – морфофункциональный фенотип, О – вовлеченность различных органов и систем, G – модель наследования, E – этиология и S – стадия и функциональный статус [10–12]. Несмотря на определенные сложности с применением данной номенклатуры в клинической практике, различные исследователи подтверждают ее эффективность и потенциал в работе с пациентами и их родственниками [8, 13–15]. Для облегчения использования MOGE(S) был разработан веб-сервис для стандартизированного описания пациентов с кардиомиопатией (<http://moges.biomeris.com/moges.html>). В этой классификации наглядно отражено, что каждая генетическая форма кардиомиопатии является по сути отдельным заболеванием со своими особенностями молекулярного патогенеза, течения и прогноза. В настоящем аналитическом обзоре мы обобщаем современные данные и обсуждаем перспективы геноспецифической терапии десминассоциированных кардиомиопатий (десминопатий).

Клиническое разнообразие первичных десминопатий

Ген *DES* расположен на хромосоме 2 (2q35), содержит 9 экзонов и кодирует белок десмин. Мутации в этом гене могут приводить к клинически различным заболеваниям, сопровождающимся варибельным вовлечением скелетной мускулатуры и миокарда. Сегодня принято эти заболевания объединять по этиотропному принципу в группу десминопатий.

Около 80% случаев десминопатий наследуется по аутосомно-доминантному типу с полной пенетрантностью. Процент мутаций *de novo* составляет около 14% [16–19]. Описаны также редкие случаи неполной пенетрантности доминантных мутаций [20, 21] и семейных аутосомно-рецессивных десминопатий [22–26], характеризующихся ранней манифестацией и быстрым прогрессированием заболевания [16, 18]. Десминопатии довольно широко распространены, их суммарная частота

Кочергин-Никитский Константин Сергеевич – канд. биол. наук, ст. науч. сотр., лаборатория мутагенеза¹; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0096-4542>.
✉ 117593, г. Москва, Новоясеневский проспект, 19/4–424, Российская Федерация. Тел.: +7 (977) 830 94 95. E-mail: KochNik.KS@gmail.com

Заклязьминская Елена Валерьевна – д-р мед. наук, заведующая лабораторией медицинской генетики²; доцент кафедры молекулярной и клеточной генетики медико-биологического факультета³; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6244-9546>. E-mail: helenezak@gmail.com

Лавров Александр Вячеславович – канд. мед. наук, вед. науч. сотр., лаборатория редактирования генома¹; доцент кафедры молекулярной и клеточной генетики медико-биологического факультета³; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4962-6947>. E-mail: alexandervlavrov@gmail.com

Смирнихина Светлана Анатольевна – канд. мед. наук, заведующая лабораторией редактирования генома¹; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1558-3048>. E-mail: smirnikhinas@gmail.com

оценивается в 1:2000 [17]. Средний возраст манифестации большинства десминопатий составляет 20–40 лет [27]. Течение заболевания, как правило, прогрессирующее с высокой летальностью.

Ремоделирование миокарда при десминзависимых кардиомиопатиях наиболее часто развивается по типу дилатации (ДКМП) или рестриктивной дисфункции (РКМП), однако описаны все известные варианты кардиомиопатий. При ремоделировании по типу РКМП наблюдается более ранняя манифестация и низкая продолжительность жизни, около 20% пациентов с десминопосредованной РКМП не доживают до возраста 32 лет. Этот вариант кардиомиопатии развивается у 12% носителей мутаций в гене *DES* [28]. В группе всех случаев РКМП на долю мутаций в гене *DES* приходится 9% [29]. В группе ДКМП на долю десминассоциированных форм приходится около 1–2% [30, 31]. Согласно данным, полученным в метаисследовании K.Y. van Spaendonck-Zwarts и соавт., больные с десминопосредованной ДКМП в половине случаев доживают до 54 лет [28]. Гипертрофия миокарда и АКПЖ при мутациях в гене десмина также описаны, но являются более редкими (таблица) [28]. Для первичных десминопатий характерно вовлечение проводящей системы миокарда, что приводит к развитию выраженных нарушений ритма и проводимости. У половины пациентов с различными формами кардиомиопатии наблюдали нарушения проводимости и у 20% – аритмии [28]. Изолированный «сердечный» фенотип отмечен всего у 22% пациентов с мутациями в гене десмина. Более 70% носителей мутаций, охваченных данным метаисследованием, имели различные проявления поражения скелетной мускулатуры в сочетании с кардиомиопатиями [28].

При мутациях в гене *DES*, как правило, развивается десминзависимая скелетная миопатия, которая характеризуется прогрессирующей слабостью дистальных мышц конечностей без явного болевого синдрома. Постепенно слабость распространяется на проксимальную мускулатуру с вовлечением мышц торса, шеи, лицевой мускулатуры, в некоторых случаях развиваются тетрапарезы [16, 28, 32, 33]. При этом часто поражаются дыхательные мышцы, что ведет к дыхательной недостаточности и смерти [28, 34].

Гладкие мышцы при патологии десмина обычно не страдают, вместе с тем при десминопатиях

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр»; 115522, г. Москва, ул. Москворечье, 1, Российская Федерация

² ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского»; 119991, г. Москва, Абрикосовский переулок, 2, Российская Федерация

³ ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России; 117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1, Российская Федерация



Варианты кардиомиопатии у пациентов с мутациями в гене *DES* [28]

Вариант ремоделирования	Число пациентов, абс.	Доля, %
Дилатационная кардиомиопатия	23	17
Рестриктивная кардиомиопатия	16	12
Гипертрофическая кардиомиопатия	8	6
Аритмогенная кардиомиопатия правого желудочка	2	1
Смешанная (неспецифическая) кардиомиопатия	18	13
Без кардиомиопатии	71	51
Всего	138	100

иногда наблюдаются затруднения глотания, диарея и запоры [27, 28].

Молекулярный патогенез первичных десминопатий

Десмин – структурный белок цитоскелета длиной 470 аминокислот и массой 53 кДа. Он входит в группу из 4 структурных белков, формирующих промежуточные филаменты III типа (виментин, десмин, кислый глиальный белок – GFAP, периферин), а также является основным белком промежуточных филаментов миоцитов. Если белки микротрубочек и микрофиламентов экспрессируются повсеместно в различных тканях, белки промежуточных филаментов тканеспецифичны. Для десмина типична экспрессия главным образом в клетках миокарда и скелетных мышцах [16, 35–38].

Будучи одной из критически важных компонент цитоскелета, десмин участвует в обеспечении механической целостности миоцитов, связывает сократительный аппарат мышечных клеток с внутриклеточными структурами, обеспечивая их правильное пространственное взаимодействие и нормальную структуру миофибрилл. Десмин связывает саркомеры с сарколеммой и экстрацеллюлярным матриксом, обеспечивая передачу усилия в районе Z-дисков, передачу механохимических сигналов. Он непосредственно используется для позиционирования митохондрий, обеспечивающих энергетические потребности сократительного аппарата, вблизи А- и I-полос миофибрилл [16, 19, 38–40]. Данный белок является важным компонентом волокон Пуркиньи и, соответственно, участвует в обеспечении автономного синхронного сокращения миокарда [16, 41].

Недостаток десмина может приводить к мультисистемной патологии с преимущественным поражением мышечных тканей. Нокаутированные по десмину мышцы способны к нормальному формированию и созреванию миофибрилл с последующей их сборкой в первичные и вторичные мышечные трубочки в пренатальном периоде. Однако в постнатальный период мышцы этих мышечных трубочек и миофибрилл в прямой зависимости от нагрузки. Доминирующие повреждения наблюдались в сердечной мышце и наиболее активно работающих скелетных мышцах, таких как диафрагма. В поперечно-полосатой мышечной ткани обнаруживались частично разъединенные миофибриллы и нарушение выравнивания Z-дисков. Спустя 2 недели после рождения волокна с нарушенной организацией превалировали над нормальными вследствие неправильной сборки после повреждений. Вероятно, десмин необходим в процессах регенерации мышечных волокон в постнатальном периоде [42]. Такие мышцы демонстрировали повышенную утомляемость, силовые показатели скелетных мышц были ниже, чем у контрольных мышечных трубочек. Продолжительность их жизни была в среднем вдвое меньше [35, 38, 42]. У *DES* ^{-/-} мышцей развивалась гипертрофическая или дилатационная кардиомиопатия, прогрессирующие дегенерация и некроз кардиомиоцитов. Нарушение выравнивания Z-дисков и организации миофибрилл вело к механическому ослаблению сократительного аппарата сердца, хотя уровни актина и миозина оставались в пределах нормы [19, 38, 43].

Одно из наиболее ранних проявлений патологии, связанной с нарушением функции десмина, – образование скоплений митохондрий под сарколеммой. Наблюдаются морфологические (набухание, деградация матрикса) и функциональные (снижение митохондриального дыхания, аффинности к аденозиндифосфату) изменения [40, 44]. Наблюдаемый повышенный уровень креатинкиназы в митохондриях, вероятно, свидетельствует о компенсации их функциональной недостаточности и дефицита энергии. Последнее может приводить к генерации преапоптотических сигналов. В кардиомиоцитах мышцей *DES* ^{-/-} значительно понижается уровень цитохрома C, изменяется локализация Bcl-2, что провоцирует дегенерацию кардиомиоцитов и развитие кальциноза [38]. Это косвенно подтверждается тем, что суперэкспрессия Bcl-2 в сердцах таких мышечных трубочек приводит к частичной коррекции дефектов, связанных с описанной митохондриальной

патологией, предотвращению развития гипертрофии миокарда и улучшению сердечной функции [38, 45].

Типичным проявлением десминопатий считается накопление десминпозитивных включений в мышцах, представляющих собой гранулезные и фиброзные агрегаты в субсарколеммном и интермиофибрилярном пространствах [27, 32, 39]. Для десминопатий с вовлечением миокарда более характерно центральное, а не субсарколеммное расположение агрегатов аномального десмина и его кластеризация в области вставочных дисков [18]. Причиной накопления протеиновых агрегатов может быть ингибирование процессов аутофагии при избытке «неправильных» белков. Такие амилоидоподобные агрегаты могут приводить к гибели кардиомиоцитов и развитию сердечной недостаточности [39, 46]. Как и при миопатиях, ограниченных скелетной мускулатурой, могут наблюдаться гипертрофия кардиомиоцитов и нарушения структуры миофибрилл [34].

В десмине, как и в остальных белках промежуточных филаментов, выделяют центральный стержнеобразный альфа-спиральный коровый регион размером 307 аминокислот, состоящий из 4 альфа-спиральных субрегионов (1A, 1B, 2A и 2B), разделенных неспиральными линкерами (рис. 1). Коровый домен сформирован 7 аминокислотными повторами из гидрофобных и гидрофильных аминокислот. Повторы позволяют двум полипептидам образовывать гомополимерные спирализованные димеры, являющиеся элементарными звеньями десминовых промежуточных филаментов. N-концевой «головной» и C-концевой «хвостовой» домены обеспечивают взаимодействие между димерами при сборке тетрамеров, в свою очередь собирающихся в структуры более высокого порядка при образовании филаментов. Они также участвуют во взаимодействии с другими белками цитоскелета в процессе формирования сети промежуточных филаментов [16, 18, 27].

Фенотипические проявления зависят от того, какой регион белка затрагивают мутации. Так, мутации в субдомене 2B часто ассоциированы со

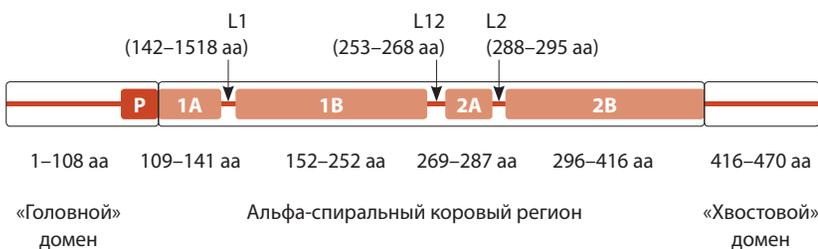


Рис. 1. Структура белка десмина

скелетными миопатиями, при этом вовлечение миокарда может варьировать. А мутации в 1B, «головном» и «хвостовом» доменах часто приводят к развитию тяжелого «сердечного» фенотипа. Мутации в 1B, кроме того, значительно повышают вероятность развития РКМП по сравнению с мутациями в «хвостовом» домене [16, 47]. Большинство идентифицированных патогенных мутаций локализованы в 2B субдомене – «горячем регионе» мутаций [18, 27, 28, 48]. L.G. Goldfarb и соавт. [18] провели анализ гено-фенотипических особенностей 92 пациентов с мутациями в гене *DES*. Оказалось, что мутации в 2B регионе были выявлены у большинства пациентов с клиническими признаками скелетной миопатии и переменным поражением сердца, тогда как у пациентов с изолированной кардиальной формой мутации чаще выявляли в «хвостовом» домене и 1B субдомене.

Вместе с тем ряд авторов считает, что взаимосвязь между локализацией мутаций и клиническим фенотипом малозначима или вовсе отсутствует [49, 50].

Подходы к лечению десминопатий

При десминзависимых кардиомиопатиях факторами, ограничивающими выживаемость, являются тяжелые аритмии и нарушения проводимости, а также прогрессирование сердечной недостаточности.

Консервативное лечение включает ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, блокаторы рецепторов к ангиотензину II [51–55], для контроля артериального давления широко применяют бета-адреноблокаторы и блокаторы кальциевых каналов [56–58]. Для замедления сердечного ритма и усиления сокращения миокарда, предотвращения фибрилляции и трепетания предсердий в некоторых случаях используют дигоксин [51, 53, 59]. При возникновении застойной сердечной недостаточности применяются различные диуретики. Антагонисты альдостерона, применяемые в комбинации с ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента, могут помочь снизить задержку натрия и избыток жидкости [52, 60, 61]. Антикоагулянты рекомендованы пациентам, у которых нарушения ритма и сердечная недостаточность ассоциированы с высоким риском тромбообразования [62].

Хирургические подходы к лечению нарушений ритма и проводимости включают имплантацию электрокардиостимулятора, кардиовертеров-дефибрилляторов, а для пациентов с выраженной межжелудочковой асинхронией – имплантацию ресинхронизирующих устройств [52, 63–69]. При



сердечной недостаточности часто требуется имплантация устройств вспомогательного кровообращения (LVAD) или трансплантация сердца.

Основная проблема терапии десминопатий состоит в отсутствии специфических методов лечения. Большинство имеющихся подходов (в том числе хирургических) паллиативны, и их эффективность ограничена. Именно поэтому существенным шагом вперед в лечении этой группы заболеваний может стать разработка этиологического лечения, направленного на коррекцию первичного генетического дефекта.

Генотерапевтические подходы при десминзависимой кардиомиопатии

Кодирующая последовательность гена *DES* состоит из 1413 пар оснований. Небольшой размер позволяет осуществить трансфекцию либо трансдукцию кодирующей последовательности этого гена в ткани-мишени. Ранее были опубликованы данные об успешной доставке и суперэкспрессии других генов, связанных с развитием кардиомиопатии, с использованием рекомбинантных адено-ассоциированных вирусов (AAV). Специфическая экспрессия продукта в пределах сердечной мышцы обеспечивается обычно тропизмом выбранного AAV к тканям миокарда, поэтому наиболее часто использовали подтип AAV9 [70–90]. В ряде исследований специфичность дополнительно гарантировалась тканеспецифичными промоторами [87, 91–94]. М.В. Neckmann и соавт. [95] использовали rAAV9 вектор для доставки мышиног десмина в виде комплементарной ДНК (кДНК) в организм модельных мышей с нокаутированным собственным *DES* (-/-). В отличие от наиболее частых ауто-сомно-доминантных десминопатий рецессивные формы характеризуются полным отсутствием экспрессии десмина и ассоциированы с более тяжелыми кардиомиопатиями, часто приводящими к смерти на второй декаде жизни. Авторам удалось частично восстановить экспрессию десмина, что привело к значительному восстановлению сети десминовых филаментов в цитоскелете кардиомиоцитов, снижению вентрикулярного фиброза и гипертрофии по сравнению с контрольными мышами, у которых прогрессировала систолическая дисфункция левого желудочка. Мыши, подвергшиеся генотерапии, показывали умеренное снижение фракции укорочения и отсутствие прироста конечно-диастолического размера левого желудочка на протяжении 10 месяцев эксперимента. Наряду с этим наблюдали значимо более низкий уровень экспрессии маркера

сердечной недостаточности – белка BNP, хотя и более высокий, нежели у нормальных мышей [95].

Более длинные гены также успешно вводили с помощью AAV векторов. Так, *MYBPC3*, кодирующая последовательность которого насчитывает 3837 пар оснований, был эффективно трансдуцирован *in vivo* с использованием AAV9. Однократное системное введение рекомбинантного AAV с *MYBPC3* новорожденным мышам с поврежденным *MYBPC3* предотвращало развитие гипертрофии миокарда [87, 94]. Введение посредством rAAV кДНК *SERCA2α* (3135 п.о.) модельным крысам с гипертрофией миокарда вследствие перегрузки давлением, пониженным уровнем экспрессии *SERCA2α* и тяжелой сократительной дисфункцией позволило скорректировать систолическую и диастолическую дисфункции до нормального уровня [88]. Для доставки длинных последовательностей были успешно использованы двойные и тройные системы AAV векторов. В этом случае для восстановления полной вводимой последовательности гена используются собственные клеточные механизмы. Такую мультивекторную систему успешно применяли для доставки минидистрофина (около 6000 п.о.) и даже целого дистрофина (около 12000 п.о.) в сердце мышей [71, 72]. Данные системы потенциально могут быть использованы для доставки полной последовательности гена *DES* (8363 п.о.).

Часть десминопатий связана с недостаточностью не самого десмина, а белков-шаперонов, таких как CryAB. При этом накопление белковых агрегатов может быть обусловлено недостаточной аутофагосомальной функцией. На модельных клетках крыс с заменой p.R120G в CryAB трансдукция регулятора аутофагии Atg7 привела к индуцированию аутофагии. Показано уменьшение уровня окрашивания преамилоида в кардиомиоцитах, количества агрегатов и цитотоксичности без негативного эффекта на выживаемость клеток [96]. Авторы другой работы скрещивали мышей с CryAB(R120G) с трансгенными мышами с миокардспецифичной суперэкспрессией Bcl-2. Было показано увеличение на 20% продолжительности жизни потомков, несущих оба признака. Авторы также сообщали о сниженном уровне митохондриальных аномалий, накопления агрегатов CryAB, восстановлении функций сердечной мышцы, предотвращении развития гипертрофии и ослаблении апоптотических процессов. Однако регуляция аутофагии и альтернативных путей клеточной смерти была нарушена, что приводило к усилению некротических процессов [97].

Защитный эффект α -В-кристаллина в отношении некоторых токсических эффектов, связанных с неправильно сложенным десмином, был продемонстрирован на стабильно трансфицированных клеточных линиях [98]. Индуцированная тканеспецифичная экспрессия шаперона HSP22 в сердцах мышей с CryAV p.R120G позволяла замедлить развитие кардиомиопатии по сравнению с контрольной группой [99].

Доминантные “gain-of-function” мутации десмина требуют более сложного подхода. В этом случае требуется нокадаун мутантного аллеля с повышением экспрессии нормального либо предоставлением дополнительной экзогенной копии гена. I. Karakikes и соавт. [100] показали применимость подобной стратегии на клеточных моделях, несущих мутацию гена PLN c.40_42delAGA (p.Arg14del), выявленную у членов большой греческой семьи с семейной ДКМП. Авторы работы, используя вектор на основе AAV6, несущий интронную микроРНК для нокадауна эндогенного мутантного *PLN* и кодон-оптимизированный функциональный *PLN*, резистентный к вышеуказанной микроРНК, смогли добиться 50% нокадауна эндогенного *PLN* p.R14del в кардиомиоцитах. Суперэкспрессия экзогенного белка, в свою очередь, ингибировала синтез эндогенного, указывая на негативную регуляцию. Было показано падение уровня экспрессии гипертрофических маркеров и частоты аритмогенных эпизодов до уровня нормальных кардиомиоцитов спустя 7 дней после трансдукции вектора [100].

Другой многообещающий подход основывался на аллель-специфическом подавлении экспрессии генов (сайленсинг). Возможности этой методики были продемонстрированы на примере сайленсинга посредством РНК-интерференции мутации *MYH7* p.R403Q. В течение 6 месяцев наблюдения после введения кассеты на основе AAV9 однодневным новорожденным мышам с мутацией p.R403Q авторы не обнаружили развития ГКМП либо фиброза миокарда. Кроме того, по их данным 25% снижения экспрессии мутантного аллеля оказывалось достаточно для подавления развития ГКМП [101].

Геномное редактирование при десминзависимых кардиомиопатиях

Термин «геномное редактирование» применяют в отношении изменения внутриклеточной ДНК посредством сконструированных направляемых эндонуклеаз, таких как TALEN (transcription activator-like effector nucleases), ZFN (zinc finger nucleases) и CRISPR/Cas9 (clustered regulatory interspaced

short palindromic repeats / CRISPR-associated protein 9). Каждая из этих систем включает в себя домен, осуществляющий сиквенс-специфическое связывание с молекулами ДНК, а также домен с неспецифической эндонуклеазной активностью. В системе CRISPR/Cas9 таргетирование осуществляется посредством коротких молекул РНК, имеющих участки, комплементарный целевому региону. Так называемые редакторы оснований, содержащие в составе гибридного эффекторного домена аденин- либо цитидин-дезаминазу, позволяют прицельно заменять отдельные нуклеотиды в цепи ДНК. Все эти молекулярные инструменты могут с высокой точностью редактировать первичную структуру большинства генов. Возможность направления к определенным локусам с точностью до нуклеотида и, в случае CRISPR/Cas9, простота и сравнительно невысокая стоимость процедур делают геномное редактирование весьма привлекательной и многообещающей технологией в приложении к терапии наследственных заболеваний. Наиболее часто используют варианты технологии, включающие такие механизмы репарации двуниевых разрывов ДНК, как негомологичное соединение концов (NHEJ) и гомологичная репарация (HDR). NHEJ, не отличающийся точностью и часто вносящий короткие инсерции и делеции (инделлы), активен во всех фазах клеточного цикла в клетках млекопитающих. Активность HDR, реализуемого через гомологичную рекомбинацию целевой ДНК с эндо- или экзогенной матрицей и отличающегося практически прецизионной точностью, подходящей для таргетного редактирования, ограничена лишь S и G2 фазами, а его эффективность по сравнению с NHEJ весьма невысока.

Большинство мутаций гена *DES*, приводящих к десминзависимым кардиомиопатиям, являются доминантными и представлены в клетке в комбинации с нормальным аллелем. При этом имеются данные, свидетельствующие о том, что мутации в гене *DES*, нарушающие экспрессию мутантного аллеля, в гетерозиготном состоянии не приводят к развитию клинических проявлений десминопатий. В 2013 г. Н.М. McLaughlin и соавт. [102] описали случай десминопатии с ДКМП и миопатией у 27-летней женщины. Ее брат, имевший аналогичную симптоматику в 14 лет, скончался в возрасте 19 лет. У родителей, которые были старше 50 лет, никаких симптомов не наблюдалось. Оба родителя были здоровыми носителями одной из мутаций, каждая из которых нарушала экспрессию мутантного аллеля: *DES* c.600delG (p.Lys201ArgfsX20) и *DES* c.1285C>T (p.Arg429X), в то время как у их детей обе мутации оказались

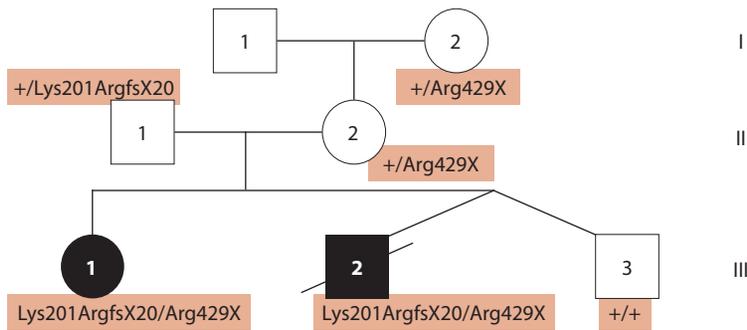


Рис. 2. Сегрегация мутаций *DES* с.600delG (p.Lys201ArgfsX20) и *DES* с.1285C>T (p.Arg429X) [102]

в компаунд-гетерозиготном состоянии (рис. 2) [102]. Данный пример позволяет предположить, что нокаут аллеля с доминантной “gain-of-function” мутацией может восстановить экспрессию исключительно с нормальной копии десмина и потенциально иметь благоприятный эффект. Разработка такого подхода могла бы найти применение для лечения больных с десминопатиями, вызванными доминантными мутациями в гене *DES*. Успешный нокаут аллеля с мутацией посредством геномного редактирования уже был получен в индуцированных плюрипотентных стволовых клетках (ИПСК) от пациента с ДКМП, связанной с мутацией *PLN* с.40_42delAGA (p.Arg14del). При этом использовали систему на основе TALEN и ориентированную NHEJ-зависимую репарацию двунитевых разрывов ДНК (ДНР). Полногеномное секвенирование исходных и отредактированных ИПСК показало низкий уровень индукции нецелевых ДНР. Кардиомиоциты, полученные из отредактированных ИПСК, демонстрировали нормальный фенотип в отличие от контрольных нередактированных клеток [100].

Как и мутации *DES*, аутосомно-доминантные мутации *MYBPC3* часто могут быть ассоциированы с развитием ГКМП с поздней манифестацией. Герминативная делеция g.9836_9839delGAGT в 16-м экзоне *MYBPC3* была отредактирована в эмбриональных клетках человека с использованием подхода на основе CRISPR/Cas9. ИПСК, полученные от пациента, электропорировали плазмидой

с Cas9 и ssODN в качестве матрицы для репарации. Из 61 протестированного клона 17 были отредактированы, и 7 из них – посредством HDR с применением предоставленной ssODN. Однако в эмбриональных клетках HDR проходил с использованием эндогенной матрицы – нормального аллеля. Авторы сообщают о более высокой эффективности редактирования в эмбриональных клетках (72,2%), вероятно, из-за более эффективной доставки, которая проводилась с использованием микроинъекций РНП. Эффективность репарации по пути HDR в случае эмбриональных клеток составляла до 64% отредактированных бластомеров. Авторам удалось избежать мозаицизма и достичь высокого процента гомозиготных эмбрионов, несущих *MYBPC3* дикого типа, при этом не было выявлено нецелевого редактирования [100].

Заключение

Общая тяжесть течения десминопатий, низкое качество жизни пациентов и серьезный прогноз заболевания в сочетании с отсутствием специфической терапии подталкивают к разработке новых подходов, позволяющих воздействовать на непосредственную причину заболевания. Применимость техник генной терапии при лечении кардиомиопатии была показана разными группами исследователей, и некоторые из таких работ были посвящены десминзависимым кардиомиопатиям. Выявлен потенциал таких подходов, как доставка функционального *DES* в виде кДНК в векторах на основе AAV9, суперэкспрессия различных белков-шаперонов, например, СгуАВ, инактивация мутантных аллелей с параллельной доставкой экзогенной копии гена и пр. Однако подходов на основе геномного редактирования мутантного гена *DES* разработано не было. Тем не менее некоторые многообещающие результаты были получены для других генов с “gain-of-function” мутациями, включая *MYBPC3* и *PLN*, при использовании систем CRISPR/Cas9 и TALEN. Мы полагаем, что технология геномного редактирования – перспективное направление в разработке новых эффективных методов лечения десминзависимых кардиомиопатий. ©

Дополнительная информация

Финансирование

Работа частично поддержана грантом Российского научного фонда № 16-15-10421. Результаты, представленные в разделах «Генотерапевтические подходы при десминзависимой кардиомиопатии» и «Геномное редактирование при десминзависимых кардиомиопатиях», получены в рамках государственного задания Минобрнауки России.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов

Все авторы внесли существенный вклад в анализ литературы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Литература / References

- Cooper LT. Definition and classification of the cardiomyopathies [Internet]. Accessed at Apr. 15, 2018. Available from: <http://www.uptodate.com/home>.
- McCartan C, Mason R, Jayasinghe SR, Griffiths LR. Cardiomyopathy classification: ongoing debate in the genomics era. *Biochem Res Int*. 2012;2012:796926. doi: 10.1155/2012/796926.
- Abelmann WH. Classification and natural history of primary myocardial disease. *Prog Cardiovasc Dis*. 1984;27(2):73–94. doi: 10.1016/0033-0620(84)90020-3.
- Cecchi F, Tomberli B, Olivotto I. Clinical and molecular classification of cardiomyopathies. *Glob Cardiol Sci Pract*. 2012;2012(1):4. doi: 10.5339/gcsp.2012.4.
- Richardson P, McKenna W, Bristow M, Maisch B, Mautner B, O'Connell J, Olsen E, Thiene G, Goodwin J, Gyrfas I, Martin I, Nordet P. Report of the 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and Classification of cardiomyopathies. *Circulation*. 1996;93(5):841–2.
- Maron BJ. The 2006 American Heart Association classification of cardiomyopathies is the gold standard. *Circ Heart Fail*. 2008;1(1):72–5; discussion 76. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.108.770826.
- Elliott P. The 2006 American Heart Association classification of cardiomyopathies is not the gold standard. *Circ Heart Fail*. 2008;1(1):77–9; discussion 80. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.108.770511.
- Благова ОВ, Недоступ АВ. Классификация некоронарогенных заболеваний сердца: наш взгляд на проблему. *Российский кардиологический журнал*. 2017;(2):7–21. doi: 10.15829/1560-4071-2017-2-7-21. [Blagova OV, Nedostup AV. Classification of non-coronary heart diseases. Point of view. *Russian Journal of Cardiology*. 2017;(2):7–21. Russian. doi: 10.15829/1560-4071-2017-2-7-21].
- Charron P, Arad M, Arbustini E, Basso C, Bilinska Z, Elliott P, Helio T, Keren A, McKenna WJ, Monserrat L, Pankuweit S, Perrot A, Rapezzi C, Ristic A, Seggewiss H, van Langen I, Tavazzi L; European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. 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;31(22):2715–26. doi: 10.1093/eurheartj/ehq271.
- Arbustini E, Narula N, Dec GW, Reddy KS, Greenberg B, Kushwaha S, Marwick T, Pinney S, Bellazzi R, Favalli V, Kramer C, Roberts R, Zoghbi WA, Bonow R, Tavazzi L, Fuster V, Narula J. The MOGE(S) Classification for a Phenotype-Genotype Nomenclature of Cardiomyopathy: Endorsed by the World Heart Federation. *Glob Heart*. 2013;8(4):355–82. doi: 10.1016/j.gheart.2013.11.001.
- Arbustini E, Narula N, Dec GW, Reddy KS, Greenberg B, Kushwaha S, Marwick T, Pinney S, Bellazzi R, Favalli V, Kramer C, Roberts R, Zoghbi WA, Bonow R, Tavazzi L, Fuster V, Narula J. The MOGE(S) classification of cardiomyopathy: endorsed by the World Heart Federation. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62(22):2046–72. doi: 10.1016/j.jacc.2013.08.1644.
- Arbustini E, Narula N, Tavazzi L, Serio A, Grasso M, Favalli V, Bellazzi R, Tajik JA, Bonow RO, Fuster V, Narula J. The MOGE(S) classification of cardiomyopathy for clinicians. *J Am Coll Cardiol*. 2014;64(3):304–18. doi: 10.1016/j.jacc.2014.05.027.
- Westphal JG, Rigopoulos AG, Bakogiannis C, Ludwig SE, Mavrogeni S, Bigalke B, Doenst T, Pauschinger M, Tschöpe C, Schulze PC, Noutsias M. The MOGE(S) classification for cardiomyopathies: current status and future outlook. *Heart Fail Rev*. 2017;22(6):743–52. doi: 10.1007/s10741-017-9641-4.
- Hazebroek MR, Moors S, Dennert R, van den Wijngaard A, Krapels I, Hoos M, Verdonchot J, Merken JJ, de Vries B, Wolffs PF, Crijns HJ, Brunner-La Rocca HP, Heymans S. Prognostic Relevance of Gene-Environment Interactions in Patients With Dilated Cardiomyopathy: Applying the MOGE(S) Classification. *J Am Coll Cardiol*. 2015;66(12):1313–23. doi: 10.1016/j.jacc.2015.07.023.
- Agarwal A, Yousefzai R, Jan MF, Cho C, Shetabi K, Bush M, Khandheria BK, Paterick TE, Treiber S, Sra J, Werner P, Allaqaband S, Bajwa T, Tajik AJ. Clinical application of WHF-MOGE(S) classification for hypertrophic cardiomyopathy. *Glob Heart*. 2015;10(3):209–19. doi: 10.1016/j.gheart.2015.01.001.
- Goldfarb LG, Dalakas MC. Tragedy in a heartbeat: malfunctioning desmin causes skeletal and cardiac muscle disease. *J Clin Invest*. 2009;119(7):1806–13. doi: 10.1172/JCI38027.
- Clemen CS, Herrmann H, Strelkov SV, Schröder R. Desminopathies: pathology and mechanisms. *Acta Neuropathol*. 2013;125(1):47–75. doi: 10.1007/s00401-012-1057-6.
- Goldfarb LG, Olivé M, Vicart P, Goebel HH. Intermediate filament diseases: desminopathy. *Adv Exp Med Biol*. 2008;642:131–64.
- Brodehl A, Gaertner-Rommel A, Milting H. Molecular insights into cardiomyopathies associated with desmin (DES) mutations. *Biophys Rev*. 2018;10(4):983–1006. doi: 10.1007/s12551-018-0429-0.
- Dalakas MC, Vasconcelos OM, Kaminska A, Kwiesciski H, Hilton-Jones D, Squier W, Goldfarb LG. Desmin myopathy: Distinct filamentopathy caused by mutations in the desmin gene. *Acta Myologica*. 2002;21:138–43.
- Li D, Tapscoft T, Gonzalez O, Burch PE, Quiñones MA, Zoghbi WA, Hill R, Bachinski LL, Mann DL, Roberts R. Desmin mutation responsible for idiopathic dilated cardiomyopathy. *Circulation*. 1999;100(5):461–4.
- Carmignac V, Sharma S, Arbogast S, Fischer D, Serreri C, Serria M, Stoltenburg G, Maurage CA, Herrmann H, Cuisset JM, Bär H, Ferreira A. A homozygous desmin deletion causes an Emery-Dreifuss like recessive myopathy with desmin depletion. *Neuromuscul Disord*. 2009;19(8–9):600. doi: 10.1016/j.nmd.2009.06.179.
- Goldfarb LG, Park KY, Cervenáková L, Gorokhova S, Lee HS, Vasconcelos O, Nagle JW, Semino-Mora C, Sivakumar K, Dalakas MC. Missense mutations in desmin associated with familial cardiac and skeletal myopathy. *Nat Genet*. 1998;19(4):402–3. doi: 10.1038/1300.
- Arbustini E, Pasotti M, Pilotto A, Pellegrini C, Grasso M, Previtali S, Repetto A, Bellini O, Azan G, Scaffino M, Campana C, Piccolo G, Viganò M, Tavazzi L. Desmin accumulation restrictive cardiomyopathy and atrioventricular block associated with desmin gene defects. *Eur J Heart Fail*. 2006;8(5):477–83. doi: 10.1016/j.ejheart.2005.11.003.
- Muñoz-Mármol AM, Strasser G, Isamat M, Coulombe PA, Yang Y, Roca X, Vela E, Mate JL, Coll J, Fernández-Figueras MT, Navas-Palacios JJ, Ariza A, Fuchs E. A dysfunctional desmin mutation in a patient with severe generalized myopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95(19):11312–7. doi: 10.1073/pnas.95.19.11312.
- Piñol-Ripoll G, Shatunov A, Cabello A, Larrodé P, de la Puerta I, Pelegrín J, Ramos FJ, Olivé M, Goldfarb LG. Severe infantile-onset cardiomyopathy associated with a homozygous deletion in desmin. *Neuromuscul Disord*. 2009;19(6):418–22. doi: 10.1016/j.nmd.2009.04.004.
- Schröder R, Vrabie A, Goebel HH. Primary desminopathies. *J Cell Mol Med*. 2007;11(3):416–26. doi: 10.1111/j.1582-4934.2007.00057.x.
- van Spaendonck-Zwarts KY, van Hessem L, Jongbloed JD, de Walle HE, Capetanaki Y, van der Kooi AJ, van Langen IM, van den Berg MP, van Tintelen JP. Desmin-related myopathy. *Clin Genet*. 2011;80(4):354–66. doi: 10.1111/j.1399-0004.2010.01512.x.
- Gallego-Delgado M, Delgado JF, Brossa-Loidi V, Palomo J, Marzoa-Rivas R, Perez-Villa F, Salazar-Mendiguchía J, Ruiz-Cano MJ, Gonzalez-Lopez E, Padron-Barthe L, Bornstein B, Alonso-Pulpon L, Garcia-Pavia P. Idiopathic Restrictive Cardiomyopathy Is Primarily a Genetic Disease. *J Am Coll Cardiol*. 2016;67(25):3021–3. doi: 10.1016/j.jacc.2016.04.024.
- Taylor MR, Slavov D, Ku L, Di Lenarda A, Sinagra G, Carniel E, Haubold K, Boucek MM, Ferguson D, Graw SL, Zhu X, Cavanaugh J, Sucharov CC, Long CS, Bristow MR, Lavori P, Mestroni L; Familial Cardiomyopathy Registry; BEST (Beta-Blocker Evaluation of Survival Trial) DNA Bank. Prevalence of desmin mutations in dilated cardiomyopathy. *Circulation*. 2007;115(10):1244–51. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.646778.
- Tesson F, Sylvius N, Pilotto A, Dubosq-Bidot L, Peuchmard M, Bouchier C, Benaiche A, Mangin L, Charron P, Gavazzi A, Tavazzi L, Arbustini E, Komajda M. Epidemiology of desmin and cardiac actin gene mutations in a European



- population of dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J*. 2000;21(22):1872–6. doi: 10.1053/ehj.2000.2245.
32. Vajsar J, Becker LE, Freedom RM, Murphy EG. Familial desminopathy: myopathy with accumulation of desmin-type intermediate filaments. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1993;56(6):644–8. doi: 10.1136/jnnp.56.6.644.
 33. Goebel HH, Voit T, Warlo I, Jacobs K, Johannsen U, Müller CR. *Rev Neurol (Paris)*. Immunohistologic and electron microscopic abnormalities of desmin and dystrophin in familial cardiomyopathy and myopathy. 1994;150(6–7):452–9.
 34. Dagvadorj A, Goudeau B, Hilton-Jones D, Blancato JK, Shatunov A, Simon-Casteras M, Squier W, Nagle JW, Goldfarb LG, Vicart P. Respiratory insufficiency in desminopathy patients caused by introduction of proline residues in desmin c-terminal alpha-helical segment. *Muscle Nerve*. 2003;27(6):669–75. doi: 10.1002/mus.10370.
 35. Milner DJ, Weitzer G, Tran D, Bradley A, Capetanaki Y. Disruption of muscle architecture and myocardial degeneration in mice lacking desmin. *J Cell Biol*. 1996;134(5):1255–70. doi: 10.1083/jcb.134.5.1255.
 36. Steinert PM, Roop DR. Molecular and cellular biology of intermediate filaments. *Annu Rev Biochem*. 1988;57:593–625. doi: 10.1146/annurev.bi.57.070188.003113.
 37. Fuchs E, Weber K. Intermediate filaments: structure, dynamics, function, and disease. *Annu Rev Biochem*. 1994;63:345–82. doi: 10.1146/annurev.bi.63.070194.002021.
 38. Paulin D, Li Z. Desmin: a major intermediate filament protein essential for the structural integrity and function of muscle. *Exp Cell Res*. 2004;301(1):1–7. doi: 10.1016/j.yexcr.2004.08.004.
 39. McLendon PM, Robbins J. Desmin-related cardiomyopathy: an unfolding story. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011;301(4):H1220–8. doi: 10.1152/ajpheart.00601.2011.
 40. Capetanaki Y. Desmin cytoskeleton: a potential regulator of muscle mitochondrial behavior and function. *Trends Cardiovasc Med*. 2002;12(8):339–48. doi: 10.1016/S1050-1738(02)00184-6.
 41. Price MG. Molecular analysis of intermediate filament cytoskeleton – a putative load-bearing structure. *Am J Physiol*. 1984;246(4 Pt 2):H566–72.
 42. Li Z, Mericskay M, Agbulut O, Butler-Browne G, Carlsson L, Thornell LE, Babinet C, Paulin D. Desmin is essential for the tensile strength and integrity of myofibrils but not for myogenic commitment, differentiation, and fusion of skeletal muscle. *J Cell Biol*. 1997;139(1):129–44. doi: 10.1083/jcb.139.1.129.
 43. Balogh J, Mericskay M, Li Z, Paulin D, Arner A. Hearts from mice lacking desmin have a myopathy with impaired active force generation and unaltered wall compliance. *Cardiovasc Res*. 2002;53(2):439–50. doi: 10.1016/s0008-6363(01)00500-4.
 44. Milner DJ, Mavroidis M, Weisleder N, Capetanaki Y. Desmin cytoskeleton linked to muscle mitochondrial distribution and respiratory function. *J Cell Biol*. 2000;150(6):1283–98. doi: 10.1083/jcb.150.6.1283.
 45. Weisleder N, Taffet GE, Capetanaki Y. Bcl-2 overexpression corrects mitochondrial defects and ameliorates inherited desmin null cardiomyopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(3):769–74. doi: 10.1073/pnas.0303202101.
 46. Liu J, Tang M, Mestril R, Wang X. Aberrant protein aggregation is essential for a mutant desmin to impair the proteolytic function of the ubiquitin-proteasome system in cardiomyocytes. *J Mol Cell Cardiol*. 2006;40(4):451–4. doi: 10.1016/j.yjmcc.2005.12.011.
 47. Kostera-Pruszczyk A, Pruszczyk P, Kamińska A, Lee H-S, Goldfarb LG. Diversity of cardiomyopathy phenotypes caused by mutations in desmin. *Int J Cardiol*. 2008;131(1):146–7. doi: 10.1016/j.ijcard.2007.08.095.
 48. Capetanaki Y, Papatathanasiou S, Diokmetzidou A, Vatsellas G, Tsikitis M. Desmin related disease: a matter of cell survival failure. *Curr Opin Cell Biol*. 2015;32:113–20. doi: 10.1016/j.ceb.2015.01.004.
 49. Batonnet-Pichon S, Behin A, Cabet E, Delort F, Vicart P, Lilienbaum A. Myofibrillar Myopathies: New Perspectives from Animal Models to Potential Therapeutic Approaches. *J Neuromuscul Dis*. 2017;4(1):1–15. doi: 10.3233/JND-160203.
 50. Wahbi K, Béhin A, Charron P, Dunand M, Richard P, Meune C, Vicart P, Laforêt P, Stojkovic T, Bécane HM, Kuntzer T, Duboc D. High cardiovascular morbidity and mortality in myofibrillar myopathies due to DES gene mutations: a 10-year longitudinal study. *Neuromuscul Disord*. 2012;22(3):211–8. doi: 10.1016/j.nmd.2011.10.019.
 51. Liebau G. Therapy of dilated cardiomyopathy with digitalis, diuretics and vasodilators. *Herz*. 1985;10(3):138–42. German.
 52. Hunt SA, Abraham WT, Chin MH, Feldman AM, Francis GS, Ganiats TG, Jessup M, Konstam MA, Mancini DM, Michel K, Oates JA, Rahko PS, Silver MA, Stevenson LW, Yancy CW, Antman EM, Smith SC Jr, Adams CD, Anderson JL, Faxon DP, Fuster V, Halperin JL, Hiratzka LF, Jacobs AK, Nishimura R, Ornato JP, Page RL, Riegel B; American College of Cardiology; American Heart Association Task Force on Practice Guidelines; American College of Chest Physicians; International Society for Heart and Lung Transplantation; Heart Rhythm Society. ACC/AHA 2005 Guideline Update for the Diagnosis and Management of Chronic Heart Failure in the Adult: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Update the 2001 Guidelines for the Evaluation and Management of Heart Failure): developed in collaboration with the American College of Chest Physicians and the International Society for Heart and Lung Transplantation: endorsed by the Heart Rhythm Society. *Circulation*. 2005;112(12):e154–235. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.167586.
 53. Барт БЯ, Бенеvская ВФ. Дилатационная кардиомиопатия: клиника, диагностика и лечение. *Лечебное дело*. 2005;(1):3–9. [Bart BYa, Benevskaya VF. Dilated cardiomyopathy: clinics, diagnostics, and treatment. 2005;(1):3–9. Russian].
 54. Colucci WS. Use of angiotensin converting enzyme inhibitors in heart failure with reduced ejection fraction [Internet]. Accessed at Sep. 29, 2018. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/use-of-angiotensin-converting-enzyme-inhibitors-in-heart-failure-with-reduced-ejection-fraction>.
 55. Dzau VJ. Tissue renin-angiotensin system in myocardial hypertrophy and failure. *Arch Intern Med*. 1993;153(8):937–42. doi: 10.1001/archinte.1993.00410080011002.
 56. Waagstein F. The role of beta-blockers in dilated cardiomyopathy. *Curr Opin Cardiol*. 1995;10(3):322–31.
 57. Hjalmarson A, Waagstein F. The role of beta-blockers in the treatment of cardiomyopathy and ischaemic heart failure. *Drugs*. 1994;47 Suppl 4:31–9; discussion 39–40. doi: 10.2165/00003495-199400474-00006.
 58. Facchini E, Degiovanni A, Cavallino C, Lupi A, Rognoni A, Bongo AS. Beta-Blockers and Nitrates: Pharmacotherapy and Indications. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*. 2015;13(1):25–30. doi: 10.2174/1871525713666141219114708.
 59. Colucci WS, Lynne SL. Use of digoxin in heart failure with reduced ejection fraction [Internet]. Accessed at Sep. 30, 2018. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/use-of-digoxin-in-heart-failure-with-reduced-ejection-fraction>.
 60. Nguyen VQ, Celebi MM, Suleman A, Sander GE. Dilated Cardiomyopathy Treatment & Management [Internet]. Accessed at Sep. 27, 2018. Available from: <https://emedicine.medscape.com/article/152696>.
 61. Tang WH, Parameswaran AC, Maroo AP, Francis GS. Aldosterone receptor antagonists in the medical management of chronic heart failure. *Mayo Clin Proc*. 2005;80(12):1623–30. doi: 10.4065/80.12.1623.
 62. Kremastinos DT, Farmakis D. Iron overload cardiomyopathy in clinical practice. *Circulation*. 2011;124(20):2253–63. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.050773.
 63. Reardon L, McKenna PJ, Vicellio P. Restrictive Cardiomyopathy Treatment & Management [Internet]. Accessed at Sep. 27, 2018. Available from: <https://emedicine.medscape.com/article/153062>.
 64. Dzau VJ, Liew CC, editors. *Cardiovascular Genetics and Genomics for the Cardiologist*. John Wiley & Sons; 2008. 316 p.
 65. Bott-Silverman C, Aksut B. Dilated and Restrictive Cardiomyopathies [Internet]. Accessed at Sep. 27, 2018. Available from: <http://www.clevelandcliniced.com/medicalpubs/disease-management/cardiology/dilated-restrictive-cardiomyopathy>.



66. Linde C. Heart. Implantable cardioverter-defibrillator treatment and resynchronization in heart failure. 2004;90(2):231–4. doi: 10.1136/hrt.2003.019695.
67. Bristow MR, Saxon LA, Boehmer J, Krueger S, Kass DA, De Marco T, Carson P, DiCarlo L, DeMets D, White BG, DeVries DW, Feldman AM; Comparison of Medical Therapy, Pacing, and Defibrillation in Heart Failure (COMPANION) Investigators. Cardiac-resynchronization therapy with or without an implantable defibrillator in advanced chronic heart failure. *N Engl J Med.* 2004;350(21):2140–50. doi: 10.1056/NEJMoa032423.
68. Van Bommel RJ, Mollema SA, Borleffs CJ, Bertini M, Ypenburg C, Marsan NA, Delgado V, Van Der Wall EE, Schalij MJ, Bax JJ. Impaired renal function is associated with echocardiographic nonresponse and poor prognosis after cardiac resynchronization therapy. *J Am Coll Cardiol.* 2011;57(5):549–55. doi: 10.1016/j.jacc.2010.06.060.
69. Moss AJ, Hall WJ, Cannom DS, Klein H, Brown MW, Daubert JP, Estes NA 3rd, Foster E, Greenberg H, Higgins SL, Pfeffer MA, Solomon SD, Wilber D, Zareba W; MADIT-CRT Trial Investigators. Cardiac-resynchronization therapy for the prevention of heart-failure events. *N Engl J Med.* 2009;361(14):1329–38. doi: 10.1056/NEJMoa0906431.
70. Yue Y, Binalsheikh IM, Leach SB, Domeier TL, Duan D. Prospect of gene therapy for cardiomyopathy in hereditary muscular dystrophy. *Expert Opin Orphan Drugs.* 2016;4(2):169–83. doi: 10.1517/21678707.2016.1124039
71. Lai Y, Yue Y, Liu M, Ghosh A, Engelhardt JF, Chamberlain JS, Duan D. Efficient in vivo gene expression by trans-splicing adeno-associated viral vectors. *Nat Biotechnol.* 2005;23(11):1435–9. doi: 10.1038/nbt1153.
72. Ghosh A, Yue Y, Lai Y, Duan D. A hybrid vector system expands adeno-associated viral vector packaging capacity in a transgene independent manner. *Mol Ther.* 2008;16(1):124–30. doi: 10.1038/sj.mt.6300322.
73. Bostick B, Shin JH, Yue Y, Duan D. AAV-microdystrophin therapy improves cardiac performance in aged female mdx mice. *Mol Ther.* 2011;19(10):1826–32. doi: 10.1038/mt.2011.154.
74. Bostick B, Shin JH, Yue Y, Wasala NB, Lai Y, Duan D. AAV micro-dystrophin gene therapy alleviates stress-induced cardiac death but not myocardial fibrosis in >21-m-old mdx mice, an end-stage model of Duchenne muscular dystrophy cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol.* 2012;53(2):217–22. doi: 10.1016/j.yjmcc.2012.05.002.
75. Bostick B, Yue Y, Lai Y, Long C, Li D, Duan D. Adeno-associated virus serotype-9 microdystrophin gene therapy ameliorates electrocardiographic abnormalities in mdx mice. *Hum Gene Ther.* 2008;19(8):851–6. doi: 10.1089/hum.2008.058.
76. Shin JH, Bostick B, Yue Y, Hajjar R, Duan D. SERCA2a gene transfer improves electrocardiographic performance in aged mdx mice. *J Transl Med.* 2011;9:132. doi: 10.1186/1479-5876-9-132.
77. Hikoso S, Ikeda Y, Yamaguchi O, Takeda T, Higuchi Y, Hirotsu S, Kashiwase K, Yamada M, Asahi M, Matsumura Y, Nishida K, Matsuzaki M, Hori M, Otsu K. Progression of heart failure was suppressed by inhibition of apoptosis signal-regulating kinase 1 via transcortical gene transfer. *J Am Coll Cardiol.* 2007;50(5):453–62. doi: 10.1016/j.jacc.2007.03.053.
78. Qiao C, Wang CH, Zhao C, Lu P, Awano H, Xiao B, Li J, Yuan Z, Dai Y, Martin CB, Li J, Lu Q, Xiao X. Muscle and heart function restoration in a limb girdle muscular dystrophy 2I (LGMD2I) mouse model by systemic FKRP gene delivery. *Mol Ther.* 2014;22(11):1890–9. doi: 10.1038/mt.2014.141.
79. Cannavo A, Komici K, Bencivenga L, D'Amico ML, Gambino G, Liccardo D, Ferrara N, Rengo G. GRK2 as a therapeutic target for heart failure. *Expert Opin Ther Targets.* 2018;22(1):75–83. doi: 10.1080/14728222.2018.1406925.
80. Rengo G, Lymperopoulos A, Zincarelli C, Donnicu M, Soltys S, Rabinowitz JE, Koch WJ. Myocardial adeno-associated virus serotype 6-betaARKct gene therapy improves cardiac function and normalizes the neurohormonal axis in chronic heart failure. *Circulation.* 2009;119(1):89–98. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.803999.
81. Raake PW, Schlegel P, Ksienzyk J, Reinkober J, Barthelme J, Schinkel S, Pleger S, Mier W, Haberkorn U, Koch WJ, Katus HA, Most P, Müller OJ. AAV6.βARKct cardiac gene therapy ameliorates cardiac function and normalizes the catecholaminergic axis in a clinically relevant large animal heart failure model. *Eur Heart J.* 2013;34(19):1437–47. doi: 10.1093/eurheartj/ehr447.
82. Williams ML, Hata JA, Schroder J, Rampeaud E, Petrofski J, Jakoi A, Milano CA, Koch WJ. Targeted beta-adrenergic receptor kinase (betaARK1) inhibition by gene transfer in failing human hearts. *Circulation.* 2004;109(13):1590–3. doi: 10.1161/01.CIR.0000125521.40985.28.
83. Kawada T, Nakazawa M, Toyo-Oka T. Somatic gene therapy of dilated cardiomyopathy. *Nihon Yakurigaku Zasshi.* 2002;119(1):37–44. Japanese. doi: 10.1254/fjp.119.37.
84. Most P, Pleger ST, Völkers M, Heidt B, Boerries M, Weichenhan D, Löffler E, Janssen PM, Eckhart AD, Martini J, Williams ML, Katus HA, Remppis A, Koch WJ. Cardiac adenoviral S100A1 gene delivery rescues failing myocardium. *J Clin Invest.* 2004;114(11):1550–63. doi: 10.1172/JCI21454.
85. Pleger ST, Shan C, Ksienzyk J, Bekeredjian R, Boekstegers P, Hinkel R, Schinkel S, Leuchs B, Ludwig J, Qiu G, Weber C, Raake P, Koch WJ, Katus HA, Müller OJ, Most P. Cardiac AAV9-S100A1 gene therapy rescues post-ischemic heart failure in a preclinical large animal model. *Sci Transl Med.* 2011;3(92):92ra64. doi: 10.1126/scitranslmed.3002097.
86. Watanabe S, Ishikawa K, Fish K, Oh JG, Motloch LJ, Kohlbrenner E, Lee P, Xie C, Lee A, Liang L, Kho C, Leonardson L, McIntyre M, Wilson S, Samulski RJ, Kranias EG, Weber T, Akar FG, Hajjar RJ. Protein Phosphatase Inhibitor-1 Gene Therapy in a Swine Model of Nonischemic Heart Failure. *J Am Coll Cardiol.* 2017;70(14):1744–56. doi: 10.1016/j.jacc.2017.08.013.
87. Mearini G, Stimpel D, Geertz B, Weinberger F, Krämer E, Schlossarek S, Mourou-Filiatre J, Stoehr A, Dutsch A, Wijnker PJ, Braren I, Katus HA, Müller OJ, Voit T, Eschenhagen T, Carrier L. Mybpc3 gene therapy for neonatal cardiomyopathy enables long-term disease prevention in mice. *Nat Commun.* 2014;5:5515. doi: 10.1038/ncomms6515.
88. del Monte F, Williams E, Lebeche D, Schmidt U, Rosenzweig A, Gwathmey JK, Lewandowski ED, Hajjar RJ. Improvement in survival and cardiac metabolism after gene transfer of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase in a rat model of heart failure. *Circulation.* 2001;104(12):1424–9.
89. del Monte F, Lebeche D, Guerrero JL, Tsuji T, Doye AA, Gwathmey JK, Hajjar RJ. Abrogation of ventricular arrhythmias in a model of ischemia and reperfusion by targeting myocardial calcium cycling. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(15):5622–7. doi: 10.1073/pnas.0305778101.
90. Peña JR, Szkudlarek AC, Warren CM, Heinrich LS, Gaffin RD, Jagatheesan G, del Monte F, Hajjar RJ, Goldspink PH, Solaro RJ, Wiecek DF, Wolska BM. Neonatal gene transfer of Serca2a delays onset of hypertrophic remodeling and improves function in familial hypertrophic cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol.* 2010;49(6):993–1002. doi: 10.1016/j.yjmcc.2010.09.010.
91. Tsubata S, Bowles KR, Vatta M, Zintz C, Titus J, Muhonen L, Bowles NE, Towbin JA. Mutations in the human delta-sarcoglycan gene in familial and sporadic dilated cardiomyopathy. *J Clin Invest.* 2000;106(5):655–62. doi: 10.1172/JCI9224.
92. Goehring C, Rutschow D, Bauer R, Schinkel S, Weichenhan D, Bekeredjian R, Straub V, Kleinschmidt JA, Katus HA, Müller OJ. Prevention of cardiomyopathy in delta-sarcoglycan knockout mice after systemic transfer of targeted adeno-associated viral vectors. *Cardiovasc Res.* 2009;82(3):404–10. doi: 10.1093/cvr/cvp061.
93. He B, Tang RH, Weisleder N, Xiao B, Yuan Z, Cai C, Zhu H, Lin P, Qiao C, Li J, Mayer C, Li J, Ma J, Xiao X. Enhancing muscle membrane repair by gene delivery of MG53 ameliorates muscular dystrophy and heart failure in δ-Sarcoglycan-deficient hamsters. *Mol Ther.* 2012;20(4):727–35. doi: 10.1038/mt.2012.5.
94. Prondzynski M, Mearini G, Carrier L. Gene therapy strategies in the treatment of hypertrophic cardiomyopathy. *Pflugers Arch.* 2019;471(5):807–15. doi: 10.1007/s00424-018-2173-5.
95. Heckmann MB, Bauer R, Jungmann A, Winter L, Rapti K, Strucksberg KH, Clemen CS, Li Z, Schröder R, Katus HA, Müller OJ. AAV9-mediated gene transfer of desmin ameliorates cardiomyopathy in desmin-deficient mice. *Gene Ther.* 2016;23(8-9):673–9. doi: 10.1038/gt.2016.40.



96. Pattison JS, Osinska H, Robbins J. Atg7 induces basal autophagy and rescues autophagic deficiency in CryABR120G cardiomyocytes. *Circ Res.* 2011;109(2):151–60. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.110.237339.
97. Maloyan A, Sayegh J, Osinska H, Chua BH, Robbins J. Manipulation of death pathways in desmin-related cardiomyopathy. *Circ Res.* 2010;106(9):1524–32. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.109.212639.
98. Wang X, Klevitsky R, Huang W, Glasford J, Li F, Robbins J. AlphaB-crystallin modulates protein aggregation of abnormal desmin. *Circ Res.* 2003;93(10):998–1005. doi: 10.1161/01.RES.0000102401.77712.ED.
99. Sanbe A, Daicho T, Mizutani R, Endo T, Miyauchi N, Yamauchi J, Tanonaka K, Glabe C, Tanoue A. Protective effect of geranylgeranylacetone via enhancement of HSPB8 induction in desmin-related cardiomyopathy. *PLoS One.* 2009;4(4):e5351. doi: 10.1371/journal.pone.0005351.
100. Karakikes I, Stillitano F, Nonnenmacher M, Tzimas C, Sanoudou D, Termglinchan V, Kong CW, Rushing S, Hansen J, Ceholski D, Kolokathis F, Kremastinos D, Katoulis A, Ren L, Cohen N, Gho JMIH, Tsiapras D, Vink A, Wu JC, Asselbergs FW, Li RA, Hulot JS, Kranias EG, Hajjar RJ. Correction of human phospholamban R14del mutation associated with cardiomyopathy using targeted nucleases and combination therapy. *Nat Commun.* 2015;6:6955. doi: 10.1038/ncomms7955.
101. Jiang J, Wakimoto H, Seidman JG, Seidman CE. Allele-specific silencing of mutant Myh6 transcripts in mice suppresses hypertrophic cardiomyopathy. *Science.* 2013;342(6154):111–4. doi: 10.1126/science.1236921.
102. McLaughlin HM, Kelly MA, Hawley PP, Darvas BT, Funke B, Picker J. Compound heterozygosity of predicted loss-of-function DES variants in a family with recessive desminopathy. *BMC Med Genet.* 2013;14:68. doi: 10.1186/1471-2350-14-68.

Cardiomyopathies associated with the *DES* gene mutations: molecular pathogenesis and gene therapy approaches

K.S. Kochergin-Nikitsky¹ • E.V. Zaklyazminskaya^{2,3} • A.V. Lavrov^{1,3} • S.A. Smirnikhina¹

Cardiomyopathy (CMP) is a common group of cardiovascular disorders. Genetic (primary) cardiomyopathies are related to abnormalities in more than 100 genes, including the *DES* gene encoding desmin protein. Desmin is an essential member of the intermediate filaments, ensuring the structural and functional integrity of myocytes. Mutations in the *DES* gene result in desmin-related cardiomyopathy with progressive course and poor prognosis. By now, specific therapy for cardiomyopathy has not been developed. Existing conservative and surgical treatment modalities target the rate of heart failure progression and sudden cardiac death prevention but have limited efficacy. The development of gene therapy and genome editing could allow for creating effective and specific methods of gene-based therapy for desminopathies. A number of studies have been published on the use of gene therapy for various genetic cardiomyopathies including those caused by the *DES* gene mutations, while genome editing has not been used yet. However, promising results have been obtained with CRISPR/Cas9 and TALEN editing systems to correct for “gain-of-function

mutations” in some other genes, such as *MYBPC3* and *PLN*. There is also evidence of the possibility to reduce the symptoms of desmin-related cardiomyopathy up to the normal function by knocking out the mutant *DES* allele, and preserved protein function provided by expression of the normal allele. We believe that genome editing approaches have an open perspective into the development of specific and effective methods to treat desminopathies.

Key words: cardiomyopathy, desmin, desminopathy, medical genetics, gene therapy, genome editing, CRISPR/Cas9

For citation: Kochergin-Nikitsky KS, Zaklyazminskaya EV, Lavrov AV, Smirnikhina SA. Cardiomyopathies associated with the *DES* gene mutations: molecular pathogenesis and gene therapy approaches. *Almanac of Clinical Medicine.* 2019;47(7):603–13. doi: 10.18786/2072-0505-2019-47-025.

Received 29 May 2019; accepted 18 July 2019; published online 9 July 2019

Funding

The study was partially supported by the Russian Science Foundation, grant No 16-15-10421. The results of parts “Gene therapy based approaches in desmin-related cardiomyopathies” and “Genome editing in desmin-related cardiomyopathies” were obtained within the state assignment of Ministry of Science and Higher Education of Russian Federation.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests.

Authors' contributions

All the authors have contributed significantly to the literature analysis and manuscript preparation, have read and approved its final version before the publication.

Konstantin S. Kochergin-Nikitsky – PhD (in Biol.), Senior Research Fellow, Laboratory of Mutagenesis¹; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0096-4542>.

✉ 19/4–424 Novoyasenevskiy prospekt, Moscow, 117593, Russian Federation. Tel.: +7 (977) 830 94 95. E-mail: KochNik.KS@gmail.com

Elena V. Zaklyazminskaya – MD, PhD, Head of Laboratory of Medical Genetics²; Associate Professor, Department of Cell Biology and Molecular Genetics, Medical-Biological Faculty³; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6244-9546>. E-mail: helenezak@gmail.com

Alexander V. Lavrov – MD, PhD, Leading Research Fellow, Laboratory of Genome Editing¹; Associate Professor, Department of Cell Biology and Molecular Genetics, Medical-Biological Faculty³; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4962-6947>. E-mail: alexandervlavrov@gmail.com

Svetlana A. Smirnikhina – MD, PhD, Head of the Laboratory of Genome Editing¹; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1558-3048>. E-mail: smirnikhinas@gmail.com

¹ Research Centre for Medical Genetics; 1 Moskvorech'e ul., Moscow, 115522, Russian Federation

² Petrovsky National Research Center of Surgery; 2 Abrikosovskiy pereulok, Moscow, 119991, Russian Federation

³ Pirogov Russian National Research Medical University (RNRMU); 1 Ostrovityanova ul., Moscow, 117997, Russian Federation