

Вариации числа копий ДНК в этиологии врожденных пороков сердца

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

За последнее десятилетие были получены убедительные доказательства того, что вариации числа копий ДНК (Copy number variation, CNV) связаны с возникновением врожденных пороков сердца (ВПС). В настоящем обзоре рассматривается вклад CNV в развитие ВПС, уделяется внимание как широкоизвестным вариациям, таким как микроделеции хромосомного региона 22q11, так и новым редким уникальным вариациям, которые обнаружены в последние годы. Мы полагаем, что общий взгляд на подходы к пониманию каузативности CNV включает в себя описание доли и характера вызываемой ими патологии. Отдельное место отведено анализу роли генов кандидатов в этиологии ВПС и механизмам их патологического влияния в условиях изменения доз генов. Обсуждается, какие генетические характеристики CNV наиболее информативны при оценке возможной патогенности микроструктурной перестройки хромосом.

Российский кардиологический журнал. 2018;23(10):119–126
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2018-10-119-126>

Ключевые слова: вариации числа копий ДНК, copy number variation, CNV, врожденные пороки сердца, ВПС.

Конфликт интересов: не заявлен.

¹ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск; ²ФГБНУ НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, Томск, Россия.

Слепухина А. А.* — м.н.с. лаборатории персонализированной медицины, ORCID: 0000-0001-5069-8193, Лебедев И. Н. — д.б.н., профессор РАН, заместитель директора по научной работе, руководитель лаборатории цитогенетики, ORCID: 0000-0002-0482-8046, Лифшиц Г. И. — д.м.н., зав. лабораторией персонализированной медицины, ORCID: 0000-0001-9048-7710.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
 slepukhina_aa@cnmt.ru

CNV — copy number variation, вариации числа копий ДНК, ВПС — врожденные пороки сердца, MMC — микроделеционные и микродупликационные синдромы, ТФ — тетрада Фалло.

Рукопись получена 03.07.2018

Рецензия получена 22.08.2018

Принята к публикации 29.08.2018

Variation of DNA copies number in etiology of congenital heart defects

Slepukhina A. A.¹, Lebedev I. N.², Lifshitz G. I.¹

Past decade, there is a remarkable evidence of that the variation of DNA copies number (copy number variation, CNV) is related with onset of inborn heart defects (IHD). The review is focused on an impact of CNV in IHD development. Attention is paid on widely known variations, as the microdeletions of 22q11 chromosome region, as the novel unique variations that were discovered recent years. We assume that common regard on causation of CNV includes a description of their part and characteristics of the pathology caused. Special place does take the analysis of candidate genes in IHD etiology and mechanisms of their pathological influence under the circumstances of gene doses change. A discussion provided on which genetic characteristics of CNV are more informing in assessment of probable pathogenicity of microstructural chromosomes recomposition.

Russian Journal of Cardiology. 2018;23(10):119–126
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2018-10-119-126>

Key words: DNA copy number variation, CNV, congenital heart defects, inborn heart defects.

Conflicts of Interest: nothing to declare.

¹Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of SD RAS, Novosibirsk; ²SRI of Medical Genetics of Tomskiy NRMС, Tomsk, Russia.

Slepukhina A. A. ORCID: 0000-0001-5069-8193, Lebedev I. N. ORCID: 0000-0002-0482-8046, Lifshitz G. I. ORCID: 0000-0001-9048-7710.

Received: 03.07.2018 **Revision Received:** 22.08.2018 **Accepted:** 29.08.2018

Феномен вариации числа копий ДНК

Врожденные пороки сердца — это обширная нозологически разнообразная группа врожденных аномалий, развитие которых определяется комплексным взаимодействием средовых и генетических факторов. В части случаев хромосомные аномалии и точечные мутации являются известными причинами возникновения дефектов сердца. Представления о генетической компоненте в этиологии врожденных пороков сердца (ВПС) были ограничены возможностями существующих лабораторных методов. В области визуализации хромосом новые микрочиповые технологии пришли на смену стандартному кариотипированию, в основном, многократно превосходя его

в разрешающей способности. Применение методов хромосомного микроматричного анализа позволило обнаружить новый феномен микроструктурной вариативности генома — наличие отличающихся по числу копий от референсного генома участков ДНК. Увеличение (дупликация) или уменьшение (делеция) числа копий ДНК размером более одной тысячи пар оснований стали называть вариацией числа копий ДНК (Copy number variation, CNV) [1, 2]. CNV, как и другие элементы генома, обеспечивают его структурную вариативность и представлены патогенными и нейтральными вариациями. В общей сложности доля обнаружения CNV в геноме находится в пределах 4,8–9,5%. Как правило, основную массу CNV составляют

нейтральные полиморфные вариации [3]. Широкая распространенность CNV связана с вовлеченностью в механизмы их образования различного рода повторов ДНК с высокоидентичной последовательностью, которые способствуют формированию “горячих точек” для образования перестроек хромосом. В зависимости от протяженности участка с измененным числом копий ДНК или его положения на хромосоме, в его состав могут входить десятки генов, один ген или ни одного гена. Чем больше размер CNV или чем больше в перестройку вовлечено генов, тем больше ожидается клинических проявлений, потому что с изменением числа копий участков ДНК происходит и изменение доз расположенных на этих участках генов или нарушается координация их экспрессии [4]. Явление изменения дозы генов, вовлеченных в CNV, приводит к тому, что их белковые продукты вырабатываются в избытке или недостатке. Изменение или нарушение экспрессии генов, безусловно, оказывает влияние на развитие организма и может быть критичным для функционирования биологических процессов. В данном контексте CNV являются уникальными объектами для исследования, так как, с одной стороны, они могут вызывать проявления схожие с анеуплоидиями, с другой — с моногенными заболеваниями. Это определяет их некое промежуточное положение между указанными генетическими факторами.

Чтобы оценить причастность CNV к возникшему фенотипу, исследователи изучают характеристики выявленной микроструктурной перестройки, её размер, захватываемые гены и регуляторные области. Ведущим в понимании формирования пороков сердца остается ген-кандидатный подход, когда исследователь предполагает участие гена-кандидата в течении определённых молекулярных процессов, вовлечённых в кардиогенез или влияющих на функционирование сердца на основе существующих баз данных и проведённых научных исследований. Следующим этапом становится экспериментальное подтверждение влияния выдвинутых генов-кандидатов с использованием модельных организмов или клеточных линий. Этот подход является основополагающим для поиска новых и идентификации ранее выявленных связей отдельных генов или нескольких локализованных на участке хромосомы генов с заболеваниями [5].

Ряд патогенных CNV вызывают микроделеционные/микродупликационные синдромы (ММС) с множественными клиническими проявлениями. Предполагается, что эффект изменения доз многих генов может вызывать схожий паттерн вовлекаемых в заболевание (повреждаемых) систем организма: аномалии сердца, формирование черепа и костей, центральной нервной системы, интеллектуальная недостаточность и поведенческие отклонения. Более

того, почти все выявляемые пороки сердца: дефект межжелудочковой или межпредсердной перегородок, стеноз выносящих отделов, уменьшение камер сердца, транспозиция сосудов — являются общими как для фенотипического проявления анеуплоидий, так и для проявления патогенных CNV. Особенностью пороков сердца для большинства ММС является отсутствие строгой специфичности повреждения — это становится одной из ключевых проблем в оценке условий и причин возникновения ВПС [6]. Не исключено, что влияние определенных микроделетий и микродупликаций хромосом существенно только в конкретном периоде эмбрионального развития и по этой причине, например, при различных микроструктурных перестройках хромосом возникают одинаковые дефекты сердца. Это утверждение отражает гипотезу “клеточного синдрома” Гринберга: многие из дефектов сердца не являются аномалиями по своей сути и могут быть отнесены к гипоморфным порокам, которые на ранних этапах эмбриогенеза являются нормальной стадией развития органа [7].

Вклад вариаций числа копий ДНК в развитие ВПС

Клинический полиморфизм вызывает серьезные затруднения при проработке дизайна научных исследований, что напрямую отражается в разбросе оценочных значений частоты CNV в нозологической структуре ВПС. В постнатальном периоде выявление патогенных CNV наблюдается в 4-26% случаев, при множественных аномалиях развития стремится к верхнему пределу [6, 8]. Ключевыми в формировании такого разброса значений являются критерии формирования групп сравнения: синдромальный/несиндромальный, изолированный/сочетанный пороки; CNV выявлены пренатально/постнатально; унаследованы/*de novo*; дизайн исследования ориентирован на частоту CNV при определенном пороке сердца. Поэтому имеющиеся данные пока не систематизированы и не объединены. На рисунке 1 представлены разные подходы к оценке частоты встречаемости патогенных и потенциально патогенных CNV [8-19]. Таким образом, CNV являются значимой причиной возникновения ВПС, по своему вкладу превышая суммарную долю хромосомных аномалий и моногенных мутаций.

Абсолютное большинство микроделеционных синдромов сопровождаются не только ВПС, но и множественным повреждением органов и систем. Дефекты сердца при микроделециях или микродупликациях хромосом являются столь же высокопенетрантным признаком, как и для хромосомных аномалий. Например, при трисомии 21 ВПС характерны для 60-80% больных, а при микроделеции 22q11 — для 60-85% пациентов. Распространенные ММС представлены в таблице 1, для каждого синдрома известны кандидатные гены, способствующие возникновению

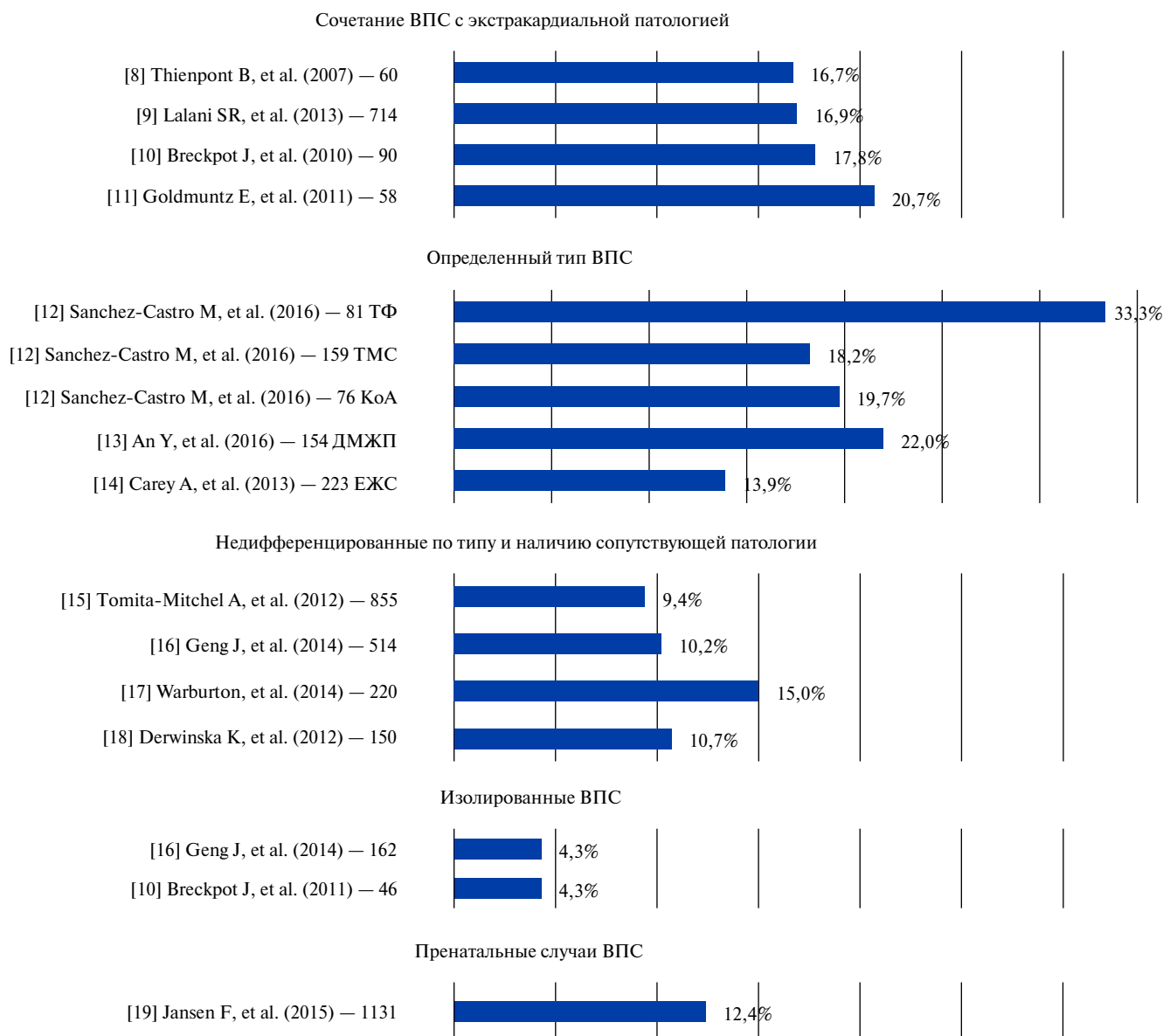


Рис. 1. Частота выявления патогенных и потенциально патогенных CNV у детей с ВПС.

Сокращения: ДМЖП — дефект межжелудочковой перегородки, ЕЖС — единственный желудочек сердца, КоА — коарктация аорты, ТМС — транспозиция магистральных сосудов, ТФ — тетрада Фалло.

ВПС и указана частота проявления сердечных аномалий [20].

Роль микроделеции 22q11 в нозологической структуре ВПС

В историческом контексте поиск генетических факторов, лежащих в основе возникновения врожденных пороков сердца, отражает развитие технологий визуализации хромосомного набора, структурных перестроек хромосом и методов секвенирования. Так, в 1981г Де ла Шапель и в 1982г Келлей обнаружили генетическую основу ранее описанного синдрома “конотрункальных лицевых пороков”. Ученые изучали клинические проявления транслокаций

между 22 и другими аутосомами. С 1992г использование метода флуоресцентной гибридизации *in situ* привело к частому выявлению делеции 22q11 и позволило объединить несколько клинических синдромов: Ди Джоржи, вело-кардио-фациальный и Шпрингцена. Это была первая микроделеция, обуславливающая развитие порока сердца в совокупности с другими аномалиями. На настоящий момент микроделеция 22q11.2 — самая распространенная рецидивирующая микроделеция у людей, встречающаяся с частотой 1:4000 новорожденных. С появлением ДНК-микрочипов, она вошла в классификацию структурных перестроек хромосом как CNV. Благодаря данным микрочиповых исследований удалось

Таблица 1

**Распространенные вариации числа копий ДНК,
вызывающие врожденные пороки сердца, адаптировано из Azamian M, Lalani SR (2016)**

Хромосомный регион, тип перестройки, синдром	Тип ВПС	Частота ВПС, %	Гены-кандидаты	Экстракардиальные аномалии
4p16.3 делеция синдром Вольфа-Хиршорна	ДМПП, СЛА, ТФ, ДМЖП, ОАП	50	<i>FGFR1</i>	Черепно-лицевой дисморфизм, интеллектуальная недостаточность, судороги, пороки мочевыделительной системы, структурные аномалии мозга
11q24 делеция синдром Якобсена	ДМЖП, ДМПП, ОАС, ДОС ПЖ, двуств. АК, стеноз АК, СГЛОС, СМК, КоА	56	<i>EST1</i>	Дисморфичные черты, тромбоцитопения, стеноз привратника, атрезия/стеноз ануса, мальротация кишечника, замедление роста, интеллектуальная недостаточность
Частичная тетраасомия 22q11, синдром кошачьего глаза	ТАДЛВ, ТФ, СЛА, АК, СГЛОС	50-67	<i>CECR1</i>	Колобома, атрезия ануса, атрезия желчных протоков, мальротация кишечника, преаурикулярные бугорки и ямки, аномалии почек
22q11.2 делеция Синдром Ди Джоржи	ПДА тип В, ААД, ОАС, ТФ	75	<i>TBX1</i> <i>HIRA</i> <i>CRKL</i>	Гипоплазия тимуса и параситовидных желез, гипокальциемия, иммунодефицит, дисморфичные черты, недостаточность нёба, аномалии почек, трудности с обучением, психические заболевания
7q11.23 делеция синдром Вильямса	НАС, периф. СЛА	75	<i>ELN</i>	Дружелюбность, гиперкальциемия, дисморфичные черты, интеллектуальная недостаточность
8p23.1 делеция	АВК, ДМПП, СЛА, ТФ	75-94	<i>GATA4</i>	Врожденная диафрагмальная грыжа
1p36 делеция	ДМЖП, ДМПП, ОАП, КоА, кардиомиопатия	70	<i>SKI, PRDM16</i>	Дисморфичные черты, сенсорная тугоухость, судороги, интеллектуальная недостаточность, аномалии мозга
1q21.1 делеция	КоА, ПДА А,В, двуств. АК, аортопатия, ДМЖП, ОСА, ТМС, КоА ОАП	10-25	<i>GJA5</i>	Микроцефалия, задержка развития
1q21.1 дупликация	ТФ	20	<i>GJA5</i>	Макроцефалия, задержка развития
17p11.2 делеция синдром Смит-Магенис	ДМЖП, ДМПП, ТФ, СЛА, ТАДЛВ	~30	<i>RAI1</i>	Дисморфичные черты, гипотония, интеллектуальная недостаточность, аутоагрессия, отставание в росте
17p11.2 дупликация синдром Поттоцки-Лупски	Дилатация корня аорты, ДМЖП, ДМПП, аномалии проводимости, двуств. АК, СГЛОС	40	<i>RAI1</i>	Дисморфичные черты, гипотония, интеллектуальная недостаточность, расстройства аутистического спектра
17p13.3 делеция синдром Миллера-Дикера	ДМЖП, ДМПП, ТФ, ОАП	20	<i>PAFAN1B1</i>	Агирия/пахигирия, лиссенцефалия 1 типа, дисгенезия мозолистого тела, микроцефалия, судороги, дисморфичные черты, интеллектуальная недостаточность
9q34.3 делеция Синдром Клифтса	ДМЖП, ДМПП, СЛА, ОАП, двуств. АК	40	<i>EHMT1</i>	Брахицефалия, синофриз, гипотония, интеллектуальная недостаточность, эпилепсия, особенности поведения
17q21.31 делеция	ДМЖП, ДМПП, СЛА, двуств. АК	39	<i>KANSL1</i>	Вытянутое лицо, эпикант, цилиндрический нос, большие выступающие уши, интеллектуальная недостаточность

Сокращения: ААД — аномалия аортальных дуг, АВК — атриовентрикулярный канал, АК — аортальный клапан, АК — атрезия трикуспидального клапана, ДМЖП — дефект межжелудочковой перегородки, ДМПП — дефект межпредсердной перегородки, ДОС — двойное отхождение сосудов, КоА — коарктация аорты, НАС — надклапанный аортальный стеноз, ОАП — открытый артериальный проток, ОАС — общий артериальный ствол, ПДА — перерыв дуги аорты, ПЖ — правый желудочек, СГЛОС — синдром гипоплазии левых отделов сердца, СЛА — стеноз легочной артерии, СМК — стеноз митрального клапана, ТАДЛВ — тотальный аномальный дренаж легочных вен, ТМС — транспозиция магистральных сосудов, ТФ — тетрада Фалло.

установить структурную организацию этого региона. Регион 22q11.2 обогащен низкокопийными повторами LCR22AH, разделяющими его на фрагменты, что приводит к формированию различных (по протя-

женности и генному составу) делеций и дупликаций путем неаллельной гомологичной рекомбинации.

Современная классификация типа микроделений, вызывающих синдром микроделеции 22q11, пред-

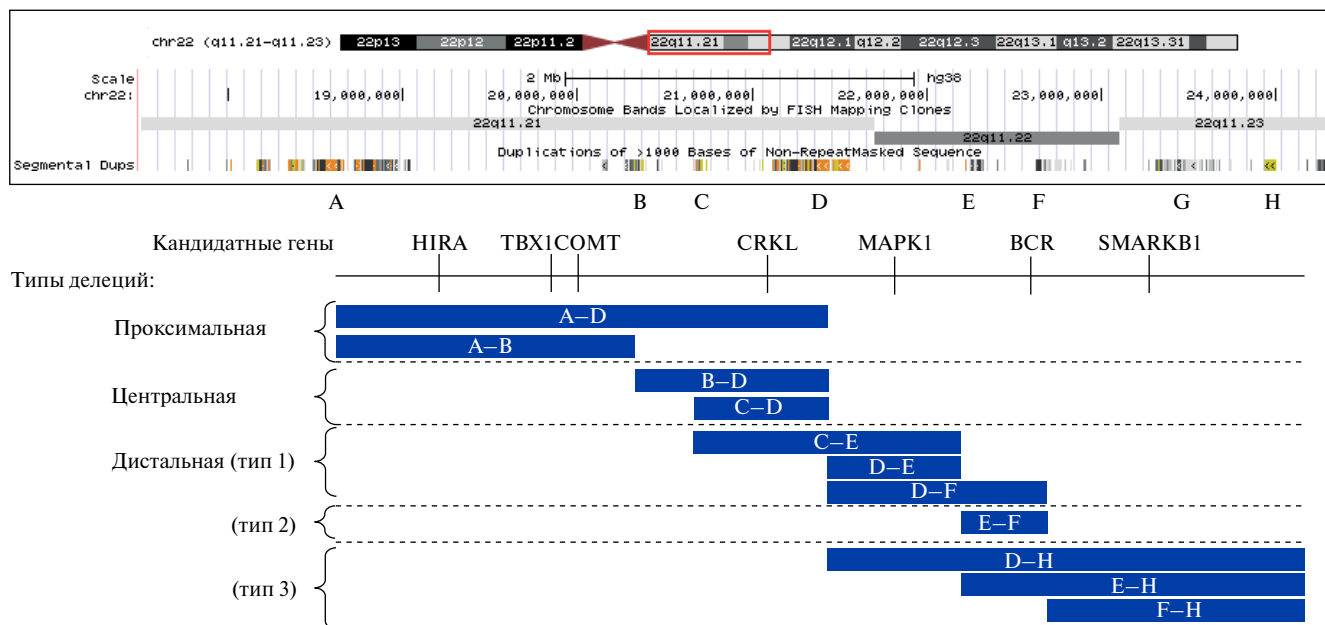


Рис. 2. Классификации микроделетий хромосомного региона 22q11 в зависимости от включения низкокопийных повторов LCR22 A-H.

ставлена на рисунке 2. Отчасти понимание генетической гетерогенности позволило объяснить связь микроделетии с различными клиническими синдромами (Ди-Джорджи, вело-кардио-фациальный и др.), отдельными признаками (конотрункальные пороки сердца и лицевые аномалии) и установить влияние на фенотип 5 кандидатных генов *TBX1*, *COMT*, *MAPK1*, *CRKL*, *HIRA*, расположенных в этом регионе [21]. Указанные гены были охарактеризованы с позиций патогенности и участия в формировании синдромального фенотипа. Ключевую роль в развитии ВПС при синдроме 22q11 микроделетии играет ген *TBX1*. На мышинной модели и модели рыбок *Danio* структурные пороки развития у гемизиготных форм с *Tbx1*^{-/-} возникают из-за дисгенезии и/или некорректного ремоделирования закладки 4 аортальной дуги, включающей зачатки эктодермы, энтодермы и мигрировавших клеток нейронального гребня, что приводит к недоразвитию/отсутствию тимуса, паращитовидной желез, дисморфий лица и аномалиям сердечно-сосудистой системы. Ключевым в возникновении такого фенотипа считают изменение дозы гена транскрипционного фактора *TBX1*, который участвует в контроле Gbx2-сигналов, модулирующих морфологию фарингеальных дуг, и в последующем включается в путь Still-Robo-сигналинга. Изменение экспрессии также влияет и на миграцию клеток второго сердечного поля посредством Mef2c-, Vmр-, Foxc-сигналов, что приводит к развитию конотрункальных дефектов и Pitx2c-сигналов, которые регулируют лево-правую асимметрию [22-24]. В другом исследовании с использованием мышинной модели было показано, что спектр сердечных дефектов зави-

сит от экспрессии гена *CRKL* и является аналогичным спектру ВПС у людей. Авторы предположили, что делеция гена *CRKL* в сочетании с делецией *TBX1* способствует развитию более тяжелых аномалий конотрункуса [25]. Еще один ген *HIRA* в более ранних работах показал свое влияние на формирование перегородки выносящего тракта [21]. На сегодняшний день дополнительным подтверждением являются данные о резком снижении экспрессии гена *HIRA* в тканях миокарда правого желудочка у пациентов с тетрадой Фалло (ТФ), что предполагает участие продуктов этого гена в патогенезе заболевания.

Есть предположения, что CNV за пределами удаленной области 22q11 могут увеличить риск возникновения ВПС. В одном из исследований 603 пациента с ВПС и синдромом микроделетии 22q11 сравнивали с группой из 346 человек с нормальной анатомией сердца. Дупликация гена *SLC2A3* чаще была представлена у пациентов с ВПС ($p=2,68 \times 10^{-4}$), что указывает на то, что настоящая aberrация может являться генетическим модификатором ВПС и/или аномалии аортальной дуги у лиц с синдромом 22q11 микроделетии [26].

Согласно последним данным, чаще других при синдроме микроделетии 22q11 встречаются 11 типов пороков сердца, среди которых самыми распространенными являются конотрункальные пороки: ТФ, общий артериальный ствол, дефект межжелудочковой перегородки, перерыв дуги аорты [27, 28].

Вовлечение в перестройку многих генов, так же как и плейотропное влияние гена *TBX1*, приводит к развитию широкого спектра экстракардиальной патологии, что способствует обсуждению общих

этиологических механизмов разных аномалий и влиянию сопутствующих заболеваний на общий прогноз пациентов. Синдром микроделеции 22q11 относят к тяжелой, мультисистемной патологии, при выявлении которой проводят прерывание беременности по медицинским показаниям. У пациентов с ВПС при синдроме микроделеции 22q11 повышен риск смерти, ОШ 5,27 (95% ДИ 2,06-13,99, $p < 0,0001$). В то же время пациенты с делецией и ТФ имеют четырёхкратное повышение риска смерти по сравнению с другими пациентами с ТФ без синдрома [29]. Сообщается, что для пациентов с делецией по сравнению с пациентами без неё характерна повышенная заболеваемость и повышенное число неблагоприятных операционных исходов [30]. Ко всему прочему, у детей с синдромом Ди Джорджи были выявлены повышенная послеоперационная кровоточивость ОШ 4,21, 95% ДИ 1,12-15,86, $p = 0,0339$ и повышенная потребность в переливании эритроцитарной массы ОШ 3,00, 95% ДИ 1,05-8,60, $p = 0,0399$ в раннем послеоперационном периоде [31]. Согласно последним исследованиям, выявление микроделеции 22q11 оказалось критическим с позиции прогноза здоровья во взрослом возрасте, так как большое число людей проявляют со временем симптомы психических заболеваний. Например, риск развития шизофрении и расстройств шизотипического спектра среди пациентов с микроделецией 22q11 составляет 25%, риск развития шизотипических состояний в 8 раз выше среднепопуляционного [32, 33].

Вопросы реципрокности, неполной пенетрантности, наследования CNV в обсуждении индуцируемых клинических проявлений

Синдром микродупликации 22q11 является реципрокным по отношению к распространённой LCR22A-D микроделеции. Наиболее часто сообщаемыми особенностями являются умственная отсталость, трудности с обучением, синдром дефицита внимания и гиперактивности, замедление роста и лицевые аномалии. Присутствуют ВПС, нарушения зрения и слуха, судороги, микроцефалия, птоз и урогенитальные аномалии. Распространенность ВПС при дупликации 22q11 ниже по сравнению с делецией, а спектр ВПС шире. Предполагается, что сверхэкспрессия гена *TBX1* является ведущей причиной ВПС [34]. Описано 58 синдромов микроделений и микродупликаций затрагивающих один и тот же хромосомный регион (реципрокные синдромы). Для многих из них наблюдаются противоположные фенотипические эффекты, что логически понятно: при дупликации ожидается повышение продукции какого-то гена, при делеции — снижение [35]. Это явление можно продемонстрировать на примере хорошо клинически распознаваемого синдрома Вильямса, микроделеции 7q11.23 и реципрокного ему

синдрома микродупликации этого региона. В основе патогенеза лежит изменение дозы гена *ELN*, который активно экспрессируется в аорте и крупных периферических сосудах плода. Продуктом гена является эластин, структурный компонент стенки сосудов. В результате микроделеции развивается сужение восходящего отдела аорты, надклапанный стеноз аорты более чем в 73% случаев, а при синдроме микродупликации в 46% случаев наблюдается дилатация аорты [4].

Весьма существенной в понимании этиологии ВПС остается проблема неполной пенетрантности CNV. В среднем для CNV, отнесенных к патогенным, пенетрантность составляет всего около 26%. Например, для участка хромосомы 1q21, пенетрантность для микродупликаций составляет от 17 до 26%, а для микроделеции — 37%. В зависимости от характера копийности — делеции или дупликации — вариативно встречаются около 25 фенотипических признаков с разной степенью проявления и в разном сочетании, что касается и ВПС. Вариации региона 1q21 у людей с клиническими проявлениями встречаются в 3 раза чаще, чем в популяции [36]. В исследовании 948 пациентов с ТФ, 1488 пациентов с другими формами ВПС и 6760 здоровых контролей было обнаружено, что дупликация 1q21.1 была более распространенной в случаях ТФ, чем в контроле, ОШ 30,9, 95% ДИ 8,9-107,6, $p = 2,2 \times 10^{-7}$. Делеция, напротив, была более распространенной у пациентов с другими формами ВПС по сравнению с контрольной группой, ОШ 5,595% ДИ 1,4-22,0, $p = 0,04$. Были обнаружены три редких дупликации размером 100-200 кб в критической области хромосомного региона 1q21.1, которые охватывали один общий ген *GJA5* и чаще встречались в группе у пациентов с ТФ, чем в контрольной (ОШ 10,795% ДИ 1,8-64,3, $p = 0,01$). Эти данные показывают, что микроструктурные перестройки в хромосомном регионе 1q21.1 проявляют определенную степень фенотипической специфичности при ВПС и подтверждают участие *GJA5* в качестве гена, индуцирующего ТФ [37]. В обзоре, включающем 45744 человека, приводятся данные по происхождению выявленных 264 случаев вариации региона 1q21, для 38,7% обследованных оно было установлено: 79,3% были родительского происхождения, 20,7% — *de novo*. Микроструктурная перестройка может быть унаследована как патологический вариант от фенотипически нормальных родителей носителей CNV [38]. В другой работе изучалось наследование и фенотипические проявления микродупликации 1q21. У пробанда с тяжелым пороком сердца и другими аномалиями, обнаруженными с помощью ультразвукового исследования, пренатально была выявлена микродупликация 1q21: беременность была прервана. После этого было обследовано пять поколений семьи. В резуль-

тате в 3 поколениях было обнаружено наследование микродупликации 1q21. 5 из 7 sibсов 3 поколения были носителями микродупликации. Большая часть членов семьи имела специфические лицевые черты с их усилением в каждом поколении и неврологические заболевания [39]. Этот семейный случай демонстрирует неполную пенетрантность CNV с усилением проявлений в каждом последующем поколении. В настоящее время в исследованиях это явление не находит однозначного объяснения. Поэтому при изучении этиологии ВПС, индуцируемых CNV при встрече с такими комплексными феноменами, клинической вариабельности возникают значительные трудности в интерпретации патогенности.

Новые направления в понимании этиологии гетеротаксии, обусловленной CNV

Одно из быстро развивающихся направлений исследований в области этиологии ВПС посвящено роли CNV в развитии заболеваний с нарушением латерализации. К этой группе относят болезни с нарушением лево-правой асимметрии, например, гетеротаксию с изменением положения и структуры сердца и других органов. Первое крупное исследование 262 пациентов с гетеротаксией показало, что у 15% пациентов выявляются редкие CNV, что в два раза чаще, чем в контрольной группе. При анализе генного состава выявленных вариантов было обнаружено статистически значимое повышение представленности генов, ответственных за лево-правую асимметрию. 22 из 61 гена являлись ортологами у модельного организма лягушки *Xenopus*. В эксперименте было показано, что 7 генов экспрессируются в цилиарном лево-правом организаторе, функцию которого выполняют разные морфологические образования у *Xenopus*, рыбок *Danio*, мышей и цыплят. Цилиарный лево-правый организатор функционирует посредством цилий. Цилии (реснички, жгутики) представляют собой органеллы на поверхности клеток организатора, которые обеспечивают клеточную подвижность, движение жидкостей, сигнальную трансдукцию за счет химио- и механочувствительности. Их функции включают генерацию потока экстраэмбриональной жидкости, который создает условия для установления лево-правой асимметрии. Поток жидкости приводит к изменению ионного состава, увеличению внутриклеточной концентрации кальция и мобилизации молекул Shh (sonic hedgehog) и ретиноевой кислоты в левой части организатора. Факторы, влияющие на цилиогенез, приводят к нарушению лево-правой асимметрии. В этом же эксперименте у лягушек с нокаутом ортологов *NEK2*, *ROCK2*, *TGFBR2*, *GALNT11*, *NUP188* генов развивались тяжелые нарушения латерализации и возникало снижение экспрессии *PITX2*, молекулярного маркера формирования лево-правого паттерна [40]. Научный обзор,

посвященный роли гена *PITX2*, подробно раскрывает его участие в кардиогенезе и этиологии ВПС. Ген *PITX2*, кодирующий транскрипционный фактор, избирательно экспрессируется в левой части развивающегося сердца, и его асимметричная экспрессия сохраняется на всех ранних стадиях развития сердца, включая образование сердечной трубки, сердечной петли и образования камер. На экспрессию *PITX2* влияет ранее известный Nodal-сигнальный путь. Ген *NODAL* из суперсемейства трансформирующего фактора роста b имеет одностороннюю экспрессию и участвует в лево-правосторонней организации оси тела. По данным литературы, делеция *PITX2* у модельных организмов приводит к врожденным порокам сердца и нарушению латерализации. CNV и точечные мутации в гене *PITX2* связывают с развитием таких пороков сердца, как правопредсердный изомеризм, двойное отхождение сосудов от правого желудочка, транспозиция магистральных сосудов, ТФ, септальные дефекты, а также фибрилляция предсердий у пациентов во взрослом возрасте [41]. В другом исследовании были получены новые данные, подтверждающие участие CNV в развитии гетеротаксии. У 20 из 77 пациентов были обнаружены редкие CNV, которые включали ранее известные и 2 новых гена *BMP2*, *MNDA*, вовлеченные в Nodal-сигнальный путь [42]. В последнее время активно раскрывается патогенез гетеротаксии, обусловленной CNV. Обнаружены новые кандидатные гены: ген *PFKP*, влияющий на изменение ионного состава потока, формируемого цилиарным лево-правым организатором; гены *NUMB*, *PACRG*, *TCTN2*, *DANH10*, продемонстрировавшие влияние не только на экспрессию гена *PITX2*, но и на экспрессию гена *LEFTY2*, который ингибирует Nodal сигнал; ген *ZIC3*, связанный с X-сцепленной гетеротаксией, обусловленной его делецией. В современном представлении патогенные и потенциально патогенные CNV встречаются примерно у 20% пациентов с гетеротаксией и их воздействие реализуется, главным образом, через Nodal-опосредованный сигналинг [43-45].

В заключение хотелось бы отметить, что генный состав, размер, происхождение, положение и окружение CNV являются неотъемлемыми ее характеристиками в процессе анализа ее патогенности. Изучение CNV у пациентов с ВПС способствует расширению представлений о морфогенезе сердца, а также связанных с ним расстройств. Анализ накопленных данных о роли CNV в этиологии ВПС является значимым источником новых знаний, которые могут лежать в основе новых подходов в диагностике и лечении сердечно-сосудистой патологии.

Конфликт интересов: все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Литература/References

1. Kearney HM, Thorland EC, Brown KK, et al. American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants. *Genet Med*. 2011;13(7):680-5. doi:10.1097/GIM.0b013e3182217a3a.
2. Feuk L, Carson AR, Scherer SW. Structural variation in the human genome. *Nat Rev Genet*. 2006;7(2):85-97. doi:10.1038/nrg1767.
3. Zarrei M, MacDonald JR, Merico D, Scherer SW. A copy number variation map of the human genome. *Nat Rev Genet*. 2015;16(3):172-83. doi:10.1038/nrg3871.
4. Fahed AC, Gelb BD, Seidman JG, Seidman CE. Genetics of congenital heart disease: the glass half empty. *Circ Res*. 2013;112(4):707-20. doi:10.1161/CIRCRESAHA.112.300853.
5. Andersen TA, Troelsen K de LL, Larsen LA. Of mice and men: molecular genetics of congenital heart disease. *Cell Mol Life Sci*. 2014;71(8):1327-52. doi:10.1007/s00018-013-1430-1.
6. 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.
7. Grinberg KN, Kukhareno VI. Realization of the phenotypic effect of chromosomal aberrations in humans. *Vavilovskii zhurnal genetiki i selektsii*. 2013;17(1):32-9. (In Russ.) Гринберг КН, Кухаренко ВИ. Реализация фенотипического эффекта хромосомных аномалий у человека. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2013;17(1):32-9.
8. Thienpont B, Mertens L, de Ravel T, et al. Submicroscopic chromosomal imbalances detected by array-CGH are a frequent cause of congenital heart defects in selected patients. *Eur Heart J*. 2007;28(22):2778-84. doi:10.1093/eurheartj/ehl560.
9. Lalani SR, Shaw C, Wang X, et al. Rare DNA copy number variants in cardiovascular malformations with extracardiac abnormalities. *Eur J Hum Genet*. 2013;21(2):173-81. doi:10.1038/ejhg.2012.155.
10. Breckpot J, Thienpont B, Peeters H, et al. Array comparative genomic hybridization as a diagnostic tool for syndromic heart defects. *J Pediatr*. 2010;156(5):810-7, 817 e1-817 e4. doi:10.1016/j.jpeds.2009.11.049.
11. Goldmuntz E, Paluru P, Giessler J, et al. Microdeletions and Microduplications in Patients with Congenital Heart Disease and Multiple Congenital Anomalies. *Congenit Heart Dis*. 2011;6(6):592-602. doi:10.1111/j.1747-0803.2011.00582.x.
12. Sanchez-Castro M, Eldjouzi H, Charpentier E, et al. Search for Rare Copy-Number Variants in Congenital Heart Defects Identifies Novel Candidate Genes and a Potential Role for FOXC1 in Patients With Coarctation of the Aorta. *CLINICAL PERSPECTIVE*. *Circ Cardiovasc Genet*. 2016;9(1):86-94. doi:10.1161/CIRCGENETICS.115.001213.
13. An Y, Duan W, Huang G, et al. Genome-wide copy number variant analysis for congenital ventricular septal defects in Chinese Han population. *BMC Med Genomics*. 2016;9(1):2. doi:10.1186/s12920-015-0163-4.
14. Carey AS, Liang L, Edwards J, et al. Effect of copy number variants on outcomes for infants with single ventricle heart defects. *Circ Cardiovasc Genet*. 2013;6(5):444-51. doi:10.1161/CIRCGENETICS.113.000189.
15. Tomita-Mitchell A, Mahnke DK, Struble CA, et al. Human gene copy number spectra analysis in congenital heart malformations. *Physiol Genomics*. 2012;44(9):518-41. doi:10.1152/physiolgenomics.00013.2012.
16. 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.
17. Warburton D, Ronemus M, Kline J, et al. The contribution of de novo and rare inherited copy number changes to congenital heart disease in an unselected sample of children with conotruncal defects or hypoplastic left heart disease. *Hum Genet*. 2014;133(1):11-27. doi:10.1007/s00439-013-1353-9.
18. Derwińska K, Bartnik M, Wiśniowiecka-Kowalik B, et al. Assessment of the role of copy-number variants in 150 patients with congenital heart defects. *Med Wieku Rozwoj*. 2012;16(3):175-82.
19. Jansen FAR, Blumenfeld YJ, Fisher A, et al. Array comparative genomic hybridization and fetal congenital heart defects: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2015;45(1):27-35. doi:10.1002/uog.14695.
20. Azamian M, Lalani SR. Cytogenomic Aberrations in Congenital Cardiovascular Malformations. *Mol Syndromol*. 2016;7(2):51-61. doi:10.1159/000445788.
21. Burnside RD. 22q11.21 Deletion Syndromes: A Review of Proximal, Central, and Distal Deletions and Their Associated Features. *Cytogenet Genome Res*. 2015;146(2):89-99. doi:10.1159/000438708.
22. Gao S, Li X, Amendt BA. Understanding the role of Tbx1 as a candidate gene for 22q11.2 deletion syndrome. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2013;13(6):613-21. doi:10.1007/s11882-013-0384-6.
23. Papangeli I, Scambler P. The 22q11 deletion: DiGeorge and velocardiofacial syndromes and the role of TBX1. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol*. 2013;2(3):393-403. doi:10.1002/wdev.75.
24. Zhao J, Mommersteeg MTM. Slit-Robo signalling in heart development. *Cardiovasc Res*. 2018;114(6):794. doi:10.1093/cvr/cvy061.
25. Racedo SE, McDonald-McGinn DM, Chung JH, et al. Mouse and human CRKL is dosage sensitive for cardiac outflow tract formation. *Am J Hum Genet*. 2015;96(2):235-44. doi:10.1016/j.ajhg.2014.12.025.
26. Duell EJ, Lujan-Barroso L, Livina C, et al. Vitamin C transporter gene (SLC23A1 and SLC23A2) polymorphisms, plasma vitamin C levels, and gastric cancer risk in the EPIC cohort. *Genes Nutr*. 2013;8(6):549-560. doi:10.1007/s12263-013-0346-6.
27. Peyvandi S, Lupo PJ, Garbarini J, et al. 22q11.2 deletions in patients with conotruncal defects: Data from 1,610 consecutive cases. *Pediatr Cardiol*. 2013;34(7):1687-94. doi:10.1007/s00246-013-0694-4.
28. Poirsier C, Besseau-Ayasse J, Schluth-Bolard C, et al. A French multicenter study of over 700 patients with 22q11 deletions diagnosed using FISH or aCGH. *Eur J Hum Genet*. 2016;24(6):844-51. doi:10.1038/ejhg.2015.219.
29. Repetto GM, Guzmán ML, Delgado I, et al. Case fatality rate and associated factors in patients with 22q11 microdeletion syndrome: a retrospective cohort study. *BMJ Open*. 2014;4(11):e005041. doi:10.1136/bmjopen-2014-005041.
30. Goldmuntz E. The 22q11.2 Deletion Syndrome. In: *Congenital Heart Disease*. S. Karger AG; 2015:100-11. doi:10.1159/000375208.
31. Brenner MK, Clarke S, Mahnke DK, et al. Effect of 22q11.2 deletion on bleeding and transfusion utilization in children with congenital heart disease undergoing cardiac surgery. *Pediatr Res*. 2016;79(2):318-24. doi:10.1038/pr.2015.216.
32. Vangkilde A, Olsen L, Hoeffding LK, et al. Schizophrenia Spectrum Disorders in a Danish 22q11.2 Deletion Syndrome Cohort Compared to the Total Danish Population—A Nationwide Register Study. *Schizophr Bull*. 2016;42(3):824-31. doi:10.1093/schbul/sbv195.
33. Van L, Boot E, Bassett AS. Update on the 22q11.2 deletion syndrome and its relevance to schizophrenia. *Curr Opin Psychiatry*. 2017;1. doi:10.1097/YCO.0000000000000324.
34. Digilio MC, Marino B. What Is New in Genetics of Congenital Heart Defects? *Front Pediatr*. 2016;4:120. doi:10.3389/fped.2016.00120.
35. Weise A, Mrasek K, Klein E, et al. Microdeletion and microduplication syndromes. *J Histochem Cytochem*. 2012;60(5):346-58. doi:10.1369/0022155412440001.
36. Rosenfeld JA, Coe BP, Eichler EE, Cuckle H, Shaffer LG. Estimates of penetrance for recurrent pathogenic copy-number variations. *Genet Med*. 2013;15(6):478-81. doi:10.1038/gim.2012.164.
37. Soemedi R, Topf A, Wilson IJ, et al. Phenotype-specific effect of chromosome 1q21.1 rearrangements and GJA5 duplications in 2436 congenital heart disease patients and 6760 controls. *Hum Mol Genet*. 2012;21(7):1513-20. doi:10.1093/hmg/ddr589.
38. Rosenfeld JA, Traylor RN, Schaefer GB, et al. Proximal microdeletions and microduplications of 1q21.1 contribute to variable abnormal phenotypes. *Eur J Hum Genet*. 2012;20(7):754-61. doi:10.1038/ejhg.2012.6.
39. Verhagen JMA, de Leeuw N, Papatsonis DNM, Grijseels EWM, de Krijger RR, Wessels MW. Phenotypic Variability Associated with a Large Recurrent 1q21.1 Microduplication in a Three-Generation Family. *Mol Syndromol*. 2015;6(2):71-6. doi:10.1159/000431274.
40. Fakhro KA, Choi M, Ware SM, et al. Rare copy number variations in congenital heart disease patients identify unique genes in left-right patterning. doi:10.1073/pnas.1019645108.
41. Franco D, Sedmera D, Lozano-Velasco E. Multiple Roles of Pitx2 in Cardiac Development and Disease. *J Cardiovasc Dev Dis*. 2017;4(4). doi:10.3390/jcdd4040016.
42. Rigler SL, Kay DM, Sicko RJ, et al. Novel copy-number variants in a population-based investigation of classic heterotaxy. *Genet Med*. 2015;17(5):348-57. doi:10.1038/gim.2014.112.
43. Hagen EM, Sicko RJ, Kay DM, et al. Copy-number variant analysis of classic heterotaxy highlights the importance of body patterning pathways. *Hum Genet*. 2016;135(12):1355-64. doi:10.1007/s00439-016-1727-x.
44. Cowan JR, Tariq M, Shaw C, et al. Copy number variation as a genetic basis for heterotaxy and heterotaxy-spectrum congenital heart defects. *Philos Trans R Soc B Biol Sci*. 2016;371(1710):20150406. doi:10.1098/rstb.2015.0406.
45. Liu C, Cao R, Xu Y, et al. Rare copy number variants analysis identifies novel candidate genes in heterotaxy syndrome patients with congenital heart defects. *Genome Med*. 2018;10(1):40. doi:10.1186/s13073-018-0549-y.