

CNVs в нозологической структуре врожденных пороков сердца

Слепухина А.А.¹, Скрябин Н.А.², Кашеварова А.А.², Лифшиц Г.И.¹, Лебедев И.Н.²

¹ — Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск Россия; e-mail: a.slepukhina@medgenetics.ru

² — Научно исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, Томск, Россия

Вариации числа копий ДНК (CNVs) являются одной из генетических причин врожденных пороков сердца (ВПС). Существующие представления о CNVs в этиологии ВПС не могут полностью объяснить формирование того или иного порока сердца, поэтому актуально более глубокое изучение этого явления. Полученные знания будут направлены на разработку новых подходов для улучшения диагностики геномного дисбаланса у пациентов с ВПС. **Цель.** Изучить представленность патогенетически значимых CNVs в нозологической структуре ВПС и обнаружить связь между патогенетически значимыми CNVs и аномальным строением сердца. **Материалы и методы.** 31 ребенок с ВПС, сочетающимся с экстракардиальной патологией был включен в исследование. Образцы ДНК были проанализированы с использованием ДНК-микрочипов высокой плотности SurePrint G3 Human Genome CGH+SNP Microarray Kit, 8x60K (Agilent Technologies, США). Для описания нозологической структуры использовали МКБ-11. **Результаты.** У 32% (10/31) пациентов с ВПС и экстракардиальной патологией были выявлены патогенетически значимые CNVs. CNVs были представлены в следующих категориях ВПС: аномалии желудочков и их перегородки; аномалии межпредсердной перегородки; аномалии вентрикуло-артериального клапана или смежных областей; аномалии вен средостения. 8 из 10 пациентов с патогенными и потенциально патогенными CNVs имели септальные дефекты или конотрункальные пороки сердца, у 9 из 10 — порок сердца включал более одной аномалии. **Выводы.** У пациентов с конотрункальными, септальными или сложными ВПС и экстракардиальной патологией с большей вероятностью возможно обнаружение клинически значимых CNVs.

Ключевые слова: вариации числа копий ДНК, CNV, врожденные пороки сердца

Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

CNVs in the nosological structure of congenital heart disease

Slepukhina A.A.¹, Skryabin N.A.², Kashevarova A.A.², Lifshits G.I.¹, Lebedev I.N.²

¹ — Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia; e-mail: a.slepukhina@medgenetics.ru

² — Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Copy number variations (CNVs) are one of the genetic causes of congenital heart disease. Existing views on CNVs in the etiology of the congenital heart disease (CHD) does not fully explain the formation of a specific heart defect. The obtained knowledge will be directed to the development of new approaches for improving the diagnosis of genomic imbalance in patients with CHD. This study aim at investigating the presence of pathogenetically significant CNVs in the nosological structure of CHD. Materials and methods. 31 children with CHD, combined with extracardiac pathology were included in the study. Samples of DNA were analyzed using high-density DNA microarrays SurePrint G3 Human Genome CGH + SNP Microarray Kit, 8 x 60K (Agilent Technologies, USA). ICD-11 was used to describe the nosological structure. Results. Pathogenic and likely pathogenic CNVs were detected in 32% (10/31) of patients with CHD and extracardiac pathology. CNVs were identified in the categories of CHD: anomaly of a ventricle or the ventricular septum; anomaly of atrial septum; anomaly of a ventriculo-arterial valve or adjacent regions; anomaly of the mediastinal vein. Conclusions. The detection of pathogenic or likely pathogenic CNVs is more often associated with conotruncal, septal or complex heart defects.

Keywords: copy number variations, CNVs, congenital heart disease.

Актуальность

В 2017 году был опубликован фрагмент МКБ-11, посвященный классификации врожденных пороков сердца (ВПС) [1]. Вариации числа копий ДНК (CNVs) являются одной из причин развития ВПС, занимая условно промежуточное положение между крупными хромосомными перестройками и моногенными мутациями. Частота выявления CNVs у пациентов с ВПС находится в интервале от 3 до 26%. Несмотря на высокую пенетрантность ВПС

при различных микроделеционных и микродупликационных синдромах, понимание механизмов возникновения пороков сердца и отражение влияния CNVs на кардиогенез остаются неопределенными. Планирование операции, ее исход и постоперационный период являются зависимыми от генетических факторов. В дальнейшем исследование связи CNVs и типов пороков сердца может быть использовано для разработки и конкретизации новых тактик ведения пациентов.

Цель — изучить представленность патогенетически значимых CNVs в нозологической структуре врожденных пороков сердца и обнаружить связь между патогенетически значимыми CNVs и аномальным строением сердца.

Материал и методы

Обследован 31 пациент, перенесший оперативное лечение по поводу ВПС. Диагноз ВПС устанавливался на основании эхокардиографических данных, согласно рекомендациям РКО [2]. При описании нозологической структуры ВПС использовали международную классификацию болезней 11 пересмотра (МКБ-11) [1]. Включение в исследование проводилось при наличии у пациента сопутствующей экстракардиальной патологии: множественных аномалий развития, микроаномалий, лицевых дизморфий, отставания в развитии (психическом, психоречевом, речевом, психомоторном, интеллектуальном и физическом). Анализ ДНК проводился с использованием ДНК-микрочипов высокого разрешения SurePrint G3 Human Genome CGH+SNP Microarray Kit, 8x60K (Agilent Technologies, США). Мечение, гибридизацию и последующую визуализацию данных проводили в соответствии с протоколом, рекомендованным производителем. Полученные результаты анализировали с использованием публично доступных баз данных DGV (<http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>) и DECIPHER (<https://decipher.sanger.ac.uk>). Верификацию выявленных патогенетически значимых CNV проводили с использованием полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с подбором уникальных праймеров для выявленных регионов хромосом.

Результаты и обсуждение

Среди обследованных 23% (7/31) имели патогенные CNVs, охарактеризованные как делеции. Случаи делеций были представлены ранее известными синдромами: у 5 пациентов синдромом Ди Джорджи, по одному пациенту с синдромом Вильямса и синдромом микроделеции 1p36. У 6 из 7 пациентов было можно оценить происхождение CNVs: все делеции у пациентов возникли *de novo*. У 10% (3/31) были выявлены потенциально патогенные дупликационные варианты. Вариант микродупликации 20p13 материнского происхождения ранее был подробно описан нами [3]. Второй случай дупликации был представлен увеличением числа копий участка хромосомы 21p22.13, который был обнаружен у пробанда и унаследован им от больного отца с идентичным пороком сердца. Третий случай был представлен микродупликацией Xp22.31, происхождение которой уточняется. Дупликации в хромосомном регионе Xp22.31 рассматриваются в качестве факторов риска развития патологии нервной системы, обсуждается их неполная пенетрантность [4]. Дуплицированный фрагмент включает ген *PNPLA4*, который кодирует фермент, участвующий

в метаболизме ретинола — ключевой сигнальной молекулы на ранних этапах кардиогенеза. Вовлеченность в CNV гена, воспринимающего ответ внешней среды, рассматривается как один из общих механизмов подверженности заболеваниям, связанным с нарушением морфологии сердца [5].

Согласно опубликованному фрагменту МКБ-11, выявленные типы пороков сердца в нозологической структуре распределены следующим образом (таблица).

В МКБ-11 ключевым принципом классификации служит анатомическое расположение определенных структур сердца и соединенных с ним крупных сосудов. Септальные дефекты являются наиболее распространенным типом пороков сердца (14 из 31 в обследованной нами выборке), что соответствует данным литературы [6].

Наиболее часто патогенные и потенциально патогенные CNVs были выявлены в категориях врожденных аномалий желудочков и их перегородки, межпредсердной перегородки, вентрикуло-артериального клапана или смежных областей и вен средостения. В большинстве исследований для сохранения объема выборки не производят разделение на подгруппы по типам пороков сердца. Лишь в одном исследовании авторы выделили 9 фенотипических подгрупп при описании 442 пациентов [7]. В этой работе патогенные и потенциально патогенные CNVs наиболее часто были выявлены в подгруппах пациентов в категориях конотрункальных и септальных дефектов. Аномалии конотрункуса были обнаружены у 4 из 27 (14,8%) пациентов, а конотрункальные дефекты комбинированные с другими дефектами сердца у 13 из 85 (17,3%) пациентов. Септальные дефекты были выявлены у 17 из 84 пациентов (20,2%). В настоящем исследовании патогенные и потенциально патогенные CNVs наиболее часто встречались в тех же подгруппах: в 3 из 6 случаев при конотрункальных дефектах, в 5 из 14 случаев при септальных дефектах. Таким образом, у 8 из 10 пациентов с патогенными и потенциально патогенными CNVs развиваются конотрункальные и септальные дефекты. На более частую встречаемость патогенных и потенциально патогенных CNVs в этих подгруппах предположительно могут влиять значительная распространенность септальных дефектов и представленность микроделеции 22q11. Тем не менее эффекты изменения доз генов определенных транскрипционных факторов могут приводить к нарушению формирования одной из самых первичных сердечных структур — конотрункуса, подобно происходящему при изменении дозы гена *TBX1* при синдроме микроделеции 22q11. Вероятно, у носителей патогенных и потенциально патогенных CNV имеется тенденция к нарушению формирования нескольких структур сердца. Так патогенные и потенциально патогенные CNVs были выявлены у 9 из 18 пациентов с ВПС, включающими несколько дефектов по сравнению с 1 из 13 пациентов, когда ВПС был единственным дефектом.

Выводы

Заслуживает внимания наличие частичного аномального дренажа легочных вен в верхнюю полую вену у всех трех пациентов с микродупликациями.

По литературным данным, частичный аномальный дренаж легочных вен в верхнюю полую вену встречается при синдроме Тернера, очень редко — при тетрасомии 22q, кольцевой хромосоме 12p, однократно описан при транслокации 10 и 21 хромосом, иногда — в сочетании с пороками сердца с нарушением лево-правого паттерна [8].

У пациентов с конотрункальными, септальными или сложными врожденными пороками сердца и экстракардиальной патологией с большей вероятностью возможно обнаружение клинически значимых CNVs, что должно учитываться клиническими специалистами при планировании обследования и оценке прогноза заболевания. Возможная связь частичного аномального дренажа легочных вен в верхнюю полую вену и CNVs у пациентов с экстракардиальной патологией является предметом для дальнейших научных исследований.

Таблица

Характер представленности патогенетически значимых CNVs в нозологической структуре ВПС

| Код МКБ11 | Наименование группы, врожденного порока сердца | >1 деф. | n | Chr. reg. | N |
|---|--|---------|----|-------------|----|
| LA80 | Пороки с нарушением позиции сердца | | 0 | | 1 |
| | Декстрокардия. ДМЖП. | + | | | 1 |
| LA85 | Нарушение атриовентрикулярного и вентрикуло-артериального соединений | | 0 | | 3 |
| | Общий артериальный ствол | | | | 1 |
| | Транспозиция магистральных сосудов с ДМЖП | + | | | 1 |
| | Аномалия Эбштейна | + | | | 1 |
| LA86 | Врожденные аномалии вен средостения | | 1 | | 1 |
| | Частичный аномальный дренаж правых и левых легочных вен в верхнюю полую вену | | 1 | dup21p22.13 | 1 |
| LA88 | Аномалии желудочков и их перегородки | | 5 | | 12 |
| | Дефект межжелудочковой перегородки | | | | 4 |
| | ДМЖП. Предклапанная аортальная мембрана | + | | | 1 |
| | ДМЖП. Открытый артериальный проток. | + | 1 | del1p36 | 1 |
| | Тетрада Фалло. | + | 2 | del22q11.2 | 4 |
| | ДМЖП. Двустворчатый аортальный клапан. | + | 1 | del22q11.2 | 1 |
| | ДМЖП. Частичный аномальный дренаж легочных вен в верхнюю полую вену. | + | 1 | dup20p13 | 1 |
| LA89 | Функционально единственный желудочек сердца | | 0 | | 4 |
| | Атрезия трикуспидального клапана. | | | | 2 |
| | Синдром гипоплазии левого сердца. | + | | | 1 |
| | Единственный левый желудочек сердца с общим притоком | | | | 1 |
| LA8A | Аномалии вентрикуло-артериального клапана или смежных областей | | 2 | | 2 |
| | Надклапанный аортальный стеноз. Стеноз истока правой легочной артерии | + | 1 | del7q11.23 | 1 |
| | Атрезия легочной артерии с ДМЖП | + | 1 | del22q11.2 | 1 |
| LA8B | Аномалии крупных артерий | | 0 | | 2 |
| | Коарктация аорты. ДМЖП. | + | | | 1 |
| | Аорто-легочное окно. Перерыв дуги аорты | + | | | 1 |
| LA8E | Аномалии межпредсердной перегородки | | 2 | | 6 |
| | Дефект межпредсердной перегородки | | 1 | del22q11.2 | 4 |
| | ДМПП. Стеноз клапана легочной артерии. Двустворчатый аортальный клапан | + | | | 1 |
| | ДМПП. Частичный аномальный дренаж правых легочных вен в верхнюю полую вену | + | 1 | dupXp22.31 | 1 |
| | Общее количество | 18 | 10 | | 31 |
| Примечание. >1 деф — наличие более одного дефекта сердца (сложного порока сердца); n — число пациентов, у которых выявлены CNVs; Chr. reg. — локализация и тип CNVs; N — общее количество пациентов в категории. ДМЖП — дефект межжелудочковой перегородки. ДМПП — дефект межпредсердной перегородки. | | | | | |

Список литературы

1. Franklin RCG, Beland MJ, Colan SD, et al. Nomenclature for congenital and paediatric cardiac disease: the International Paediatric and Congenital Cardiac Code (IPCCC) and the Eleventh Iteration of the International Classification of Diseases (ICD-11). *Cardiol Young*. 2017;27(10):1872-1938. doi:10.1017/S1047951117002244.
2. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, et al. Рекомендации по количественной оценке структуры и функции камер сердца. *Российский кардиологический журнал*. 2012;3(95):3-28.
3. Автор. 2017.
4. Esplin ED, Li B, Slavotinek A, et al. Nine patients with Xp22.31 microduplication, cognitive deficits, seizures, and talipes anomalies. *Am J Med Genet Part A*. 2014;164(8):2097-2103. doi:10.1002/ajmg.a.36598.
5. Lage K, Greenway SC, Rosenfeld JA, et al. Genetic and environmental risk factors in congenital heart disease functionally converge in protein networks driving heart development. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(35):14035-40. doi:10.1073/pnas.1210730109.
6. van der Linde D, Konings EEM, Slager MA, et al. Birth Prevalence of Congenital Heart Disease Worldwide. *J Am Coll Cardiol*. 2011;58(21):2241-2247. doi:10.1016/j.jacc.2011.08.025.
7. Geng J, Picker J, Zheng Z, et al. Chromosome microarray testing for patients with congenital heart defects reveals novel disease causing loci and high diagnostic yield. *BMC Genomics*. 2014;15(1):1127. doi:10.1186/1471-2164-15-1127.
8. Lalani SR, Belmont JW. Genetic basis of congenital cardiovascular malformations. *Eur J Med Genet*. 2014;57(8):402-13. doi:10.1016/j.ejmg.2014.04.010.