

Genetika u razumijevanju sindroma hipoplastičnog lijevog srca

Ivan Malčić, Andrea Dasović-Buljević, Josipa Grgat*

Prikazuju se metode istraživanja kompleksne heterogeneičnosti na primjeru razjašnjenja etiopatogenetske osnove sindroma hipoplastičnog lijevog srca. Istražuje se također i zajednička genetička osnova grješaka izlaznog trakta lijeve klijetke, pri čemu se uz sindrom hipoplastičnog lijevog srca nalazi bikuspidna aortna valvula, stenoza aortne valvule, koarktacija aorte, dilatacija ascedentne aorte te sindrom Shone. Dokazi o međusobnoj povezanosti ovih grješaka sa zajedničkim etiopatogenetskim izvorom prikazuju se kroz literaturu na osnovi epidemioloških spoznaja, analize pojavnosti spomenutih grješaka u obiteljima ili manjim skupinama te na osnovi obiteljskog stabla. Prikazuju se suvremene metode ocjene poligenskih utjecaja prema LOD biljevu s razinom značajnosti koja se označava kao suspektna ili signifikantna. Hipoplastično lijevo srce povezano je na kromosomskim regijama 10q22 i 6q23 s maksimalnim logaritmom povezanosti 3.1 i 3.2 ($p < 0001$). U skupini bolesnika sa sindromom hipoplastičnog lijevog srca i bikuspidnom aortnom valvulom lokus 14q23 pokazao je ekstremno visok stupanj povezanosti (LOD 4.1) ovih dviju grješaka. Opisuje se najnovija studija Hinton i sur. (2008. i 2009.), MacBridgea (2009. i 2010.) te Garga i sur. (Nature 2011.) s opisom metoda, tabličnim prikazima i višespojnim LOD biljezima uz odgovarajuću raspravu. Na kraju se iznose vlastita iskustva na studiji o bikuspidnoj aortnoj valvuli i povezanosti ove lezije s drugim bolestima izlaznog trakta lijeve klijetke na 100 bolesnika u retrospektivnoj studiji od 10 godina.

Ključne riječi: genetička heterogenost; sindrom hipoplastičnog lijevog srca; bikuspidna aortna valvula

UVOD

Brojne spoznaje upućuju na to da su genetička načela znatno važnija za nastanak prirođenih srčanih grješaka (PSG) od okolišnih čimbenika (1). U razmatranju ovih dvojba i traženju što točnijeg odgovora na pitanje nasljednosti vrijedno je zapaziti nekoliko znakovitih prisupa u pedijatrijskoj kardiologiji koji su približili razumijevanje nastanka PSG-a. Etiopatogenetska teorija prema Clarku, zasnovana uglavnom na krilima dinamičkog razvoja genetike, iznosi tezu da je ekstremno velik broj fenotipskih ekspresija PSG-a uzrokovan relativno malim brojem etiopatogenetskih čimbenika (2). Po toj su, dakle, etiopatogenetskoj osnovi, svi PSG-i razvrstani u 6 skupina. Ova klasifikacija i segmentalna analiza srca (3) udarili su temelje suvremenoj znanosti u pedijatrijskoj kardiologiji i omogućile pedijatrijskim kardiolozima egzaktnost u izražavanju kao i univerzalnost u terminologiji. Fantastične spoznaje iz embriologije srca, zahvaljujući velikim dijelom molekularnoj genetici (4), te fetalna kardiologija, epidemiološka istraživanja i promatranje evolucije PSG-a

otkrili su povezanost nekih entiteta i tako uvjetovali daljnji intelektualni, tehnološki i spoznajni napredak u razumijevanju nastanka velikog broja srčanih bolesti u djece, kako PSG-a tako i drugih (aritmijske, kardiomiopatije). Nedvosmislena povezanost aneuploidija i delecijjskih sindroma s prirođenim srčanim grješkama bila je relativno laka, iako i ovdje postoji mozaik nepoznanica. Zna se također da su monogenske bolesti u pedijatrijskoj kardiologiji rijetke (5). Najveći problem danas su razumijevanje i studiranje kompleksne heterogenetičnosti, odnosno utjecaja više različitih gena na pojavu jedne skupine prirođenih srčanih grješaka. Po toj se osnovi opet približavamo Clarkovom načinu

* Klinika za pedijatriju, Zavod za pedijatrijsku kardiologiju, Klinički bolnički centar Zagreb, Medicinski fakultet Zagreb, Referentni centar za pedijatrijsku kardiologiju RH

Adresa za dopisivanje:

Prof. dr. sc. Ivan Malčić, Klinika za pedijatriju, Zavod za pedijatrijsku kardiologiju, Klinički bolnički centar Zagreb, Kišpatićeva 12, 10000 Zagreb, E-mail: ivan.malcic1@gmail.com

Primljeno/Received: 16. 10. 2013., Prihvaćeno/Accepted: 6. 11. 2013.

razmišljanja (etiopatogeneza-ekspresija). Ovaj se način razmišljanja danas najbolje može prikazati u studiranju odnosa grješaka koje se smatraju opstrukcijskim lezijama lijevog srca (LVOT – engl. *left ventricular outflow tract obstruction*): Sindrom hipoplastičnog lijevog srca (HLHS – *hypoplastic left heart syndrome*), aortna valvularna stenoza (AOV- *aortic valve stenosis*, SVAS- *supravalvular aortic stenosis*), bikuspidna aortna valvula (BAV – *bicuspid aortic valve*) i koarktacija aorte (CoA - *coarctation of aorta*). Za kliničko razumijevanje i slikovni prikaz svih grješaka koje pripadaju u LVOT opstrukcije, temeljno značenje ima ehokardiografija kao stožerna metoda u kliničkoj praksi pedijatrijskog kardiologa. Stoga je i u istraživanju heterogeneičnosti i međusobne povezanosti ovih grješaka ehokardiografija u odabiru bolesnika u studijama nezaobilazna metoda.

Opstrukcijske lezije izlaznog trakta lijeve klijetke

Iako se u rutinskom radu pedijatrijskog kardiologa svaki PSG zasebno dijagnosticira i liječi, postoje dokazi da su četiri srčane lezije usko povezane genetičkim podrijetlom. To su spomenuti BAV-i, AVS-i, CoA-i i HLHS-i. Prema *Baltimore-Washington-Infant study* rizik da će roditelji prenijeti jednu od ovih grješaka na dijete već u idućem koljenu je 6-8% (6). Prema drugim podacima iz literature (Hinton, 2007.) (7) rizik za pojavu sindroma hipoplastičnog lijevog srca kod bliznaca roditelja koji imaju AVS, BAV ili CoA je 8%, a vjerojatnost da će imati neku drugu srčanu grješku je 22%. Ista skupina autora je dokazala da je sindrom hipoplastičnog lijevog srca genetički uvjetovan, a BAV usko povezan s pojavom HLHS-a (Hinton i sur. 2009.) (8). Izrada obiteljskog stabla u 10 obitelji kod kojih su se pojavljivale srčane grješke što pripadaju opstrukcijskim lezijama lijevog srca pokazala je jasnu međusobnu povezanost sindroma hipoplastičnog lijevog srca, abnormalnosti u izgledu i funkciji aortne valvule (najčešće bikuspidna aortna valvula), aortopatije (dilatacija uzlazne aorte) i koarktacije aorte.

Etiologija HLHS-a svojedobno je pripisivana nasljednoj sklonosti prematurnog zatvaranja foramena ovale, nakon čega slijedi hipoplazija lijevih srčanih šupljina zbog smanjenog protoka. Ipak, na osnovi tvrdnje da je HLHS posljedica malformacije (aplazije-displazije) aortne valvule, u literaturi slijede tvrdnje o teškoj stenozi aortne valvule *in-utero* (9). K tome HLHS je povezan s učestalim citogenetičkim abnormalnostima kod Turnerovog i Jacobsenovog sindroma, a nađena je i heterozigotna mutacija na *NKX2.5* i *GJA1* u malom broju bolesnika (10). Neke su studije sugerirale primarnu genetičku osnovu HLHS-a kao autosomno recesivno nasljeđivanje (11). No prema najnovijim istraživanjima HLHS i pridružene kompleksne anomalije posljedica su široke genetičke osnove s kompleksnim načinom nasljeđivanja.

Ove su anomalije većinom nesindromske, dakle izolirane, s dokazanim multifaktorskim nasljeđivanjem u 70-80% slučajeva, a dolaze monogenski ili u sklopu kromosomskih anomalija. Monogenske su anomalije uzrokovane mutacijom samo jednog gena, a najčešće se spominje *NOTCH1* (vidjeti poslije), a kromosomske anomalije opisuju se u okviru genomske poremećaja s povećanjem ili gubitkom kromosomske mase (aneuploidije, delecije). Rijetko dolaze u okviru sindroma, i to kao kompleksna (nekardijalna) fenotipija, monogenski (CHARGE sindrom – *CHD7* i Noonan sindrom – *PTPN11*), numeričke kromosomske anomalije (Turnerov sindrom) i kromosomske anomalije s delecijom/duplikacijom (Williams-Beuren). Kod velikog broja ovih entiteta moguća su različita genetička testiranja. Kod sindroma Noonan na raspolaganju je uz *PTPN11* (>50%) još i *KRAS* i *SOS1* (12), kod Turnerovog sindroma kao i kod Jacobsenovog sindroma delecija kromosoma 11q uz koju je opisan i HLHS. Opisuju se i obiteljska opterećenost anomalijama koje pripadaju LVOT-u, i to kao nesindromska (različite sekvence *NOTCH1*) ili nasljedni oblici koji se na osnovi obiteljskog stabla definiraju prema načinu nasljeđivanja kao multifaktorska, autosomno dominantna s ograničenom penetracijom ili autosomno recesivna.

Supravalvularna aortna stenoza dolazi u okviru Williams-Beurenova sindroma (WB) i kao izolirana supravalvularna stenoza. Kad je riječ o WB sindromu poštuju se već dobro poznate spoznaje; način nasljeđivanja je autosomno dominantan, opisane su *de novo* mutacije, a postoji i genetičko testiranje koje je klinički primjenjivo – mikrodelecija na 7q11 (gen za elastin) dokazuje se FISH metodom u 95% slučajeva (13). Ipak, opisana je i nesindromska supravalvularna aortna stenoza, kao osobit entitet WB sindroma, kod kojeg nedostaju promjene na licu i nema mentalne retardacije, ali postoji mutacija gena za elastin (ekstracelularni matriks protein). U vlastitim smo istraživanjima opisali braću s kardijalnom fenotipijom WB sindroma (izolirana supravalvularna aortna stenoza s perifernom pulmonalnom stenozom), ali bez mentalne retardacije i drugih fenotipskih somatskih obilježja. Uz deleciju na tipičnom mjestu, FISH metodom utvrđena je translokacija sa 7. na 14. kromosom (14).

Prema najnovijim stavovima iz recentne literature klinički genetičar nalazi kod LVOT lezija 78% izoliranih srčanih bolesti, a tek 22% nekardijalnih sindroma. Nekardijalni sindromi prate se s genetičkog motrišta na poseban način (dismorfologija, *umbrella diagnosis*, daljnje genetičko testiranje), a kod izoliranih kardijalnih LVOT lezija nalazimo već u sljedećem koljenu jednu od ljevostranih srčanih lezija kod 20% potomaka u obitelji. Stoga je svim članovima tih obitelji nužno uz genetički nadzor provesti kardiološki skrining (ehokardiografija za sve članove obitelji) (15).

Bikuspidna aortna valvula je na svoj način „zapuštena“ u pedijatrijskoj kardiologiji, a u odrasloj dobi najčešća prirođena

srčana grješka s prevalencijom oko 1% (16). Ona je nedvosmisleno entitet koji nije dovoljno proučavan (poglavito u dječjoj dobi), jer su progresivne promjene na istoj valvuli razlogom za najveću učestalost kardiokirurških zahvata na aortnoj valvuli u Americi, gdje se tijekom jedne godine na aortnoj valvuli izvede oko 100 000 operacijskih zahvata (17). Glavnim se problemom kod BAV-a smatra moguća progresivna dilatacija uzlazne aorte do razmjera aneurizme, s konzekutivnom konačnom disekcijom. Iako su komplikacije u dječjoj dobi rijetke, još nije jasno kada treba započeti probir, jer nije poznat rizik u dječjoj dobi. Naša istraživanja pokazuju da bikuspidna aortna valvula ima veće značenje nego što smo to prije pretpostavljali (18). Prema AHA smjernicama za sve obitelji s kritičnom aortnom stenozom i drugim komplikacijama koje su kombinirane s BAV-om traži se fetalni kardiološki probir (fetalna ehokardiografija) zbog dokazane povezanosti BAV-a i nastanka HLHS-a. Dosad se zna da je BAV nasljedna bolest (19) s genetičkom heterogenosti (20) i s izrazito kompleksnim načinom nasljeđivanja. Na osnovi nekih studija pokazano je da postoji jasan genetički odnos između BAV-a i HLHS-a (21).

Sindrom hipoplastičnog lijevog srca u posljednje je vrijeme proučavan sa stupnjem povezanosti prema BAV-u (*Hinton i sur.*) (7, 8). Cilj je te studije bio naći lokuse za razvoj HLHS-a i definirati genetički odnos HLHS-a prema BAV-u. Sluteći kompleksan način nasljeđivanja HLHS-a i BAV-a, obavljena je neparametrijska obiteljska analiza genoma. Hipoplastično lijevo srce povezano je s kromosomskim regijama 10q22 i 6q23 s maksimalnim logaritmom povezanosti (LOD score) 3.2 odnosno 3.1, što upućuje na genetičku heterogenost HLHS-a.

(LOD score = *logarithm of odds*), označava procjenu stupnja povezanosti - *adjustment of linkage strength* - u ovom slučaju poligenskog utjecaja na pojavu LVOTO grješaka, konkretno HLHS-a i BAV-a. Svaka vrijednost > 2 sugerira povezanost, svaka vrijednost > 3 dokazuje značajnu povezanost. Gledajući od razine nulte distribucije, svaka vrijednost >3 označava razinu $p < 0,05$ -0,001, što je sa statističkog motrišta uvijek značajno).

Genetičke studije o sindromu hipoplastičnog lijevog srca i moguće povezanosti s bikuspidnom aortnom valvulom (Cincinnati, Ohio)

U recentnoj studiji *Hinton i sur.* (7, 8) služili su se gore opisanim spoznajama tako da su izabrani probandi HLHS i BAV na način da su u prvoj skupini ispitivane veze samo HLHS-a i BAV-a kao izolirane grješke, a u drugoj su uz osnovne dijagnoze uključeni i drugi (pridruženi) PSG-i, tako da su isključeni bolesnici s poznatim genetičkim sindromima kao što su Turnerov i Jacobsenov. Genotipizacija je rađena nakon ekstrakcije DNA, tako da su primijenjene metode genskog

TABLICA 1. Raspodjela pridruženih kardiovaskularnih anomalija u 37 obitelji s HLHS-om pokazuje visoku učestalost bolesti aortne valvule i bikuspidne aortne valvule

	Muški	Ženski	Ukupno
HLHS	25	12	37
Valvularne bolesti	19	6	25
Aortna valvula	18	6	24
BAV	11	2	13
Druge anomalije	7	4	11
Mitralna valvula	1	0	1
Valvularna kirurgija	2	1	3
Aorta	1	1	2
Mitralna	1	3	3
Aortna dilatacija	0	3	3
Druge CVM	8	6	14

BAV–bikuspidna ao. valvula, CVM–kardiovaskularne malformacije

TABLICA 2. Raspodjela pojave drugih srčanih bolesti u 102 obitelji s bikuspidnom aortnom valvulom pokazuje visoku učestalost obiteljskog pojavljivanja aortnih valvularnih bolesti, uključujući i česte kardiokirurške korekcije na aortnoj valvuli kao i učestalu pojavu dilatacije uzlazne aorte

	Ženski	Muški	Ukupno
Valvularne bolesti	138	68	206
Aortna valvula	130	58	188
BAV	111	45	156
Druge anomalije	19	13	32
Mitralna valvula	8	10	18
Valvularna kirurgija	28	11	39
Aortna	27	8	35
Mitralna	1	3	4
Dil. aortnog korijena	21	6	27
HLHS	3	0	3
Druge CVM	33	17	50

BAV–bikuspidna ao. valvula, CVM–kardiovaskularne malformacije

mapiranja (*ABI Linkage Mapping set version 2.5 MD10*) i izračunavanja frekvencije alela prema prisutnosti genotipa (*SOLAR version 4.1. – Sequential Oligogenic Linkage Analysis Routines*). Analiza povezanosti izvedena je primjenom LOD biljega (vidjeti gornje razjašnjenje), tako da je svaka vrijednost >3 smatrana ekvivalentom statističke značajnosti $p < 0,001$. U tablici 1 prikazane su 33 obitelji s HLHS-om i pridruženost drugih srčanih bolesti. Vidi se visok stupanj pridruženosti stenoze aortne valvule, bikuspidne aortne valvule i drugih abnormalnosti aorte (tablica 2).

Ova jednostavna zapažanja iz kliničke prakse istražena su u spomenutoj studiji primjenom suvremenih metoda sekvencioniranja i mapiranja te prikazom u odnosu na LOD score.

Analiza pokazuje da LOD za kromosome 6 i 10 iznosi 3.2 što znači statistički značajnu povezanost, a sugestibilan je i nalaz za kromosome 7, 16 i 20 (22).

U 10 obitelji je učinjeno obiteljsko stablo na osnovi kojeg je moguće vidjeti srodnost povezanosti kromosoma 6 i 10 u pojavi anomalija koje mahom pripadaju opstrukcijskim lezijama izlaznog trakta lijeve klijetke; HLHS, abnormalna aortna valvula, dilatacija uzlazne aorte, koarktacija i ostale kardiovaskularne anomalije (CVM). Među te anomalije najčešće se upisuju VSD (vjerojatno perimembranozni – nije specficirano) i ASD (vjerojatno ostium secundum – nije specficirano). Napominjemo da sve spomenute lezije u etiopatogenetskoj osnovi prema Clarku pripadaju skupini poremećaja protoka (2) (2, 8, 22).

U ovoj studiji pronađeni su i lokusi na kromosomima 6q23 i 10q22, odnosno intervali koji uključuju lokuse sa statistički značajnim utjecajem (ODS od 2-3.2). Kad je dodatnom analizom povezanosti 10q22 i 6q23 (geni za HLHS) proučavana povezanost s 14q23, nađen je LOD biljeg čak 4.1, na osnovi čega se može dodatno potvrditi teoretska poveznica između valvulopatije lijevog srca (BAV) i pojave HLHS-a.

Ista skupina autora se prije ove složene studije služila kliničkom epidemiološkom studijom na osnovi koje su doneseni brojni zaključci s visokim stupnjem vjerojatnosti (7, 8). Svi bolesnici s HLHS-om imaju displaziju ili hipoplaziju aortne valvule, 2. Čak 94% ovih bolesnika ima mitralnu, 56% trikuspidnu i 11% pulmonalnu displaziju, 3. u 55% obitelji zabilježen je više od jednog bolesnika s HLHS-om, 36% ih je imalo neku drugu kardiovaskularnu anomaliju, a 11% među njima BAV. Nasljedni element u izoliranom HLHS-u je u 99% slučajeva prisutan, a u kombinaciji s drugim srčanim grješkama u 77%. Zaključno se navodi da ukupna zapažanja govore o hereditetu kod HLHS-a na širokoj osnovi. Učestala pojava displazije srčanih zalistaka u probanda s HLHS-om i visoka učestalost nalaza BAV-a u ovim obiteljima, sugeriraju zaključak da je HLHS teški oblik valvularne anomalije.

Genetička analiza opstrukcijskih lezija izlaznog trakta lijeve klijetke – parametrijska analiza povezanosti (McBridge i sur.)

U ovoj se analizi traži genetička povezanost kod LVOT lezija (AVS, CoA i HLHS), ali su uključeni i bolesnici s IAA -om, BAV-om te bolesnici sa sindromom Shone. Izostavljeni su bolesnici s Turnerovim ili Jacobsonovim sindromom (23). Stožerna klinička metoda bila je ehokardiografija. Genomska analiza obavljena je u 289-ero bolesnika, a ishod je ocijenjen prema LOD scoru ili NPLS-u (*non-parametric linkage score*). I jedan i drugi se odnose tako da >1,9 smatra sugestivnim, a >3,0 značajnim dokazom utjecaja određenih genskih lokusa iz različitih gena na pojavu ispitivanih bolesti (*Parametric*

linkage analysis). Rezultati neparametrijske analize povezanosti LVOT lezija, a izraženi kao NPLS-i, odnosno LOD, pokazuju jasnu povezanost ovih bolesti s kromosomima 2, 10 i 16, uključujući i poznate lokuse na tim kromosomima. Zaključno se može reći da je za nastanak AVS-a i CoA-a sugestivan utjecaj 2p23, 10q21 i 16p12, a osobit utjecaj na razvoj HLHS-a ima 2p15. Preklapanje povezanosti vrškova značajnosti razvidno upućuje na zajedničku genetičku etiološku osnovu (23).

NOCH 1 – monogenska mutacija na molekularnoj razini

Prethodno smo opisali istraživanja prema kojima je poligenetska heterogeničnost odgovorna za nastanak LVOT lezija. Iako je dokazan utjecaj spomenutih gena, stvarna etiologija bolesnih stanja vjerojatno se nalazi u poremećaju kardiogeneze utjecajem na razvojni endotel, ali točna etiologija srčanih bolesti nije još razjašnjena. Važan čimbenik otkriven je u genu *NOTCH1* koji je odgovoran za kodiranje receptora u signalnom putu važnom za razvoj srca, a fokusiran je na spektar grješaka koje pripadaju LVOT-u. Jedna od tih specifičnih mutacija smanjuje djelovanje receptorskog liganda (*JAGGED1*), čiju signalizaciju potiče *NOTCH1*. Čini se da ta činjenica remeti normalne procese u Golgijevom aparatu, pa je mutacija u *NOTCH1* monogenetski čimbenik koji utječe na razvoj LVOT lezija. BAV se ovdje spominje kao *forme fruste* za brojne LVOT lezije. Dakle, spominje se kao minimalna ekspresija neke nepotpuno razvijene bolesti. Moguće je da je BAV najblaži oblik jedne zajedničke genetičke osnove za sve grješke izlaznog trakta lijeve klijetke, a koji ovdje nisu izazvani samo mutacijom jednoga gena, već imaju genetičku heterogenost različitog intenziteta (vjerojatno i različitog stupnja ekspresije), u čemu sudjeluje i mutacija gena *NOTCH1*, koja dovodi do ranih poremećaja u kardiogenetskoj sintezi poremećajem *JAGGED* liganda. To dokazuje da u etiopatogenezi nije dovoljno naslućivati samo genetičku heterogenost, već i utjecaj mehanizama na molekularnoj razini (24).

Na osnovi gornjeg prikaza McBride je otkrio 8 novih varijanti krivog smisla kod *Notch1* bolesnika s LVOT lezijama. Velike sekvence ovog gena su očuvane. Ova mutacija nalazi se u 8% ispitanika, ali se sekvence nalaze i u kontrolnoj skupini kao i kod neaficiranih bolesnika. Tome valja dodati da su *Garg i sur.* opisali kalcifikaciju bikuspidne aortne valvule u dvije obitelji kod kojih su našli istovjetnu mutaciju na genu *Notch 1* (25).

Vlastita zapažanja

Zahvaljujući vlastitoj studiji o bikuspidnoj aortnoj valvuli možemo i na osnovi vlastitih kliničko-epidemioloških za-

pažanja iznjedrili neke zaključke. Promatrali smo skupinu od 100 djece u koje je dijagnosticiran „sindrom“ BAV. Pojam sindrom nametnuo se zbog činjenice da je uz BAV kod naših bolesnika vezan cijeli spektar LVOT lezija i taj se pojam još ne rabi u službenoj literaturi. Možda je njegova pretencioznost to više upitna zbog činjenice da je BAV u dječjoj dobi potpuno nedefiniran s epidemiološko-populacijske razine, ali i s razine kliničko-epidemiološke ekspertize (ishod bolesti) (26).

Neke činjenice iz studija o bikuspidnoj aortnoj valvuli iz odrasle dobi potaknule su nas da provjerimo naš odnos prema tom fenomenu u dječjoj dobi. Prema literaturi iz odrasle dobi nalazimo ekspresiju hemodinamskih reperkusija iz ove grješke koju smo nazvali „*forme fruste*“ na razini same valvule uz stenozu i/ili insuficijenciju, subvalvularno (subvalvularna membrana), na razini istmusa aorte (koarktacija) kao i zbog dilatacije uzlazne aorte. Osobito je zanimljivo da se i nakon saniranja valvularnih promjena dilatacija uzlazne aorte nastavlja, jamačno zbog prirodnih histoloških promjena na istoj (27), a o čemu se ne govori dovoljno u prethodno prikazanim genetičkim studijama. U tkivu same uzlazne aorte nalaze se celularne abnormalnosti, nedostatak mikrofibrilnih elemenata u muskuaturi stijenke uzlazne aorte, fragmentacija elastičnih vlakana i akumulacija bazofilnih supstancija (28). Sve je to jamačno uzrokom progresivne dilatacije koja konačno u dijelu bolesnika završava disekcijom ili se prije toga riješi kardiokirurški. Nađeno je također da 50% bolesnika s koarktacijom aorte ima bikuspidnu aortnu valvulu kao posljedicu sraštenja desnog i lijevog koronarnog kuspisa, a to sugerira visok stupanj genetičke povezanosti.

Cilj naše studije bio je utvrditi važnost nalaza bikuspidne aortne valvule već u dječjoj dobi, s hipotezom da je BAV samo morfološki jasna promjena koja implicira vjerojatnu pojavu drugih promjena progresivnog tijeka na cijelom aortnom luku s različitim stupnjem ekspresije sve do hemodinamskih reperkusija. Očekivani znanstveni doprinos bio bi dokaz o potrebi za većom pozornošću nad „sindromom BAV“ radi moguće terapije i prevencije nastalih i potencijalnih (očekivanih) patoloških promjena. Ova se hipoteza može potkrijepiti i s gore opisanim istraživanjima koja svjedoče da je BAV kao „*forme fruste*“ stalno u sredini interesa svih lezija koje znače LVOT opstrukciju.

Od 100 promatranih bolesnika (odabranih metodom slučajnog odabira u 10-godišnjem razdoblju), njih 55% je imalo koarktaciju aorte, 28% stenozu i/ili insuficijenciju aortne valvule, 20% dilataciju uzlazne aorte, 7% sindrom Schone, 17% perimembranozni VSD, 11% subaortnu stenozu, a mali postotak nalazi se u sklopu aneuploidijskih (Turner) ili delecijjskih (WB) sindroma. Uočavamo da su sve grješke na-

brojene ovdje iz skupine grješaka s poremećajem protoka prema Clarkovoj etiopatogenetskoj teoriji (26).

S druge strane, prisjetimo li se embriologije i spoznaje o tome da moguće zahvaćene strukture LVOT lezija imaju istovjetnu embriološku osnovu, logično je da na njihovu kliničku fenotipsku ekspresiju djeluju istovjetni čimbenici s različitim stupnjem ekspresije, koja je jamačno determinirana stupnjem genetičke penetracije.

Našli smo također da je u 100 bolesnika s BAV-om učinjeno 103 intervencijska ili operacijska zahvata, uključujući i kardiokiruršku intervenciju zbog dilatacije uzlazne aorte (3%), odnosno 15% od ukupnog broja s dilatacijom uzlazne aorte (3/20). Osnovni je zaključak da je BAV prirođena srčana grješka s progresivnim razvojem patoloških promjena u izlaznom traktu lijeve klijetke, koje mogu postati hemodinamski značajne već u dječjoj dobi. Najčešće je bikuspidnoj valvuli pridružena koarktacija aorte (55%). Dilatacija uzlazne aorte razvija se u 20% djece s bikuspidnom aortnom valvulom, neovisno o gradijentu ili pridruženoj anomaliji. Stoga smatramo da BAV valja uključiti u epidemiološke studije prirodnih srčanih grješaka.

NOVČANA POTPORA/FUNDING

Nema/None

ETIČKO ODOBRENJE/ETHICAL APPROVAL

Nije potrebno/None

DOPRINOSI AUTORA/DECLARATION OF AUTHORSHIP

Malčić I. – pretraživanje literature, analiza i tumačenje podataka, pisanje rada/literature search, analysis and data interpretation, writing paper

Dasović-Buljević A. – pretraživanje literature, izrada tablica/literature search, drawing tables

Grgat J. – pisanje rada/writing paper

SUKOB INTERESA/CONFLICT OF INTEREST

Autori su popunili the Unified Competing Interest form na www.icmje.org/coi_disclosure.pdf (dostupno na zahtjev) obrazac i izjavljuju: nemaju potporu niti jedne organizacije za objavljeni rad; nemaju financijsku potporu niti jedne organizacije koja bi mogla imati interes za objavu ovog rada u posljednje 3 godine; nemaju drugih veza ili aktivnosti koje bi mogle utjecati na objavljeni rad./All authors have completed the Unified Competing Interest form at www.icmje.org/coi_disclosure.pdf (available on request from the corresponding author) and declare: no support from any organization for the submitted work; no financial relationships with any organizations that might have an interest in the submitted work in the previous 3 years; no other relationships or activities that could appear to have influenced the submitted work.

LITERATURA

1. Fuhman W. Humangenetische Aspekte der angeborenen Fehlbildungen des herzens und der grossen Gefaesse. In: Doerr WG, Seifert (eds.) Pathologische Anatomie des Herzens und seiner Huellen. Heidelberg-Berlin: Springer Verlag; 1993;519-48.
2. Clark EB, Nakazawa M, Takao A (eds). Etiology and Morphogenesis of Congenital Heart Disease: Twenty Years of Progress in genetics and

- Developmental Biology. 2nd ed. Armonk, NY: Futura Publishing Company, Inc.; 2000
3. Van Praagh R. Segmental approach to diagnosis, in Nadas' Paediatric Cardiology. Morby Year Book 1992;27-35.
4. Gittenberger-de Groot AC, Bartelings MM, Poelmann RE. Normal and abnormal morphogenesis in the outflow tract. In: Clark EB, Markwald RR, Takao A (eds). Developmental Mechanisms of Heart Disease. Proceedings of the Fourt International Symposium on Etiology and Morphogenesis of Congenital Heart Disease. Mount Kisco, New York: Futura Press; 1995:249-54.
5. Jenkins KJ, Correa A, Feinstein JA, et al. Noninherited risk factors and congenital cardiovascular defects: current knowledge: a scientific statement from the American Heart Association Council on Cardiovascular Disease in the Young: endorsed by the American Academy of Pediatrics. Circulation. 2007;115:2995-3014.
<http://dx.doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.183216>
PMid:17519397
6. Ferencz C, Rubin JD, Loffredo CA, Magee CA (eds). Epidemiology of Congenital Heart Disease. The Baltimore-Whashington Infant Study 1981-1989. Mount Kisco, New York: Futura Publishing Company; 1993: 36-41.
7. Hinton RB Jr., Martin LJ, Tabangin ME, Mazwi ML, Cripe LH, Benson DW. Hypoplastic left heart syndrome is heritable. J Am Coll Cardiol. 2007;50:1590-5.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2007.07.021>
PMid:17936159
8. Hinton RB, Yutzey KE, Benson DW. Congenital heart disease: genetic causes and developmental insights. Prog Ped Card. 2005;20:101-11.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ppedcard.2005.04.002>
9. Martin LJ, Ramachandran V, Cripe LH, et al. Evidence in favor of linkage to human chromosomal regions 18q, 5q and 13q for bicuspid aortic valve and associated cardiovascular malformations. Hum Genet. 2007;121:275-84.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00439-006-0316-9>
PMid:17203300
10. Benson DW, Silberbach GM, Kavanaugh-McHugh A, et al. Mutations in the cardiac transcription factor NKX2.5 affect diverse cardiac developmental pathways. J Clin Invest. 1999;104:1567-73.
<http://dx.doi.org/10.1172/JCI8154>
PMid:10587520 PMCID:PMC409866
11. Shokeir MH. Hypoplastic left heart. Evidence for possible autosomal-recessive inheritance. Birth Defects Orig Artic Ser. 1974;10:223-7.
12. Malčić I, Rendulić Wolf G, Bartoniček D, et al. Sindrom Noonan. Paediatr Croat. 2012;56:297-9.
13. Bruno E, Rossi N, Thuer O, Cordoba R, Alday L. Cardiovascular findings, and clinical course, in patients with Williams syndrome. Cardiology. 2003;113:532-6.
14. Malčić I, Dilber D, Kniewald H, Lasan R, Begović D, Jelušić M. Supravalvular aortic stenosis and peripheral pulmonary stenosis in family with balanced translocation T (7;14) and break point within the elastin gene region. Paediatr Croat. 2008;52:77-81.
15. Kerstjens-Frederikse WS, Gideon J Du Marchie Sarvaas GJD, Ruiter JS, et al. Left ventricular outflow tract obstruction: should cardiac screening be offered to first-degree relatives? Heart. 2011;97:1228-32.
<http://dx.doi.org/10.1136/hrt.2010.211433>
PMid:21345845
16. Michelena HI, Khanna AD, Mahoney D, et al. Incidence of aortic complications in patients with bicuspid aortic valves. JAMA. 2011;306:1104-12.
<http://dx.doi.org/10.1001/jama.2011.1286>
PMid:21917581
17. Cripe L, Andelfinger G, Martin LJ, Shooner K, Benson DW. Bicuspid aortic valve is heritable. J Am Coll Cardiol. 2004;44:138-43.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2004.03.050>
PMid:15234422
18. Fedak PWM, Verma S, David TE, Leask RL, Weisel RD, Butany J. Clinical and pathophysiological implications of a bicuspid aortic valve. Circulation. 2002;106:900-4.
<http://dx.doi.org/10.1161/01.CIR.0000027905.26586.E8>
PMid:12186790
19. McKellar SH, Tester DJ, Yagubyan M, Majumdar R, Ackerman MJ, Sundt TM. Novel NOTCH1 mutations in patients with bicuspid aortic valve disease and thoracic aortic aneurysms. J Thorac Cardiovasc Surg. 2007;134:290-6.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jtcvs.2007.02.041>
PMid:17662764
20. Huntington K, Hunter AGW, Chan KL. A prospective study to assess the frequency of familial clustering of congenital bicuspid aortic valve. J Am Coll Cardiol. 1997;30:1809-12.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0735-1097\(97\)00372-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0735-1097(97)00372-0)
21. Martin LJ, Ramachandran V, Cripe LH, et al. Evidence in favor of linkage to human chromosomal regions 18q, 5q and 13q for bicuspid aortic valve and associated cardiovascular malformations. Hum Genet. 2007;121: 275-84.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00439-006-0316-9>
PMid:17203300
22. Hinton RB, Martin LJ, Rame-Gowda S, Tabangin ME, Cripe LH, Benson DW. Hypoplastic left heart syndrome links to chromosomes 10q and 6q and is genetically related to bicuspid aortic valve. J Am Coll Cardiol. 2009;53:1065-71.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2008.12.023>
PMid:19298921 PMCID:PMC2703749
23. McBride KL, Zender GA, Fitzgerald-Butt SM, et al. Linkage analysis of left ventricular outflow tract malformations (aortic valve stenosis, coarctation of the aorta, and hypoplastic left heart syndrome). Eur J Hum Genet. 2009;17:811-9.
<http://dx.doi.org/10.1038/ejhg.2008.255>
PMid:19142209 PMCID:PMC2916734
24. McBride KL, Riley MF, Zender GA, Fitzgerald-Butt S, Towbin JA, Belmont JW, Cole SE. NOTCH1 mutations in individuals with leftventricular outflow tract malformations reduce ligand-induced signaling. Hum Mol Genet. 2008;17:2886-93.
25. Garg V, Muth AN, Ransom JF, et al. Mutations in NOTCH1 cause aortic valve disease. Nature. 2005;437:270-4.
<http://dx.doi.org/10.1038/nature03940>
PMid:16025100
26. Malčić I, Grgat J, Šarić D, Kniewald H, Dilber D, Bartoniček D. Bicuspidna aortna valvula – još nedefinirana grješka u dječjoj dobi. Usmeno izvješće. VII samostalni simpozij iz pedijatrijske kardiologije i reumatologije. Varaždin, rujan 2013.
27. Holmes KW, Lehmann Ch. U, Dalal, D, et al. Progressive dilatation of the ascending aorta in children with isolated bicuspid aortic valve. Am J Cardiol. 2007;99:978-83.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.amjcard.2006.10.065>
PMid:17398196
28. Moreno PR, Astudillo L, Elmariah S, et al. Increased macrophage infiltration and neovascularisation in congenital bicuspid aortic valve stenosis. J Thorac Cardiovasc Surg. 2011;142: 895-901.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jtcvs.2011.03.002>
PMid:21481422

SUMMARY

Genetics in the understanding of the hypoplastic left heart syndrome

Ivan Malčić, Andrea Dasović-Buljević, Josipa Grgat

Research methods of the complex genetic heterogeneity of the hypoplastic left heart syndrome (HLHS) are presented using as the example. The common genetic basis of the left ventricular outflow tract (LVOT) defects, where HLHS is accompanied by bicuspid aortic valve (BAV), aortic valve stenosis (AVS), coarctation of the aorta (Coa), dilatation of the ascending aorta (AOD), and the Shone syndrome, is also investigated. The literature presents evidence for mutual connection of these defects with a common etiopathogenic source through epidemiological knowledge, analysis of the occurrence of the mentioned defects within families or smaller groups, and through family trees. Current methods of evaluating polygenic influences according to logarithm of odds (LOD) marker with a level of significance marked as suspect or significant are presented. Hypoplastic left heart syndrome is linked with chromosomal regions 10q22 and 6q23 with maximum LOD 3.1 and 3.2 ($p < 0.001$). In HLHS and BAV groups of patients, locus 14q23 revealed an extremely high degree of linkage (LOD 4.1) of these two defects. The latest studies by Hinton et al. (2008, 2009), MacBridge (2009, 2010), and Garge et al. (2011) are presented by describing the methods, through tables and multilayer LOD markers, through images (family tree, NOTCH1 missense mutations), and corresponding discussion. Finally, the author presents his own experiences from BAV study and the connection of this lesion with other LVOT defects in 100 patients in a retrospective study ten-years.

Keywords: genetic heterogeneity; hypoplastic left heart syndrome; bicuspid aortic valve; literature