

# 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, микроделений, 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 мозаицизма, 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 (Т/С) в одной из аллелей. Данная нуклеотидная замена ведет к изменению триплета ССТ на ССС 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 мозаицизма у больных с врожденными

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

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

- 1) Малашичева 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 мозаицизма по кольцевой/трисомной форме хромосомы 18 у пациента с множественными врожденными пороками развития. //- Трансляционная медицина, 2014.- 4.
- 6) Freylikhman O<sup>1</sup>, 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.