

ИЗУЧЕНИЕ ЭТИОПАТОГЕНЕЗА ВРОЖДЕННЫХ ПОРОКОВ СЕРДЦА У ДЕТЕЙ И РАЗРАБОТКА НОВЫХ ПОДХОДОВ ПРОФИЛАКТИКИ, ЛЕЧЕНИЯ И РЕАБИЛИТАЦИИ

Руководители темы:

Директор института молекулярной биологии и генетики, к. м. н. А. А. Костарева

Ответственный исполнитель темы:

Зав. НИЛ Молекулярной кардиологии А. Б. Малашичева

Целью выполняемого проекта является исследование роли сократительных белков, транскрипционных факторов, а также хромосомных перестроек, в частности, микроделеций, дупликаций, анеуплоидий и мозаичных хромосомных aberrаций, в возникновении врождённых пороков сердца и множественных пороков.

На первом этапе проекта был проведён анализ проблемы по литературным источникам, выбор основных направлений исследования.

Подготовлена документация, содержащая базу данных по пациентам; созданы коллекции проб ДНК от групп пациентов с различными врождёнными пороками сердца (в том числе семейного характера), желудочно-кишечного тракта, мочеполовой системы, а также с умственной отсталостью. Создан список и коллекция праймеров, подходящих для проведения полимеразной цепной реакции и получения адекватного продукта; Разработан протокол флуоресцентной гибридизации *in situ* на мазках крови для определения тканевого мозаичизма, отработан протокол сравнительной геномной гибридизации на ДНК-микрочипах для проведения полногеномного высокоразрешающего молекулярно-цитогенетического анализа отобранных пациентов с врожденными пороками развития.

В результате секвенирования ПЦР-продуктов экзонов гена АСТА2 получена база данных нуклеотидных последовательностей от 90 пациентов. При анализе этих последовательностей ни мутаций, ни полиморфизмов выявлено не было. Полученные результаты свидетельствуют о невысокой частоте встречаемости мутаций в экзонах исследуемого гена у пациентов с ОАП и пороками аорты. При анализе нуклеотидных последовательностей экзонов гена АСТС1 у одного пациента в 5-м экзоне была обнаружена однонуклеотидная замена (T/C) в одной из аллелей. Данная нуклеотидная замена ведет к изменению триплета CCT на CCC в матричной РНК (положение 993), но является синонимичной, то есть, не приводит к замене аминокислоты в белке. В результате постановки реакции флуоресцентной гибридизации *in situ* неоднократно были выявлены факты тканевого хромосомного мозаичизма у больных с врожденными

пороками сердца, диафрагмальной грыжей, пороками мочеполовой системы и дефектами развития нервной трубки. Данные хромосомные аберрации обнаруживались исключительно путем исследования клеток крови миеломоноцитарного ростка, но не путем стандартного кариотипирования ФГА-стимулированных лимфоцитов крови. Таким образом, впервые был продемонстрирован факт тканевого мозаичизма как основы возникновения врожденных аномалий сердца и других органов и показан спектр хромосомных аберраций, приводящий к их возникновению.

В результате постановки сравнительной геномной гибридизации на микрочипах с ДНК от 25 пациентов со сложными врожденными пороками развития желудочно-кишечного тракта, сердца и почек, а также недифференцируемой умственной отсталостью были обнаружены микроделеции и микродупликации хромосомных районов, которые содержат функционально-значимые гены, и, таким образом, лежат в основе наблюдавшихся патологий.

В соответствии с планом за период 2012 – 2014 гг. по теме исследования были опубликованы следующие статьи:

- 1) Малашевича А.Б., Худяков А.В., Костарева А.А. Значение генетических аномалий в возникновении врожденных пороков сердца. // Бюллетень ФЦСКЭ им. В.А.Алмазова. – 2012. - №1. – С. 38-49.
- 2) Никитина И.Л., Никулина Т.С., Лискина А.С., Костарева А.А. Первичная аменорея: один синдром, разные болезни. // Лечение и профилактика. – 2013.- N1.- 117-123.
- 3) Никулина Т. С., Злотина А. М., Яни Н. А., Сцхоцкая А. А., Щеголова Н. А., Кувшинова Л А., Костарева А. А., Баиров В. Г. Врожденная диафрагмальная грыжа – частный случай синдрома Паллиастера – Киллиани. // Лечение и профилактика.- 2013, N3.- 124-128.
- 4) Congenital heart defects are rarely caused by mutations in cardiac and smooth muscle actin genes. Tatiana Khodyuchenko, Anna Zlotina, AA Kostareva, Anna Malashicheva, and Anna Kostareva. BioMed Research international. Accepted.
- 5) Никулина Т. С., Злотина А. М., Яни Н. А., Моисеева О. М., Грехов Е. В., Никитина И. Л., Костарева А. А. Случай тканевого мозаичизма по кольцевой/трисомной форме хромосомы 18 у пациента с множественными врожденными пороками развития. // Трансляционная медицина, 2014.- 4.
- 6) Freylikhman O¹, Tatarinova T, Smolina N, Zhuk S, Klyushina A, Kiselev A, Moiseeva O, Sjoberg G, Malashicheva A, Kostareva A. Variants in the NOTCH1 gene in patients with aortic coarctation. Congenit Heart Dis. 2014 Sep-Oct;9(5):391-6.