

РОЛЬ МУТАЦИЙ ГЕНА *NOTCH1* В РАЗВИТИИ ПОРОКОВ СЕРДЦА И СОСУДОВ

Т. Н. Татаринова¹, О. А. Фрейлихман¹, А. А. Костарева¹,
О. Б. Иртюга¹, А. Б. Малашичева^{1,2}, О. М. Моисеева¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Северо-Западный федеральный медицинский
исследовательский центр», Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Татаринова Татьяна Николаевна,
Федеральное государственное бюджетное учреждение «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр» (ФГБУ СЗФМИЦ),
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург, Россия, 197341.

Тел. +7(812)702-68-224;

факс: +7(812)7026-82-24.

E-mail: tatarinova_tn@almazovcentre.ru

Статья поступила в редакцию
21.11.2014 и принята к печати
02.12.2014.

Резюме

Высокая частота встречаемости врожденных пороков сердца среди членов одной семьи свидетельствует о существенном вкладе генетического компонента в развитие данной группы заболеваний. В настоящее время доказана роль сигнального пути Notch в кардио- и васкулогенезе, а также выявлена связь мутаций в гене *NOTCH1* с формированием врожденных пороков сердца и сосудов. Совершенствование методов пренатальной диагностики, в том числе и путем выявления миссенс-мутаций и редких полиморфных вариантов гена *NOTCH1*, позволит увеличить вероятность диагностики врожденных пороков сердца у плода, тем самым способствуя своевременному оказанию квалифицированной медицинской помощи и увеличению выживаемости таких пациентов.

Ключевые слова: *NOTCH1*, эмбриогенез, врожденные пороки сердца

Для цитирования: Т. Н. Татаринова, О. А. Фрейлихман, А. А. Костарева, О. Б. Иртюга, А. Б. Малашичева, О. М. Моисеева. Роль мутаций гена *notch* в развитии пороков сердца и сосудов. Трансляционная медицина 2015;2-3(31-32):84-89.

THE ROLE MUTATIONS OF *NOTCH1* IN CARDIAC DEVELOPMENT AND CONGENITAL HEART DISEASE

T. N. Tatarinova¹, O. A. Freylikhman¹, A. A. Kostareva¹,
O. B. Irtyuga¹, A. B. Malashicheva^{1,2}, O. M. Moiseeva¹

¹North-Western Federal Medical Research Center,
St. Petersburg, Russia

²Saint-Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

Corresponding author:

Tatiana N. Tatarinova,
Federal North-West Medical Research
Centre, 2 Akkuratova str., Saint-Petersburg,
Russia, 197341.
Тел. +7(812)702-68-224;
факс: +7(812)7026-82-24.
E-mail: tatarinova_tn@almazovcentre.ru

Received 21 November 2014;
accepted 02 December 2014.

Abstract

The high incidence of congenital heart disease among family members indicates a significant contribution of the genetic component in the development of this group of diseases. An important role of *NOTCH1* in cardio- and vasculogenesis as well as a link between mutations in *NOTCH1* and congenital heart disease and blood vessels has been suggested recently. It has been proved that Notch signaling plays an important role in the regulation of endothelial-to-mesenchymal transition, which is a critical event in the initial steps forming left ventricle and heart valves. Development of prenatal diagnosis by detecting defects in *NOTCH1* gene will increase the probability of fetal congenital heart defects recognition, thereby contributing to the timely provision of skilled care and increasing survival of these patients

Key words: *NOTCH1*, embryogenesis, congenital heart disease.

For citation: T. N. Tatarinova, O. A. Freylikhman, A. A. Kostareva, O. B. Irtyuga, A. B. Malashicheva, O. M. Moiseeva. The role mutations of notch in cardiac development and congenital heart disease. *Translacionnaja medicina = Translational Medicine*. 2015;2-3 (31-32):84-89.

Высокая частота встречаемости врожденных пороков сердца (ВПС), в том числе аномалий выходного отдела левого желудочка (ВОЛЖ), среди родственников может расцениваться как аутосомно-доминантный тип наследования данных патологий и указывать на значение в их формировании генетических факторов [1–4]. В частности, для семей, где дети имеют аномалию ВОЛЖ, описано повышение риска рождения ребенка с данной патологией, что свидетельствует о существенном вкладе генетического компонента в развитие ВПС [5, 6]. Однако низкая пенетрантность и фенотипическая вариабельность значительно затрудняют изучение данной группы заболеваний с помощью методов классической генетики. Анализ генетических вариантов гена *NOTCH1*, проведенный рядом

авторов в последнее десятилетие, позволил определить роль данного гена в возникновении семейных и спорадических случаев развития двустворчатого клапана аорты [7, 8]. Также были описаны мутации гена *NOTCH1* у пациентов, имеющих аневризму аорты в сочетании с такими аномалиями ВОЛЖ, как гипоплазия левых отделов сердца и коарктация аорты [9, 10].

Notch был впервые описан в лаборатории Томаса Ханта Моргана в 1913 году. Мутация в генетическом локусе, получившем такое название, приводила к возникновению выемки на крыле *Drosophila* (notch — «выемка» в переводе с английского языка). Связь Notch и эмбриогенеза была описана в 30-е годы 20-го века. Благодаря секвенированию самого гена *NOTCH1* и его партнеров в 80-е годы

с дальнейшей расшифровкой механизма действия соответствующих белков стало понятно, что ген *NOTCH1* является одним из компонентов большого семейства генов и одним из участников ключевого, для развития и функционирования организма, сигнального каскада, который в настоящее время носит названия сигнального пути Notch [11].

Было показано, что мутации в генах-компонентах этого сигнального пути способны вызывать заболевания печени, почек, глаз, скелетной мускулатуры, сердечно-сосудистой системы и некоторых других органов. В настоящее время не только доказана важная роль *NOTCH1* в развитии сердца и сосудов, но и выявлена связь мутаций в этом гене с формированием ВПС [10, 12]. Кроме того, сигнальный путь Notch играет роль в процессах регенерации миокарда, ангиогенеза, защите кардиомиоцитов от ишемии и трансформации фибробластов в миофибробласты [13]. В настоящее время появились также доказательства того, что дефекты гена *NOTCH1* играют роль в развитии аритмий сердца, в том числе синдрома преждевременного возбуждения желудочков [14].

Семейство *Notch* представляет собой группу эволюционно консервативных белков-рецепторов и лигандов, имеющих схожее строение: они состоят из внеклеточного, трансмембранного и внутриклеточного доменов. У млекопитающих имеется 4 рецептора Notch [15]. С мутациями кодирующих их генов ассоциирован ряд патологий. С мутациями гена *NOTCH2* связывают развитие синдрома Алажиля и спондилококостального дизостоза аутосомно-рецессивного типа. В рамках недавно проведенных исследований было также показано, что мутации

гена *NOTCH2* могут приводить также к формированию синдрома Хайду-Чейни — аутосомно-доминантного заболевания, вызывающего фокусное разрушение костной ткани, остеопороз, челюстно-лицевую мальформацию и почечные кисты. Мутации гена *NOTCH3* приводят к развитию синдрома: аутосомно-доминантной церебральной артериопатии с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией (CADASIL — *cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy*). Мутации гена *NOTCH4* связывают с возникновением псевдобульбарного паралича и шизофрении [16].

Для развития ряда заболеваний сердца и сосудов наибольшее значение имеют изменения функции рецептора Notch1. Внеклеточный домен содержит 29–36 повторов, подобных эпидермальному фактору роста и 3 *NOTCH/lin* повтора. Внутриклеточный домен содержит 7 анкириновых последовательностей (ANK), домен RBP-Jк-ассоциированной молекулы (RAM), домен трансактивации (TAD) и Pest domain (Рис. 1) [12].

Рецептор NOTCH1 активируется взаимодействием внеклеточного домена, расположенного на поверхности клетки, с лигандами, находящимися на соседних клетках. Описано 5 типов лигандов: Jagged (*JAG1* и *JAG2*) и Delta-like (*DLL1*, *DLL2* и *DLL4*). При взаимодействии внеклеточного домена с лигандами происходит три расщепления белка Notch1, в результате которых, в частности, освобождается внутриклеточный домен, который транслоцируется к ядру, где через каскад реакций и белковых взаимодействий активирует транскрипцию (Рис. 2) [12, 17].

Рисунок 1. Строение белка Notch1. (Niessen K., Karsan A. Notch signaling in the developing cardiovascular system. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2007, 293: C1-C11)

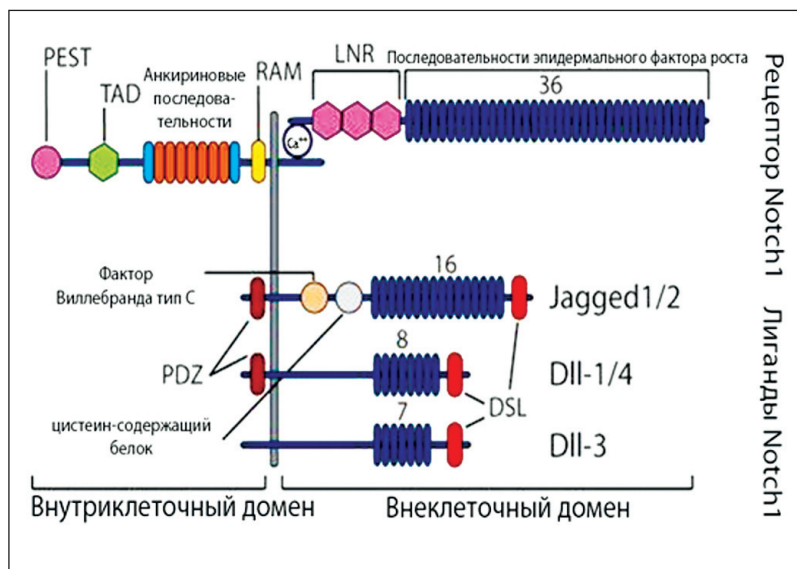
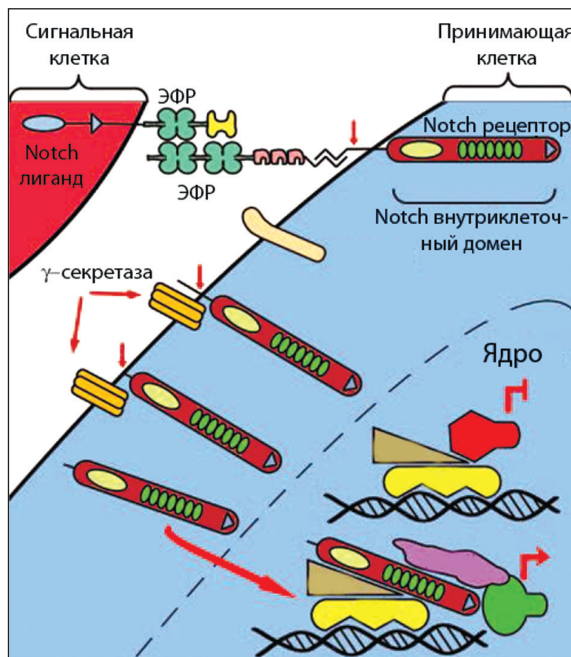


Рисунок 2. Notch1 сигнальный путь.
(Niessen K., Karsan A. Notch signaling in cardiac development. *Circ Res.* 2008; 102:1169–1181)



Рецепторы NOTCH указанных типов в совокупности с лигандами являются одними из ключевых компонентов сигнального пути Notch. Этот сигнальный путь играет одну из ведущих ролей в регуляции пролиферации и апоптоза клеток, формировании границ тканей, а применительно к эмбриональному развитию сердца и сосудов — играет ключевую роль в протекании ряда процессов кардио- и васкулогенеза. Несмотря на многочисленные исследования последних лет, роль Notch-сигналинга в развитии сердца до конца неясна [12, 17].

В норме развитие сердца в эмбриональном периоде складывается из следующих стадий. Закладка сердца происходит на ранних этапах эмбриогенеза из двух билатеральных листков мезодермы, вскоре после гаструляции [17]. Далее эти два поля первичных сердечных клеток сходятся по средней линии, образуя полумесяц (сердечный гребень), а затем вытягиваются в сердечную трубку, состоящую из эндотелия, окруженного одним слоем клеток миокарда. На двадцатый день развития эмбриона впервые бьется сердце. Постепенно трубка удлиняется, образуя правостороннюю петлю, получая дополнительную порцию клеток-предшественников, имеющих глоточное происхождение, так называемых клеток вторичного сердечного поля (second heart field, SHF). Далее следует серия сложных этапов, посредством которых происходит реконструкция сердца из сердечной трубки в четырехкамерную структуру [18] (Рис. 3, А). Формируется атриовентрикулярный канал, который разделяет сердечную трубку на предполагаемые предсердия и желудочки

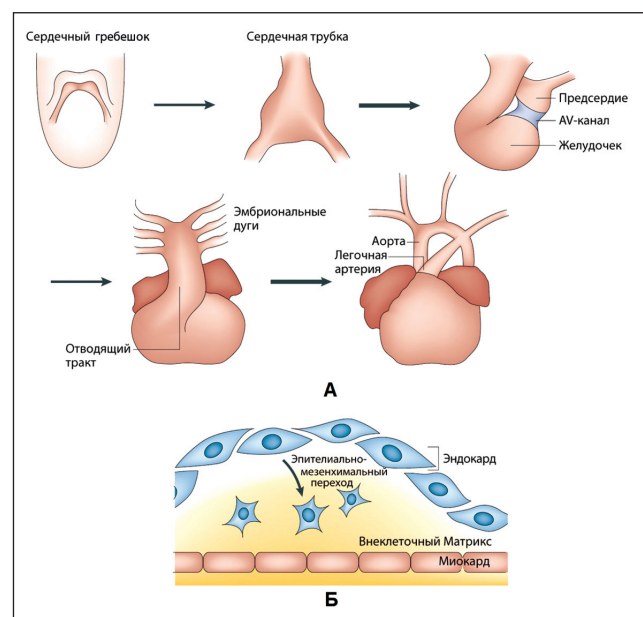
ки сердца. Затем в области выносящего тракта и атриовентрикулярного соединения образуются эндокардиальные подушки. До начала формирования подушек, клетки эндокарда и миокарда лежат рядом друг с другом, разделенные толстым слоем внеклеточного матрикса, известным под названием «сердечный гель» [18] (Рис. 3, Б).

Под воздействием различных сигналов смежного миокарда, эндокард подвергается эндотелиально-мезенхимальному переходу (ЭМП). Впоследствии эндокардиальные клетки способны отделиться от их эпителиального слоя и внедриться в сердечный гель, приобретая мезенхимный фенотип и теряя эндотелиальный. Эти события являются решающими в формировании предшественников четырех основных клапанов сердца (аортального, пульмонального, митрального и трикуспидального) [19]. Далее следует стадия образования трабекул внутри стенок правого и левого желудочков сердца, формируются межпредсердная и межжелудочковая перегородки, происходит реконструкция отводящего тракта с образованием аорты и легочной артерии.

Клетки первичного сердечного поля участвуют в формировании левого желудочка, тогда как клетки вторичного сердечного поля дают начало правому желудочку, отводящему тракту, венозному синусу и предсердиям [18, 20].

Открытие клеток вторичного сердечного поля (second heart field, SHF) существенным образом изменило представление об эмбриогенезе серд-

Рисунок 3. Эмбриология сердца и сосудов:
А — этапы развития сердца;
Б — эндотелиально-мезенхимальный переход.
(High FA, Epstein JA. The multifaceted role of Notch in cardiac development and disease. *Nat Rev Genet.* 2008; 9:49–61)



ца позвоночных. Дело в том, что SHF содержит мультипотентные прогениторные клетки, которые обладают высоким пролиферативным потенциалом и способны отсроченно, в отличие от клеток первичного сердечного поля, дифференцироваться в кардиомиоциты, эндотелиальные и гладкомышечные клетки [21]. Благодаря этому феномену клетки SHF дают начало выходному отделу левого и правого желудочков, а также большей части предсердий, тогда как клетки первичного сердечного поля принимают участие в формировании приносящего тракта левого и правого желудочков. Удлинение сердечной трубки регулируется с помощью сигнальных путей FGF (фактора роста фибробластов), BMP2 (костного морфогенного белка), канонического и неканонического Wnt- и Notch- сигнального пути, которые обеспечивают высокий пролиферативный потенциал клеток SHF и длительное поддержание их в недифференцированном состоянии [22]. Снижение миграционной способности или ранняя дифференцировка клеток SHF может приводить к возникновению дефектов выходного отдела желудочков [23].

Другими причинами нарушения морфогенеза отводящего тракта или процесса межжелудочковой/межпредсердной септации могут быть мутации генов, кодирующих транскрипционные факторы, участвующие в формировании сердца в эмбриогенезе [20]. В частности, мутации в генах *NKX2-5*, *THRAP2* приводят к развитию транспозиции магистральных сосудов или двойному отхождению магистральных сосудов от правого желудочка. Мутации генов *NKX2-5*, *NOTCH1*, *TBX1*, *JAG1* ассоциированы с развитием тетрады Фалло. Некоторые типы ВПС включают в себя клапанные аномалии, развитие которых связано с нарушением ЭМП, вследствие которого из клеток первичного эндокарда формируются гладкомышечные клетки и фибробласты под влиянием различных транскрипционных факторов. Таким образом, регуляция ЭМП является одним из первых критических событий в формировании ВОЛЖ и сосудов [24–26], и в регуляции этого процесса участвует, в частности, ген *NOTCH1*, экспрессирующийся в эндокарде магистральных артерий сердца [18, 24]. Данная регуляция осуществляется в соответствии со следующей схемой: Notch1-рецепторы и некоторые Notch-лиганды экспрессируются в эндокарде в момент формирования эндокардиальных подушек. В исследованиях на мышах было показано, что мутантные по генам *NOTCH1* и *RBPJ* (фактор транскрипции гена Notch1) эмбрионы погибали, имея признаки гипоплазии эндокардиальных подушек с отсутствием в данных клетках ультраструктурных признаков ЭМП [25].

Мутации гена *NOTCH1* — одна из причин формирования двустворчатого клапана аорты. Кроме того, для пациентов с мутациями в этом гене описан широкий спектр других врожденных аномалий, таких как аортальный стеноз, дефект межжелудочковой перегородки, тетрада Фалло, атрезия митрального клапана, двойное отхождение магистральных сосудов от правого желудочка и гипоплазия левых отделов сердца.

ВПС являются самыми распространенными из врожденных дефектов человека и нарушения регуляции механизмов Notch сигнального пути — одна из основных причин развития данной группы заболеваний [28, 29]. При этом, даже минорные изменения структуры гена и белка *NOTCH1* могут лежать в основе формирования аномалий ВОЛЖ на ранних этапах эмбриогенеза сердца и сосудов и, на более ранних сроках, приводить к морфофункциональным изменениям аорты и аортального клапана у взрослого человека. Однако до сих пор отсутствуют нормативные критерии оценки значимости вариантов гена *NOTCH1* на основе анализа нуклеотидной последовательности ДНК, и необходима дальнейшая работа, чтобы раскрыть функциональные последствия таких изменений.

По результатам клинико-генетических исследований, проведенных в нашем Центре, паттерн однонуклеотидных замен в гене *NOTCH1* может определять формирование коарктации аорты [30] и характер нарушений функции двустворчатого клапана аорты.

Развитие пренатальной диагностики путем обнаружения дефектов гена *NOTCH1* позволит увеличить вероятность выявления ВПС у плода, тем самым способствуя своевременному оказанию квалифицированной медицинской помощи и увеличению выживаемости таких пациентов [28].

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Список литературы / References

1. Clementi M, Notari L, Borghi A, et al. Familial congenital bicuspid aortic valve: a disorder of uncertain inheritance. *Am J Med Genet.* 1996; 62:336–338.
2. Huntington KA, Hunter G, Chan KL. A prospective study to assess the frequency of familial clustering of congenital bicuspid aortic valve. *J Am Coll Cardiol.* 1997;30:1809–1812.
3. Pradat P, Francannet C, Harris J, et al. The epidemiology of cardiovascular defects, part I: a study based on data from three large registries of congenital malformations. *Pediatr Cardiol.* 2003;24:195–221.
4. Roberts WC. The congenitally bicuspid aortic valve: a study of 85 autopsy cases. *Am J Cardiol.* 1970;26:72–83.

5. Lewin MB, McBride KL, Pignatelli R, et al. Echocardiographic evaluation of asymptomatic parental and sibling cardiovascular anomalies associated with congenital left ventricular outflow tract lesions. *Pediatrics*. 2004;114: 691–696.
6. McBride KL, Pignatelli R, Lewin M, et al. Inheritance analysis of congenital left ventricular outflow tract obstruction malformations: segregation, multiplex relative risk, and heritability. *Am J Med Genet*. 2005; 134A:180–186.
7. Garg V, Muth AN, Ransom JF, et al. Mutations in NOTCH1 cause aortic valve disease. *Nature*. 2005;437:270–274.
8. Mohamed SA, Aherrahrou Z, Liptau H, et al. Novel missense mutations (p.T596M and p.P1797H) in NOTCH1 in patients with bicuspid aortic valve. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;345:1460–1465.
9. McKellar SH, Tester DJ, Yagubyan M, et al. Novel NOTCH1 mutations in patients with bicuspid aortic valve disease and thoracic aortic aneurysms. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2007; 134:290–296.
10. McBride K. L., Riley M. F., Zender G. A., et al. NOTCH1 mutations in individuals with left ventricular outflow tract malformations reduce ligand-induced signaling. *Human Molecular Genetics*. 2008;17:(18).
11. Yamamoto S, Schulze KL, Bellen HJ. Introduction to Notch signaling. *Methods Mol Biol*. 2014;1187:1–14.
12. Niessen K., Karsan A. Notch signaling in the developing cardiovascular system. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2007;293: C1–C11.
13. Boni A, Urbanek K, Nascimbene A, et al. Notch1 regulates the fate of cardiac progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:15529–15534.
14. Aanhaanen WT, Moorman AF, Christoffels VM. Origin and development of the atrioventricular myocardial lineage: insight into the development of accessory pathways. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2011;91:565–577.
15. Kopan R, Ilgan MX. The canonical Notch signaling pathway: unfolding the activation mechanism. *Cell*. 2009;137:216–233.
16. Penton AL, Leonard LD, Spinner NB. Notch signaling in human development and disease. *Semin Cell Dev Biol* 2012;23:450–457. doi: 10.1016/j.semcdb. 2012.01.010.
17. Niessen K., Karsan A. Notch signaling in cardiac development. *Circ Res*. 2008;102:1169–1181.
18. High FA, Epstein JA. The multifaceted role of Notch in cardiac development and disease. *Nat Rev Genet*. 2008;9:49–61.
19. Hinton RB, Yutzey KE. Heart valve structure and function in development and disease. *Annu Rev Physiol*. 2011;73:29–46.
20. Benoit G. Bruneau. The developmental genetics of congenital heart disease. *Nature* 2008;451(7181):943–948.
21. Samanek M., Voriskova M. Infants with critical heart disease in a territory with centralized care. *Int. J. Cardiol*. 1986;11:63–74.
22. Kelly RG. The second heart field. *Curr Top Dev Biol*. 2012;100:33–65.
23. Neeb Z, Lajiness JD, Bolanis E, Conway SJ. Cardiac outflow tract anomalies. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol*. 2013 Jul;2 (4):499–530.
24. Schwanbeck R, Martini S, Bernoth K, Just U. The Notch signaling pathway: Molecular basis of cell context dependency. *Eur J Cell Biol* 2011;90:572–581. doi: 10.1016/j.ejcb.2010.10.004.
25. Timmerman LA, Grego-Bessa J, Raya A, et al. Notch promotes epithelial–mesenchymal transition during cardiac development and oncogenic transformation. *Genes Dev*. 2004;18:99–115.
26. Nosedá M, McLean G, Niessen K, et al. Notch activation results in phenotypic and functional changes consistent with endothelial-to-mesenchymal transformation. *Circ Res*. 2004;94:910–917.
27. Riley MF, McBride KL, Cole S. NOTCH1 missense alleles associated with left ventricular outflow tract defects exhibit impaired receptor processing and defective EMT. *Biochim Biophys Acta*. 2011;1812:121–129.
28. Zhou XL and Liu JC. Role of Notch signaling in the mammalian heart. *Braz J Med Biol Res* 2014; 47(1):1–10.
29. Epstein JA, de la Pompa JL. Coordinating tissue interactions: Notch signaling in cardiac development and disease. *Dev Cell*. 2012;22(2):244–254.
30. Freylikhman O, Tatarinova T, Smolina N et al. Variants in the NOTCH1 Gene in Patients with Aortic Coarctation. *Congenit Heart Dis*. 2014 Jan 12. doi: 10.1111/chd.12157.

Информация об авторах:

Татарина Татьяна Николаевна — старший научный сотрудник НИЛ кардиомиопатий ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр» (ФГБУ СЗФМИЦ);

Фрейлихман Ольга Александровна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник НИЛ молекулярной кардиологии ФГБУ СЗФМИЦ;

Костарева Анна Александровна — кандидат медицинских наук, директор Института молекулярной биологии и генетики ФГБУ СЗФМИЦ;

Иртыга Ольга Борисовна — кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник НИЛ кардиомиопатий ФГБУ СЗФМИЦ;

Малашичева Анна Борисовна — кандидат биологических наук, заведующая НИЛ молекулярной кардиологии ФГБУ СЗФМИЦ, доцент кафедры эмбриологии биологического факультета Санкт-Петербургского государственного университета;

Моисеева Ольга Михайловна — доктор медицинских наук, профессор, заведующая НИЛ кардиомиопатий ФГБУ СЗФМИЦ.

Author information:

Tatiana N. Tatarinova, Senior Researcher at the Research Laboratory of Cardiomyopathies, North-Western Federal Medical Research Center;

Freilichman Olga — PhD, senior scientific researcher of the laboratory of molecular cardiology of North-Western Federal Medical Research Center;

Kostareva Anna Aleksandrovna — candidate of medical Sciences, Director of the Institute of molecular biology and genetics of North-Western Federal Medical Research Center;

Irtuga Olga Borisovna — candidate of medical Sciences, leading researcher of the research laboratory of cardiomyopathies North-Western Federal Medical Research Center;

Malashicheva Anna Borisovna — candidate of biological Sciences, head of the laboratory of molecular cardiology of North-Western Federal Medical Research Center, associate Professor of the Department of embryology biological faculty Saint-Petersburg state University;

Moiseeva Olga Mikhailovna — doctor of medical Sciences, Professor, head of Research Laboratory of Cardiomyopathies of North-Western Federal Medical Research Center.