

Анализ молекулярно-генетических причин врожденных пороков сердца у детей

Р.Р. Алиев¹, И.Ш. Расулов¹, П.А. Тарасова¹, Л.М. Шипилова¹, О.И. Гуменюк¹, Ю.В. Черненко¹,
О.С. Грознова^{2,3}

¹ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов, Россия;

²ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии и детской хирургии им. академика Ю.Е. Вельтищева» (Институт Вельтищева) ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия;

³Благотворительный фонд медико-социальных генетических проектов помощи «Геном жизни», Москва, Россия

Analysis of molecular genetic causes of congenital heart defects in children

R.R. Aliyev¹, I.Sh. Rasulov¹, P.A. Tarasova¹, L.M. Shipilova¹, O.I. Gumeniuk¹, Yu.V. Chernenkov¹,
O.S. Groznova^{2,3}

¹Razumovsky Saratov State Medical University, Saratov, Russia;

²Veltischev Research and Clinical Institute for Pediatrics and Pediatric Surgery of the Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;

³Charity Fund Life Genome, Moscow, Russia

В 10–20% случаев врожденные пороки сердца вызваны хромосомными аномалиями и мутацией генов.

Цель исследования. Анализ генетических причин врожденных пороков сердца у детей.

Материалы и методы. Проведен анализ историй болезни и результатов молекулярно-генетического исследования 15 детей с врожденными пороками сердца.

Результаты. При проведении полногеномного секвенирования ДНК у детей с врожденными пороками сердца и сосудов выявлены делеция 21q22.3 с дупликацией 4q31.1 →qter и патогенные варианты в генах *PPP1CB*, *FN1*, *PHF6*, *CITIED2*, *ARID2*, *KMT2A*, *CIT*, *JAG1*, *MED13L*, *ELN*, *CHRNA3*, *KCNK9*.

Заключение. В большинстве случаев у обследованных детей врожденные пороки сердца были обусловлены патогенными вариантами генов или хромосомными аномалиями. Наличие врожденного порока сердца служит абсолютным показанием к молекулярно-генетическому обследованию с целью уточнения происхождения заболевания и диагностики комплексной синдромальной патологии.

Ключевые слова: дети, врожденные пороки сердца, полногеномное секвенирование, секвенирование по Сэнгеру.

Для цитирования: Алиев Р.Р., Расулов И.Ш., Тарасова П.А., Шипилова Л.М., Гуменюк О.И., Черненко Ю.В., Грознова О.С. Анализ молекулярно-генетических причин врожденных пороков сердца у детей. Рос вестн перинатол и педиатр 2023; 68(6): 36–40. DOI: 10.21508/1027-4065-2023-68-6-36-40

In 10–20% of cases, congenital heart defects are caused by chromosomal abnormalities and gene mutation.

Purpose. The purpose of the study: analysis of the genetic causes of congenital heart defects in children.

Materials and Methods. The analysis of the medical history and the results of Genetics and Molecular Research (GMR) in 15 children with congenital heart defects were carried out.

Results. Genome-wide DNA sequencing in patients with congenital heart defects revealed deletion 21q22.3 with duplication 4q31.1 →qter and pathogenic variants in the genes *PPP1CB*, *FN1*, *PHF6*, *CITIED2*, *ARID2*, *KMT2A*, *CIT*, *JAG1*, *MED13L*, *ELN*, *CHRNA3*, *KCNK9*.

Conclusion. In the vast majority of cases in the examined children, congenital heart defects were caused by pathogenic gene variants or chromosomal abnormalities. Congenital heart defects are an absolute indication for cytogenetic and molecular genetic examination.

Key words: children, congenital heart defects, genome-wide sequencing, Sanger sequencing.

For citation: Aliyev R.R., Rasulov I.Sh., Tarasova P.A., Shipilova L.M., Gumeniuk O.I., Chernenkov Yu.V., Groznova O.S. Analysis of genetic causes of congenital heart defects in children. Ros Vestn Perinatol i PEDIATR 2023; 68(6): 36–40 (in Russ). DOI: 10.21508/1027-4065-2023-68-6-36-40

© Коллектив авторов, 2023

Адрес для корреспонденции: Гуменюк Ольга Игоревна — к.м.н., доц. кафедры госпитальной педиатрии и неонатологии Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского,

ORCID: 0000-0001-5736-9624

e-mail: saroshum@mail.ru

Алиев Рашад Рагиф оглы — студент VI курса педиатрического факультета Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского

Расулов Ислам Шамилович — студент VI курса педиатрического факультета ФГБОУ ВО СГМУ им. В.И. Разумовского

Тарасова Полина Александровна — студент VI курса педиатрического факультета Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского

Шипилова Любовь Михайловна — к.м.н., доц. кафедры госпитальной педиатрии и неонатологии Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского, ORCID: 0000-0002-8173-828X

Черненко Юрий Валентинович — д.м.н., зав. кафедрой госпитальной педиатрии и неонатологии Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского, ORCID: 0000-0002-6896-7563
410012 Саратов, ул. Большая Казачья, д. 112

Грознова Ольга Сергеевна — д.м.н., гл. науч. сотр. отдела детской кардиологии и аритмологии Научно-исследовательского клинического института педиатрии им. акад. Ю.Е. Вельтищева; дир. Благотворительного фонда медико-социальных генетических проектов помощи «Геном жизни», ORCID: 0000-0002-7511-3240

125412 Москва, ул. Талдомская, д. 2

В настоящее время врожденные пороки сердца занимают лидирующее место по распространенности в сравнении с другими пороками развития и служат ведущей причиной смертности детей [1–3]. По данным некоторых авторов, в структуре причин пороков сердца 10–20% отводится генетическим поломкам. Наиболее часто врожденные пороки сердца встречаются при хромосомных аномалиях — анеуплоидиях, моносомиях, трисомиях, микроделециях и микродупликациях: трисомии 21-й хромосомы (синдром Дауна), трисомии 18-й хромосомы (синдром Эдвардса), трисомии 13-й хромосомы (синдром Патау), моносомии X (синдром Шерешевского–Тернера), трисомии X (синдром Клайнфельтера), синдроме Вольфа–Хиршхорна (4p⁻), синдроме Якобсена (11q ter⁻), синдроме «кошачьего крика» (терминальная делеция 5p⁻), синдроме Вильямса (микроделеция 7q11.23) [4–8].

С развитием молекулярной генетики и доступности молекулярно-генетических исследований увеличивается количество изучаемых генов, патогенные варианты в которых приводят к нарушению развития сердца. К настоящему времени изучены гены, кодирующие транскрипционные факторы, регуляторы метилирования и гистоновых белков, белки сигнальных путей, управляющих ростом и дифференцировкой клеток тканей сердца, варианты в которых могут служить причиной формирования пороков сердца у детей [6].

Цель исследования: анализ генетических причин врожденных пороков сердца у детей.

Характеристика детей и методы исследования

Проведен анализ историй болезни и результатов полногеномного секвенирования ДНК 15 детей в возрасте 1–18 лет с врожденными пороками сердца, состоявших на диспансерном учете у кардиолога и обследованных в клинике госпитальной педиатрии Университетской клинической больницы №1 им. С.Р. Миротворцева Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского. Выполнено полное секвенирование генома при поддержке Благотворительного фонда медико-социальных генетических проектов помощи «Геном жизни». При выявлении генетических вариантов у больных и их родителей выполняли секвенирование по Сэнгеру или хромосомный микроматричный анализ для валидации выявленного варианта и сегрегационного анализа семьи. Законные представители детей дали информированное добровольное согласие на проведение генетических исследований (полногеномного секвенирования, секвенирования по Сэнгеру, хромосомного микроматричного анализа) и представление результатов исследований в публикациях.

Результаты

У детей, включенных в исследование, диагностированы следующие врожденные пороки сердца: над-

клапанный стеноз аорты ($n=3$), вторичный дефект межпредсердной перегородки ($n=3$), перимембранозный дефект межжелудочковой перегородки ($n=2$), двустворчатый клапан аорты ($n=2$), открытый артериальный проток ($n=2$), стеноз легочной артерии ($n=1$), аневризма легочной артерии ($n=1$) и коронарно-легочная фистула ($n=1$).

При проведении полногеномного секвенирования нового поколения ДНК (NGS) лишь у одного ребенка с врожденным двустворчатым клапаном аорты хромосомные и генные нарушения не обнаружены. Девочка с надклапанным стенозом аорты, прошедшая также процедуру кариотипирования, имела множественные структурные хромосомные аномалии: делецию 21q22.3 и дупликацию 4q31.1 ->qter, ответственные за развитие комплекса пороков развития. Патогенные/вероятно патогенные варианты в различных генах диагностированы у 13 детей (см. таблицу).

У всех детей и их родителей при выявлении мутаций по данным NGS-секвенирования проведено сегрегационное исследование в формате Сэнгер-трио (пробанд + родители), таким образом наличие нуклеотидного варианта валидировано. В 10 случаях детектированы варианты в генах, ассоциированных с аутосомно-доминантно наследуемыми заболеваниями, при этом у 8 пробандов варианты возникли *de novo*, что указывает на их каузативность. Двое детей (с мутациями в генах *ELN* и *ARID2*) унаследовали патогенные варианты генов от матерей. У пациента и его матери с патогенным вариантом в гене *ELN*, помимо надклапанного артериального стеноза, имелись признаки дисплазии соединительной ткани; пациенты наблюдаются кардиологом по поводу наследственного нарушения соединительной ткани. Оба пациента нуждаются в дополнительном клиническом обследовании с привлечением пульмонолога, дерматолога и других специалистов в связи с тем, что патогенные варианты этого гена ответственны за возникновение не только надклапанного артериального стеноза, но и редкой формы дисплазии соединительной ткани — синдрома Cutis laxa. У ребенка с вариантом в гене *ARID2* подтверждено наследование от матери, однако мать пробанда не обследована, отсутствует информация о ее клиническом статусе.

У пациента с коронарорегочной фистулой обнаружен вариант *de novo* в гене *PHF6*, ассоциированном с синдромом Борьсона–Форсмана–Лемана (X-сцепленное рецессивное наследование). Синдром проявляется множественной симптоматикой, что требует наблюдения специалистов различного профиля.

У 2 детей выявлены варианты в генах, связанных с заболеваниями, которые имеют аутосомно-рецессивный тип наследования. Ребенок с вариантами в гене *CHRNA3* является компаунд-гетерозиготой, что поддерживает каузативность генетических данных (родители не обследованы). Мутации гена *CHRNA3*

Таблица. Данные полногеномного секвенирования у детей с врожденными пороками сердца, выявленные синдромы и симптомы
 Table. Genome-wide sequencing data in children with congenital heart defects, associated syndromes and symptoms

Пациент	Патогенный вариант гена	Врожденный порок сердца	Выявленные синдромы/симптомы	Синдром согласно OMIM
1	<i>PPP1CB</i> (chr2:28974900G>C c.-87-4G>C)	Дефект межпредсердной перегородки	Агенезия червя мозжечка. Атрезия ануса	Нунан-подобный синдром с потерей анагенных волос (617506)
2	<i>FNI</i> (chr2:21625777C>T c.3946G>A p.Val1316Met)	Дефект межпредсердной перегородки	Врожденная низкая кишечная непроходимость	Гломерулопатия с накоплением фибронектина-2 (601894). Спондилометафизарная дисплазия с угловыми переломами (184255)
3	<i>CITED2</i> (chr6:139694931G>C c.166C>G p.Leu56Val)	Дефект межпредсердной перегородки	Аутоиммунный тиреоидит, гипотиреоз	Дефект межпредсердной перегородки, 8-й тип (614433)
4	<i>ARID2</i> (12:g.45851418T>C)	Дефект межжелудочковой перегородки	Задержка умственного развития. Грубые черты лица	Синдром Коффина-Сируса, тип 6 (617808)
5	<i>MED13L</i> (chr12:g.115968996G>C ENST00000281928.8: c.6169C>G ENST00000281928.8: p.Pro2075Ala)	Дефект межжелудочковой перегородки	Задержка умственного развития. Аутизм	Нарушение интеллектуального развития с лицевыми аномалиями с (или без) пороками сердца (616789)
6	<i>ELN</i> (chr7:73449729G>A c.118G>A p.Gly40Arg)	Надклапанный стеноз аорты	Аутизм. Высокорослость. Гипермобильность суставов	Надклапанный аортальный стеноз (185500)
7	<i>ELN</i> (chr7:73449729G>A c.118G>A p.Gly40Arg)	Надклапанный стеноз аорты	Гипермобильность суставов	Надклапанный аортальный стеноз (185500)
8	<i>KMT2A</i> (chr11:118352454C>CT c.3660dupT p.Lys1221Ter)	Двустворчатый клапан аорты	Л-образная почка. Двухсторонний мегауретер	Синдром Видемана-Штейнера (605130)
9	<i>CIT</i> (chr12:120241198T>C c.1112-5A>G)	Открытый артериальный проток	Гипоплазия мозолистого тела. Задержка умственного развития	Микроцефалия (617090)
10	<i>CHRNA3</i> (15:g.78618796T>C ENST00000326828.6: c.202A>G ENSP00000315602.5: p.Ser447Asn). (15:g.78601302C>T ENST00000326828.6: c.1340G>A ENSP00000315602.5: p.Ser447Asn)	Открытый артериальный проток	Порок развития влажлища	Дисфункция мочевого пузыря, нарушение зрачкового рефлекса, вторичный САКУТ-синдром (191800)
11	<i>JAG1</i> (chr20:10622430C>T c.2682+1G>A)	Стеноз легочной артерии	Дуктулярная гипоплазия внутрипеченочных желчных протоков. Нефункционирующая левая почка	Синдром Алажилля (118450)
12	<i>KCNK9</i> (8:139506452-139598213)	Аневризма легочной артерии	Артрогриппоз	Синдром Бирк-Бареля (612292)
13	<i>PHF6</i> (X:g.134378801G>A)	Коронарно-легочная фистула	Аплазия правой почки. Аплазия щитовидной железы. Микрофтальм. Двусторонняя нейросенсорная тугоухость. Задержка умственного развития	Синдром Борьесона-Форсмана-Лемана (301900)

ведут к синдрому множественных пороков развития, это следует учитывать в ходе дальнейшего медицинского наблюдения. У пробанда с мутацией в гене *CIT* нуклеотидный вариант выявлен в гетерозиготном состоянии, что недостаточно для установления его диагностической значимости. Имеющаяся у ребенка клиническая симптоматика — задержка умственного развития, гипоплазия мозолистого тела — обосновывает необходимость поиска структурного варианта данного гена (не выявленного при проведении NGS). Будет продолжено исследование методом хромосомного микроматричного анализа.

Обсуждение

Врожденные пороки сердца — распространенные полиэтиологические заболевания, которые могут возникать вследствие генетических дефектов, на фоне токсического воздействия лекарственных препаратов на плод во время беременности, в связи с соматическими или инфекционными заболеваниями матери и по другим причинам. По данным S. Rong и соавт. [9], генетически детерминированные врожденные пороки сердца диагностируются у одного из 100 детей. При спонтанно прерванной беременности врожденные пороки сердца выявляются у 10% плодов [10].

Клиническая симптоматика пороков сердца немногочисленна. В основном это проявления недостаточности кровообращения в большом или малом круге при декомпенсированном течении порока или отсутствие клинических признаков (кроме шума в сердце) при компенсированном течении. Сложные и сочетанные врожденные пороки сердца нередко встречаются при генетических синдромах, но в большинстве случаев мы наблюдаем изолированные, так называемые неспецифические, врожденные пороки сердца как единственное клиническое проявление. В целом врожденные пороки сердца — это гетерогенная группа мальформаций с различным уровнем поражения и клиническими формами.

В описываемой нами когорте детей не выявлено сложных или сочетанных пороков сердца. Наиболее часто встречаемые врожденные пороки сердца в нашем исследовании: надклапанный стеноз аорты, вторичный дефект межпредсердной перегородки, перимембранный дефект межжелудочковой перегородки и двустворчатый клапан аорты, что совпадает с результатами других исследований распространенности сердечно-сосудистых мальформаций. Поскольку, по данным литературы, частота выявления хромосомных и генных аномалий при врожденных пороках сердца велика, мы провели и проанализировали результаты исследования полного генома в описываемой когорте детей. В исследуемой группе, включавшей 15 детей, у одного ребенка поражение сердца было обусловлено хромосомными аномалиями. У 13 из 15 детей выявлены патогенные варианты генов, ассоциированные с моногенными синдромами, сопровождающимися поражением сердечно-сосудистой системы. У 7 из этих детей, наряду с поражением сердца, выявлены аномалии других внутренних органов и систем, что требует дополнительного медицинского наблюдения врачей.

Заключение

Врожденные пороки сердца служат абсолютным показанием к проведению цитогенетического и молекулярно-генетического обследования, особенно в случае сочетания с пороками развития других органов, задержкой умственного развития. Определение причины врожденных пороков сердца способствует установлению диагноза генетически детерминированного заболевания, оценке прогноза его течения, правильной маршрутизации пациентов, определению объема медицинского наблюдения за ребенком специалистами различного профиля, рациональному планированию дальнейшего деторождения в семье.

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Саперова Е.В., Вахлова И.В. Врожденные пороки сердца у детей: распространенность, факторы риска, смертность. Вопросы современной педиатрии 2017; 16(2): 126–133. [Saperova E.V., Vahlova I.V. Congenital Heart Diseases in Children: Incidence, Risk Factors, Mortality. Voprosy sovremennoi pediatrii 2017; 16(2): 126–133. (in Russ.)] DOI: 10.15690/vsp.v16i2.1713
2. Левашова О.А., Левашов С.Ю. Врожденные пороки сердца у детей г. Челябинска: региональные аспекты 20-летнего мониторинга. Сибирский научный медицинский журнал 2022; 42(1): 79–85. [Levashova O.A., Levashov S.Yu. Congenital heart defects in children of Chelyabinsk: regional aspects of the 20-year monitoring. Sibirskii nauchnyi meditsinskii zhurnal 2022; 42(1): 79–85. (in Russ.)] DOI: 10.18699/SSMJ20220109
3. Арапханова Х.А., Пузин С.Н., Ковалев И.А. Анализ статистических показателей инвалидности среди детского населения с врожденными пороками сердца за 2020–2021 гг. Инновации в диагностике, лечении, медико-социальной экспертизе, реабилитации: взгляд молодежи. Сборник тезисов. СПб, 2022; 32–38. [Arapanova H.A., Puzin S.N., Kovalev I.A. Analysis of statistical indicators of disability among children with congenital heart defects for 2020–2021. Innovations in diagnostics, treatment, medical and social expertise, rehabilitation: the view of youth. Abstracts book. SPb, 2022; 32–38. (in Russ.)]
4. Заклязьминская Е.В. Генетика и ДНК-диагностика врожденных пороков сердца. Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал им. акад. Б.В. Петровского 2021; 9(3): 14–20. [Zaklyazminskaya E.V. Genetics and genetic diagnostics of congenital heart disease. Klinicheskaja i jeksperimental'naja hirurgija. Zhurnal im. akad. B.V. Petrovskogo 2021; 9(3): 14–20. (in Russ.)] DOI: 10.33029/2308–1198–2021–9–3

5. Слепухина А.А., Лебедев И.Н., Лифшиц Г.И. Вариации числа копий ДНК в этиологии врожденных пороков сердца. Российский кардиологический журнал 2018; 23(10): 119–126. [Slepukhina A.A., Lebedev I.N., Lifshitz G.I. Variation of DNA copies number in etiology of congenital heart defects. Rossiiskii kardiologicheskii zhurnal 2018; 23(10): 119–126. (in Russ.)] DOI: 10.15829/1560-4071-2018-10-119-126
6. Слепухина А.А., Скрябин Н.А., Кашеварова А.А., Новикова М.А., Лифшиц Г.И., Лебедев И.Н. Array-CGH в диагностике геномных болезней у детей с врожденными пороками сердца и экстракардиальной патологией. Медицинская генетика 2018; 17(3): 23–29. [Slepukhina A.A., Skryabin N.A., Kashevarova A.A., Novikova M.A., Lifshits G.I., Lebedev I.N. Array-CGH in diagnostics of genomic diseases in children with congenital heart diseases and extracardiac pathology. Meditsinskaya genetika 2018; 17(3): 23–29. (in Russ.)] DOI: 10.25557/2073-7998.2018.03.23-29
7. Blue G.M., Kirk E.P., Giannoulatos E., Sholler G.F., Dunwoodie S.L., Harvey R.P. et al. Advances in the Genetics of Congenital Heart Disease: A Clinician's Guide. J Am Coll Cardiol 2017; 69(7): 859–870. DOI: 10.1016/j.jacc.2016.11.060
8. Zaidi S., Brueckner M. Genetics and Genomics of Congenital Heart Disease. Circ Res 2017; 20(6): 923–940. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.309140
9. Rong S., Min L., Lei L., Yi Zh., Peiying Zh. Congenital Heart Disease: Causes, Diagnosis, Symptoms, and Treatments Cell Biochem Biophys 2015; 72(3): 857–860. DOI: 10.1007/s12013-015-0551-6
10. Fahed A.C., Gelb B.D., Seidman J.G., Seidman C.E. Genetics of congenital heart disease: the glass half empty. Circ Res 2013; 112: 707–720. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.112.300853

Поступила: 25.07.23

Received on: 2023.07.25

Конфликт интересов:

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов и финансовой поддержки, о которых необходимо сообщить.

Conflict of interest:

The authors of this article confirmed the lack of conflict of interest and financial support, which should be reported