

На правах рукописи

**Татарина Татьяна Николаевна**

**Роль мутаций гена *NOTCH1* в развитии коарктации аорты**

14.01.05 – кардиология

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2016



## Общая характеристика работы

### Актуальность темы исследования

В России ежегодно рождается от 40 до 45 тысяч детей с врожденными пороками сердца (ВПС) [Шабалов Н.П., 2003]. По данным New England Regional Infant Cardiac Program коарктация аорты (КоА) входит в четверку наиболее часто встречающихся пороков, требующих катетеризации сердца или хирургического лечения в течение первого года жизни [Moss A.J., Adams F.H., 2008]. Изолированная КоА приводит к смерти 41-46% младенцев, а при ее сочетании с другими ВПС умирают 70-90% детей до года [Hessleini P.S., 1983]. Основная причина смерти – сердечная недостаточность.

КоА, манифестирующая симптомами сердечной недостаточности в периоде новорожденности, требует незамедлительного оперативного вмешательства [Kilman J.W., 1972]. В целом, чем раньше проявляется заболевание, тем тяжелее оно протекает и неблагоприятнее его последствия. Поэтому особенно важно выявление заболевания в максимально короткие сроки. При ранней диагностике, стабилизации состояния ребенка и своевременной коррекции порока, летальность вследствие хирургического лечения изолированной КоА достаточно низкая [Wood A.E., 2004; Wright G.E., 2005]. Однако, в связи с особенностями внутриутробного кровообращения плода, фетальная эхокардиография позволяет правильно идентифицировать КоА лишь в 30% случаев [Медведев М.В., 2000; Head C.E., 2005].

Причина возникновения КоА до сих пор не установлена. Исследования последних лет указывают на наличие генетической составляющей в развитии аномалий выходного отдела левого желудочка (ВОЛЖ), в том числе и КоА [Cripe L., 2004; McBride K.L., 2005]. Однако до сих пор не найдены конкретные гены, участвующие в формировании КоА, а также нет данных о факторах риска, способствующих развитию заболевания. В этом аспекте чрезвычайно интересным представляется исследование гена *NOTCH1*, участвующего на раннем этапе в эмбриогенезе сердца и сосудов [Mohamed S.A., 2006; McBride K.L., 2008].

Подводя итог выше изложенному, следует заключить что, несмотря на многочисленные исследования, посвященные изучению причин и механизмов, приводящих к формированию коарктации аорты, генез развития данного порока до

сих пор не установлен, что делает тему актуальной с научной и практической точек зрения. Высокая частота критических состояний в постнатальном периоде и сложность внутриутробной диагностики КоА диктует необходимость поиска альтернативных методов выявления лиц с высоким риском рождения ребенка с данной патологией с целью ранней диагностики и своевременного оперативного лечения.

### **Степень разработанности темы исследования**

Существенный вклад в изучение этиологии возникновения коарктации аорты, в том числе генетической составляющей внесли работы зарубежных исследователей: J.Skoda, A. Rudolf, H.Rosenberg, E.B. Clark, C.A. Boucher, G. Andelfinger, F.A. High, J.A. Epstein, K.L. McBride.

В течение последних лет, благодаря развитию современных технологий в области молекулярной генетики, существенно изменилось представление о патогенезе ВПС. В настоящее время описаны мутации более 30 генов, приводящих к возникновению изолированных ВПС. Влияние генетических факторов на формирование аномалий ВОЛЖ, в том числе и КоА, подтверждается высокой частотой встречаемости этой патологии среди близких родственников. Однако в настоящее время отсутствуют работы, доказывающие влияние конкретных генов на развитие КоА, нет альтернативных методов диагностики данного порока в антенатальном периоде, несмотря на трудности его диагностики с помощью эхокардиографии плода.

### **Цель исследования**

На основании анализа семейных форм заболевания и поиска мутаций в гене *NOTCH1* оценить вклад генетической составляющей в развитии коарктации аорты.

### **Задачи исследования**

1. Охарактеризовать морфофункциональные особенности коарктации аорты в изолированном ее варианте и в сочетании с двустворчатым клапаном аорты и другими врожденными пороками сердца.
2. Определить частоту семейных случаев коарктации аорты и других врожденных аномалий выходного тракта левого желудочка.
3. Провести генетическое обследование пациентов с коарктацией аорты на предмет наличия мутаций и редких полиморфных вариантов гена *NOTCH1*.

4. Установить связь между существованием замен/мутаций в гене *NOTCH1* и клиническими особенностями коарктации аорты.

#### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Наследственность играет важную роль в развитии коарктации аорты. У родителей с аномалиями выходного отдела левого желудочка, в том числе и с двустворчатым аортальным клапаном, риск рождения ребенка с коарктацией аорты выше. Дети, имеющие отягощенную наследственность по врожденным порокам сердца, и в частности аномалиям выходного отдела левого желудочка, значительно чаще имеют сочетанную врожденную патологию сердца.

2. Для гена *NOTCH1* характерна высокая изменчивость. Пациенты с редкими полиморфными вариантами гена *NOTCH1* чаще имеют сочетанную патологию аорты. Замены в гене *NOTCH1* могут быть ассоциированы с развитием коарктацией аорты. Для доказательной базы патогенеза заболевания особенно важно идентифицировать ген вариант/мутация, исследуя достаточное количество человек в контрольной группе, прошедших функциональное обследование.

#### **Научная новизна**

Выявлены дополнительные факторы риска, влияющие на течение беременности и формирование коарктации аорты у плода. В результате исследования установлено, что отягощенная наследственность по ВПС в сочетании с профессиональными вредностями родителей увеличивают риск развития коарктации аорты почти в 2 раза, тогда как отягощенный акушерский анамнез не влияет на формирование заболевания. Наличие отягощенной беременности и экстрагенитальной патологии у матери ведут к увеличению частоты возникновения врожденных аномалий выходного отдела левого желудочка у ребенка.

Установлено, что у пациентов с коарктацией аорты, родители которых имели врожденные пороки сердца (в том числе двустворчатый клапан аорты), частота развития сочетанной врожденной патологии выходного тракта левого желудочка выше.

В проведенном исследовании впервые представлены данные, полученные путем прямого секвенирования 10 экзонов гена *NOTCH1* от 200 человек контрольной группы, прошедших функциональное обследование сердца и не

имеющих внутрисердечных аномалий. В работе выявлено несколько новых, а также ранее опубликованных вариантов гена *NOTCH1* как у пациентов с коарктацией аорты, так и в контрольной группе.

Впервые продемонстрированы разные варианты замен гена *NOTCH1* у пациентов с сочетанием коарктации аорты и двустворчатого клапана аорты в зависимости от нарушения функции аортального клапана.

Благодаря выявлению редких генетических вариантов, встречающихся с частотой ниже 1%, проведенное нами исследование подтверждает высокую изменчивость гена *NOTCH1*. Установлена связь варианта R1279H гена *NOTCH1* с развитием коарктации аорты.

Показано, что замена R1279H в гене *NOTCH1* может представлять собой ассоциированный с болезнью аллель и при наличии неблагоприятных факторов способствовать развитию коарктации аорты. Также нами предложена математическая модель прогнозирования развития КоА на основании исследования замен гена *NOTCH1*. Проведенное исследование служит дополнительным подтверждением существования наследственной предрасположенности к развитию коарктации аорты, а также объясняет частую ассоциированность данного порока с другими врожденными пороками сердца.

### **Практическая значимость**

Выявление факторов риска, способствующих развитию коарктации аорты, позволило выделить группу лиц, имеющих высокий риск рождения ребенка с данной патологией, и обосновать необходимость медико-генетического консультирования и эхокардиографического обследования будущих родителей, в том числе отца ребенка.

В комплексе скринингового обследования новорожденных, родители которых имеют аномалии выходного отдела левого желудочка, и в частности двустворчатый клапан аорты, рекомендовано проведение эхокардиографического исследования, вне зависимости от отсутствия у них патологии по данным внутриутробной диагностики сердца плода.

При проведении медико-генетического консультирования пациентов с двустворчатым клапаном аорты необходимо детальное уточнение анатомии и функции клапана.

## **Методология и методы исследования**

Объектом исследования были 68 пациентов с коарктацией аорты различной локализации, степени сужения и протяженности, предметом исследования – факторы риска развития заболевания. В работе использованы общеклинические, лабораторные и инструментальные методы исследования, соответствующие современному методическому уровню обследования больных с коарктацией аорты. Достоверность полученных данных подтверждена методами математической статистики.

### **Степень достоверности и апробация материалов диссертации**

Степень достоверности полученных в работе результатов определяется достаточным объемом выборки, а также использованием современных методов исследования. Кроме того, достоверность подтверждена адекватными методами статистической обработки данных. Полученные результаты соответствуют поставленным задачам.

Материалы исследования представлены в виде докладов и обсуждены на Российском национальном конгрессе кардиологов в Казани в 2014 г., на XVIII Конгрессе педиатров России в 2015 г. в Москве и на Европейских конгрессах кардиологов в 2011 г. (Париж, Франция) и в 2015 г. (Лондон, Великобритания).

По материалам диссертации опубликовано 6 научных работ, из них 3 статьи в рецензируемых журналах.

### **Внедрение результатов исследования**

Результаты исследования внедрены в практику обучения слушателей, интернов, клинических ординаторов и аспирантов на кафедре педиатрии имени профессора И.М. Воронцова факультета послевузовского и дополнительного профессионального образования ГБОУ ВПО «СПбГПМУ» Минздрава России, а также в работу Института перинатологии и педиатрии ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, характеристики обследованных пациентов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 5 отечественных и 153 зарубежных источников.

Диссертация изложена на 96 страницах машинописного текста, содержит 10 таблиц и 8 рисунков.

## Содержание работы

### Материалы и методы исследования

Протокол исследования был одобрен этическим комитетом ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Минздрава России, и письменное информированное согласие, в том числе и отдельно на генетическое обследование, было получено от детей старше двенадцати лет и от всех родителей пациентов. В исследование включено 68 пациентов с КоА различной локализации, степени сужения и протяженности, перенесших хирургическое лечение в ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России в период с 2008 по 2011 годы, а также в других российских кардиохирургических клиниках в более ранние сроки.

Все обследованные были разделены на 2 группы: пациенты с изолированной КоА и пациенты, имеющие сочетание КоА с двустворчатым клапаном аорты (БАК). Клинико-демографическая характеристика групп приведена в таблице 1.

Таблица 1 – Клинико-демографическая характеристика пациентов с коарктацией аорты

	КоА n=68		Подгруппы			
			Изолиро- ванная КоА n <sub>1</sub> =30		КоА с БАК n <sub>2</sub> =38	
Возраст на момент обследования, лет	11,2±1,2		9,1±1,6		12,9±1,8	
Пол (м:ж)	47:21		17:13		30:8*	
	n	%	n	%	n	%
Локализация КоА						
Типичная	65	95,6	27	90	38	100
Атипичная	3	4,4	3	10	0	0
Гипоплазия дуги аорты	22	32,4	12	40	10	26,3
Гипоплазия нисходящей аорты	9	13,2	4	13,3	5	13,2



Гипоплазия левой подключичной артерии	8	11,8	2	6,7	6	15,8**
Перерыв дуги аорты	2	2,9	0	0	2	5,3

**Примечание:** Результаты представлены  $M \pm m$ .

Достоверность различий: \* -  $p=0,05$ ; \*\* -  $p<0,05$

В контрольную группу вошли 60 практически здоровых детей без пороков сердца по данным эхокардиографического исследования.

Собран подробный анамнез об особенностях течения беременности и родов, наличия отягощенной наследственности, экстрагенитальной патологии матери, профессиональных вредностей исследуемой и контрольной групп.

Всем пациентам выполнялось стандартное эхокардиографическое исследование на аппарате Philips iE33 (США), непрямая манометрия (измерения артериального давления на руках и ногах) с помощью механических тонометров. Большинству пациентов выполнялась прямая манометрия в рамках диагностической или лечебной аортографии, мультиспиральная компьютерная аортография, а также интраоперационная ревизия зоны коарктации. С помощью стандартного эхокардиографического исследования обследованы все доступные родители пациентов с КоА и все родители детской контрольной группы на предмет наличия у них ВПС.

Молекулярно-генетическое исследование выполнено у 51 пациента с КоА. В контрольную группу для генетического исследования вошли 200 человек, не имеющих структурных внутрисердечных аномалий по данным эхокардиографического исследования.

Мы применили стратегию целевого скрининга мутаций, обследовав 10 из 34 экзонов гена *NOTCH1*, ранее замешанных в развитии ВПС и магистральных сосудов. Геномная ДНК была выделена из периферической крови с использованием набора реагентов FlexiGene DNA purification Kit (Qiagen, GmbH, Hilden, Germany). Скрининг мутаций был проведен путем прямого секвенирования амплифицированных фрагментов на капиллярном секвенаторе ABI (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) с использованием BigDye Terminator v3.1 mix (Applied Biosystems). Для сравнительного анализа ДНК использовали эталонные

последовательности *NOTCH1* из соответствующей базы данных секвенированных геномов (GeneBank Accession Количество NM\_017617.3 из NCBI).

Статистическая обработка данных проведена с использованием прикладных статистических программ Statistica for Windows ver 10.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA). Результаты представлены в виде среднего арифметического значения (M), ошибки среднего арифметического (m) и количества признаков в группе (n). Для анализа номинальных данных использовались различные варианты критерия хи-квадрат и критерий Фишера. Для проверки гипотез относительного различия двух независимых выборок порядковых переменных использовались критерий Стьюдента, критерий Манна-Уитни (Mann-Whitney U Test) и метод ANOVA с последующими post hoc тестами. Критерий значимости статистических методов устанавливался на уровне  $p=0,05$  (5%).

### **Результаты исследования**

Среди пациентов с КоА лица мужского пола встречались в 2 раза чаще: 2,2:1. В 55,9% случаев КоА сочеталась с БАК. Такая сочетанная врожденная патология также чаще встречалась у пациентов мужского пола ( $p=0,05$ ). В 95,6% случаев наблюдалась типичная КоА (зона перешейка, ниже отхождения левой подключичной артерии). Сочетание КоА с гипоплазией дуги встречалось в 32,4% случаев, с гипоплазией нисходящей аорты в 13,2% случаев и с гипоплазией левой подключичной артерии в 11,8% случаев. 2,9% пациентов имели крайнюю степень коарктации – перерыв дуги аорты. Средний пиковый градиент давления между зонами до и после сужения аорты составил 46 мм рт.ст. Достоверных различий степени сужения аорты в подгруппах с изолированной КоА и сочетанием КоА с БАК не выявлено. Доля пациентов с рекоарктацией аорты в исследуемых подгруппах также была одинаковой. Число пациентов, имеющих аномалию митрального клапана, было выше в подгруппе лиц, имеющих КоА с БАК ( $\chi^2=5,27$   $p=0,022$ ), тогда как доля других ВПС (ОАП, ДМПП и ДМЖП) в обеих подгруппах оказалась примерно одинаковой. Клиническая характеристика групп приведена в таблице 2.

Таблица 2 - Клиническая характеристика пациентов с коарктацией аорты

	КоА n=68		Подгруппы			
			Изолиро- ванная КоА n <sub>1</sub> =30		КоА с БАК n <sub>2</sub> =38	
Средний пиковый градиент давления на КоА	68	45,7±2,6	30	46,4± 4,2	38	45,1±3,4
	n	%	N	%	n	%
Пациенты с рекоарктацией аорты	14	20,6	7	23,3	7	18,4
Пациенты с повторной рекоарктацией аорты	2	2,9	2	6,7	0	0
Пациенты с двустворчатым клапаном аорты	38	55,9	0	0	38	100
1) с аортальным стенозом	15	22,1	0	0	15	39,5
2) с аортальной недостаточностью	17	25,0	0	0	17	44,7
I степень	11	64,7	0	0	11	28,9
II степень	2	11,8	0	0	2	5,3
III степень	4	23,5	0	0	4	10,5
Пациенты с субаортальным стенозом	2	2,9	0	0	2	5,26
Пациенты с неполным комплексом Шона	2	2,9	0	0	2	5,26
Пациенты с аномалией митрального клапана	9	13,2	1	3	8	21,05
1) митральный стеноз	2	2,9	0	0	2	5,3
2) митральная недостаточность	8	11,8	2	6,7	6	15,8
Пациенты с полным комплексом Шона	1	1,5	0	0	1	2,63
Пациенты с другими ВПС	18	26,5	7	23,3	11	28,9
- открытый артериальный проток	12	17,6	6	20	6	15,79
- дефект межжелудочковой перегородки	9	13,2	4	13,3	5	13,16
- дефект межпредсердной перегородки	6	8,8	2	6,67	4	10,53
- транспозиция магистральных артерий	1	1,5	1	3,33	0	0

Эхокардиографическое обследование выполнено у 77 родителей пациентов с КоА, среди которых матерей было 56 (82,4%). Доля обследованных отцов составила 30,9% в общей группе, 23,8% из них имели БАК. Из обследованных матерей только 3,6% имели БАК, что незначительно выше, чем данные общепопуляционной статистики (1-2%). Процент всех ВПС у обследованных родителей составил 19,1%.

В целом у пациентов с КоА, родители которых имели ВПС (в том числе БАК), частота развития сочетанной врожденной патологии ВОЛЖ была значительно выше ( $\chi^2=21,6$   $p<0,001$ ).

В детскую контрольную группу вошли 60 человек (средний возраст  $7,0\pm 4,9$  года). В контрольную группу для генетического исследования вошли 200 человек старше 18 лет, средний возраст составил  $46,7\pm 8,8$  года.

На основании собранного анамнеза отягощенная наследственность по ВПС в общей группе наблюдалась в 33,8% случаев, данный показатель был в 1,5 раза выше в группе, имеющей сочетание КоА с БАК. Высокий процент осложнений во время беременности зарегистрирован в общей группе пациентов с КоА (57,4%), тогда как существенной разницы этого показателя между двумя подгруппами выявлено не было. С профессиональными вредностями на производстве, в основном, сталкивались отцы (19,1% в общей группе). При этом достоверных различий между двумя подгруппами не получено. Выявлена тенденция к увеличению частоты экстрагенитальной патологии у матери в подгруппе пациентов, имеющих сочетание коарктации с БАК (18,4%), по сравнению с подгруппой детей с изолированной КоА (16,7%). Наличие отягощенной беременности и экстрагенитальной патологии у матери было тесно связано с увеличением сочетанных врожденных аномалий ВОЛЖ ( $\chi^2=6,95$   $p<0,01$ ).

По данным сравнительного статистического анализа пациентов с КоА и детской контрольной группы выяснилось, что отягощенная наследственность по ВПС (в том числе БАК) увеличивала риск рождения ребенка с КоА в 1.57 раза (относительный риск  $RR=1.9$ ,  $CI=(1.44,2.5)$ ), наличие профессиональных вредностей у родителей – в 1,46 раза (относительный риск  $RR=1.58$ ,  $CI=(1.16,2.16)$ ). Отягощенный акушерский анамнез не влиял на развитие данного заболевания (относительный риск  $RR=0.34$ ,  $CI=(0.16,0.69)$ ). Сочетание отягощенной наследственности с вредностями на производстве у родителей увеличивало риск рождения ребенка с КоА в 1.88 раза (относительный риск  $RR=1.95$ ,  $CI=(1.64,2.31)$ ).

Десять из 34 экзонов гена *NOTCH1* и прилегающих к нему интронов были секвенированы у 51 пациента с КоА и у 200 человек контрольной группы. В общей сложности было выявлено 29 вариантов среди пациентов исследуемой и

контрольной группы, из них 13 находилось в кодирующих областях. Девять из 29 вариантов были описаны впервые, из них 5 расположены в экзонах. Семь вариантов, в том числе 6 экзонных, были найдены только в контрольной группе, 3 из них не были описаны ранее. Вариант P2377L был обнаружен только один раз и только в контрольной группе. Из 29 выявленных вариантов 3 приводят к замене аминокислот, однако только вариант R1279H был обнаружен и в исследуемой и в контрольной группах. Тем не менее, данный вариант встречался значительно чаще у пациентов с КоА по сравнению с контрольной группой лиц без ВПС ( $p=0,00026$ ). Вариант F1259I наблюдался у 8 человек контрольной группы и поэтому расценен как полиморфизм.

Пациенты с КоА, носители варианта R1279H, значительно чаще имели сочетанную гипоплазию дуги и нисходящей аорты по сравнению с пациентами без данной замены в геноме. В проводимом нами исследовании не получено значительной разницы по другим клиническим характеристикам между пациентами этих двух групп. Клинические данные пациентов с КоА в зависимости от наличия или отсутствия у них замены R1279H приведены в таблице 3.

Таблица 3 - Характеристика пациентов с коарктацией аорты с наличием или отсутствием у них варианта R1279H в гене *NOTCH1*

	Пациенты без замены R1279H, n=44			Пациенты с заменой R1279H, n=7		
	n=44	м (n=29)	ж (n=14)	n=7	м (n=5)	ж (n=2)
БАК	29 (66,0)	21 (72,0)	8 (57,0)	5 (71,0)	5 (100,0)	0 (0,0)
Гипоплазия дуги аорты	10 (23,0)	6 (20,7)	4 (28,6)	3 (42,9)	2 (40,0)	1 (50,0)
Гипоплазия нисходящей аорты	6 (13,6)	4 (13,8)	2 (14,3)	2 (28,6)	1 (20,0)	1 (50,0)
Гипоплазия дуги и нисходящей аорты	2 (4,5)	1 (3,4)	1 (7,1)	2** (28,6)	1 (20,0)	1 (50,0)
Гипоплазия левой подключичной артерии	5 (11,4)	4 (13,8)	1 (7,1)	1 (14,3)	1 (20,0)	0 (0,0)
Перерыв дуги аорты	2 (4,5)	1 (3,4)	1 (7,1)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Аномалия митрального клапана	7 (16,0)	2 (6,9)	5 (35,7)	1 (14,3)	1 (20,0)	0 (0,0)
Субаортальный стеноз	2 (4,5)	1 (3,4)	1 (7,1)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Другие ВПС	11 (25,0)	6 (20,7)	5 (35,7)	2 (28,6)	1 (20,0)	1 (50,0)
1) ОАП	7	6 (20,7)	1	1 (14,3)	0	1 (50,0)

	(16,0)		(7,1)		(0,0)	
2) ДМЖП	5 (11,4)	3 (10,3)	2 (14,3)	1 (14,3)	1 (20,0)	0 (0,0)
3) ДМПП	2 (4,5)	1 (3,4)	1 (7,1)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Отягощённая наследственность по ВПС	15 (34,0)	11 (37,9)	4 (28,6)	3 (42,9)	2 (40,0)	1 (50,0)
1) по линии матери	9 (20,5)	6 (20,7)	2 (14,3)	2 (28,6)	1 (20,0)	1 (50,0)
2) по линии отца	4 (9,1)	4 (13,8)	0 (0,0)	1 (14,3)	1 (20,0)	0 (0,0)
3) по линии обоих родителей	2 (4,5)	1 (3,4)	1 (7,1)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Отягощённый акушерский анамнез	6 (13,6)	3 (10,3)	3 (21,4)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Отягощённая беременность	25 (56,8)	18 (62,0)	7 (50,0)	4 (57,1)	2 (40,0)	2 (100,0)
Профессиональные вредности						
Мамы	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (14,3)	0 (0,0)	1 (50,0)
Папы	11 (25,0)	11 (37,9)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Обследованные родители						
Мамы	36 (81,8)	26 (89,6)	10 (71,4)	4 (57,1)	3 (60,0)	1 (50,0)
Папы	16 (36,4)	10 (34,5)	6 (42,9)	1 (14,3)	0 (0,0)	1 (50,0)
БАК у родителей						
Мамы	2	0	2	0	0	0
Папы	2	2	0	1	1	0
Другие ВПС у родителей	9	6	3	1	1	0

**Примечание:** Достоверность различий: \*\*-  $p < 0,05$

Среди интронных вариантов три значительно чаще выявлялись в группе пациентов с КоА по сравнению с контрольной группой: генетический вариант в интроне 12 (g.30667C/T) встречался у больных с КоА с частотой 10/51 по сравнению с частотой 2/200 в контрольной группе соответственно ( $p < 0,005$ ). Другие два варианта в интронах 22 (g.38735C/T) и 24 (g.39335G/A) ранее не были описаны у пациентов с аномалиями ВОЛЖ и наблюдались также значительно чаще в исследуемой группе (13/51 против 8/200,  $p < 0,05$  и 10/51 по сравнению с 5/200,  $p < 0,05$ ).

При помощи комбинаторного анализа всевозможных сочетаний были выявлены наиболее значимые неблагоприятные варианты экзонов: 23 (g.39006G/A), 12 (g.30469 C/T, g.30445 C/T), 34 (g.48696G/A, g.48901G/A, g.48930G/A) и

интронов: 12 (g.30667C/T), 11 (g.30311G/A), 22 (g.38735 C/T, g. 38712G/C), 24 (g.39335 G/A) и, так называемый, благоприятный интронный ряд: интроны 13 (g.31367A/T), 12 (g.30591C/T), 29 (g.43831T/C) исследуемого гена. Все экзонные замены, вошедшие в неблагоприятное сочетание, расположены в кодирующих областях гена *NOTCH1*.

В результате расчета априорных вероятностей и коэффициентов дискриминантной функции контрольной и референтной групп на основании полученных замен экзонной и двух интронных комбинаций было показано, что из 200 человек без ВПС, 35 имели генетический набор, характерный для исследуемого заболевания. Тогда как из 51 пациента с КоА, 49 классифицируются как лица, склонные к развитию порока. Таким образом, при отсутствии КоА, взвешенная комбинация замен гена *NOTCH1* отнесёт такое наблюдение как благополучное в 82,5% случаев, а при наличии порока, у 96% пациентов будет указывать на наличие риска развития данного заболевания.

При статистической обработке данных, полученных в результате генетического исследования пациентов с КоА, сочетающихся с БАК, удалось обнаружить разные варианты замен гена *NOTCH1* у пациентов с аортальной недостаточностью и с нормальной функцией двустворчатого клапана. При помощи комбинаторного анализа всевозможных комбинаций были выявлены наиболее значимые сочетания вариантов в экзонах и интронах исследуемого гена.

При статистическом сравнении больных с изолированной КоА, пациентов с сочетанием КоА и БАК, имеющих или аортальную недостаточность или нормальную функцию клапана, а также индивидуумов контрольной группы оказалось, что интронные замены были более характерны для здоровых лиц без ВПС (88,5%). Пациенты с изолированной КоА и КоА с нормальной функцией БАК также имели высокий процент среди интронных вариантов (35,5% и 59,0%, соответственно). Однако подобные замены редко встречались в группе у пациентов с БАК и аортальной недостаточностью (8,3%), тогда как экзонные варианты, напротив, для них были более характерны (33,3%). В контрольной группе подобная экзонная комбинация практически не встречалась (1%), а в группах пациентов с изолированной КоА и нормальной функцией БАК наблюдалась в крайне низком

проценте случаев (5,9% и 4,5%, соответственно). Характеристика замен гена *NOTCH1* в вышеописанных группах представлена в таблице 4.

Таблица 4 - Сравнительная характеристика замен гена *NOTCH1* в контрольной группе, а также в группах пациентов с изолированной коарктацией аорты и ее сочетанием с двустворчатым клапаном в зависимости от нарушения функции аортального клапана

	Вариант интронов 13 (g.31347 G/A) или 22 (g.38800 A/G) или 29 (g.43831 T/C)			Вариант экзонов 34 (g.48930 G/A) или сочетания 23(g.39006G/A) и 34 (g.48602A/G)		
	нет	есть	%*	нет	есть	%*
Контрольная группа	23	177	88,5%	198	2	1%
Изолированная КоА	11	6	35,3%	16	1	5,9%
КоА и БАК без нарушения функции клапана	9	13	59,0%	21	1	4,5%
КоА и БАК с аортальной недостаточностью	11	1	8,3%	8	4	33,3%

**Примечание:** \* - процент указан от наличия интронных и экзонных замен, соответственно.

### Выводы

1. Сочетание коарктации с двустворчатым клапаном аорты наиболее часто наблюдается у лиц мужского пола по сравнению с изолированной коарктацией аорты. У пациентов с коарктацией и двустворчатым клапаном аорты чаще встречается аномалия митрального клапана. Достоверных различий в локализации, степени сужения, наличия рекоарктации аорты, сочетания с гипоплазией аорты и другими врожденными пороками сердца (субаортальный стеноз, ДМПП, ДМЖП, ОАП) у пациентов с коарктацией аорты в изолированном ее варианте и в сочетании с двустворчатым клапаном аорты не получено.
2. Воздействия на родителей вредных факторов производственной среды и отягощенная наследственность по врожденным порокам сердца повышают риск развития коарктации аорты у ребенка. Отягощенный акушерский анамнез не влияет на возникновение данного заболевания.
3. Вариант R1279H в гене *NOTCH1* ассоциирован с развитием коарктации аорты.
4. Паттерн полиморфных вариантов/замен в гене *NOTCH1* ассоциирован с развитием недостаточности двустворчатого клапана аорты.



5. Исследование полиморфных вариантов/замен гена *NOTCH1* может быть использовано для оценки рисков развития коарктации аорты.

### **Практические рекомендации**

При планировании беременности для выявления вероятности развития коарктации аорты у ребенка, показано уточнение наличия патологии аортального клапана у родителей, включая будущего отца ребенка.

Детям, которые имеютотягощенную наследственность по аномалиям выходного отдела левого желудочка, и в частности двустворчатый клапан аорты, а также наличие профессиональных вредностей у родителей по данным анамнеза, рекомендовано выполнять эхокардиографическое исследование в ранние сроки после рождения, вне зависимости от отсутствия у них патологии по данным внутриутробной диагностики сердца плода.

При проведении медико-генетического консультирования пациентов с двустворчатым клапаном аорты в настоящее время не достаточно знать только о факте наличия аномалии аортального клапана, необходимо детальное эхокардиографическое обследование с указанием подробной анатомии клапана, а также наличия и степени нарушения его функции.

### **Список работ, опубликованных по теме диссертации**

1. **Татарина Т.Н.** Роль наследственной предрасположенности в формировании коарктации аорты / **Татарина Т.Н.**, Костарева А.А., Грехов Е.В., О.М. Моисеева // Вопросы современной педиатрии. - 2012. – Т. 11. № 6. - С. 42-48.
2. **Татарина Т.Н.** Современные представления и роль мутаций гена *NOTCH1* в развитии коарктации аорты / **Татарина Т.Н.**, Фрейлихман О.А., Костарева А.А., Грехов Е.В., Моисеева О.М. // Российский кардиологический журнал. – 2014. - №10 (114). – С. 58–63.
3. **Татарина Т. Н.** Факторы риска развития коарктации аорты / **Татарина Т. Н.**, Фрейлихман О.А., Костарева А.А., Грехов Е.В., Моисеева О.М. // Сборник материалов XVIII Конгресса педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии». – 2015. – Т. 1. - С. 238
4. **O. Freylikhman.** Variants in the *NOTCH1* Gene in Patients with Aortic Coarctation / **O. Freylikhman, T. Tatarinova, N. Smolina, S. Zhuk, A. Klyushina, A. Kiselev, O. Moiseeva, G. Sjoberg, A. Malashicheva, A. Kostareva** // *Congenit Heart Dis.* – 2014. - Jan 12. doi: 10.1111/chd.12157.

5. O. Freylikhman. Notch 1 mutations in patients with aortic aneurysm and bicuspidal valve / O. Freylikhman, A. Malashicheva, T. Tatarinova, N. Tsoy, O. Irtuga, O. Moiseeva, A. Kostareva, E. Shlyakhto // European Heart Journal. – 2011. - 32 ( Abstract Supplement ), 812
6. T. Tatarinova. *NOTCH1* polymorphisms as a predictor of aortic regurgitation in patients with bicuspid aortic valve / T. Tatarinova, N. Alexeyeva, E. Grekhov, O. Freylikhman, A. Kostareva, O. Moiseeva // European Heart Journal. – 2015 ( Abstract Supplement ), 521