

medgen 2017 · 29:248–256
DOI 10.1007/s11825-017-0131-9
Online publiziert: 26. Juni 2017
© Der/die Autor(en) 2017. Dieser Artikel ist
eine Open-Access-Publikation.



Anne-Karin Kahlert^{1,2,3} · Kirstin Hoff^{1,3,4} · Marc-Phillip Hitz^{1,3,4,5}

¹ Klinik für angeborene Herzfehler und Kinderkardiologie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein Campus Kiel, Kiel, Deutschland

² Institut für Klinische Genetik, Medizinische Fakultät Carl Gustav Carus, Technische Universität Dresden, Dresden, Deutschland

³ DZHK (Deutsches Zentrum für Herz- und Kreislauftforschung), Standort Hamburg/Kiel/Lübeck, Kiel, Deutschland

⁴ Institut für Humangenetik, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein Campus Kiel, Kiel, Deutschland

⁵ Wellcome Trust Sanger Institute, Cambridge, Großbritannien

Genetik der angeborenen Herzfehler

Herzfehler sind die häufigste menschliche Fehlbildung beim Neugeborenen. Die zugrunde liegende Genetik ist jedoch noch weitgehend unklar. Dies liegt zum einen an der verminderten Penetranz und variablen Expressivität, zum anderen an heterogenen und wenig evidenzbasierten Literaturangaben. Ziel muss es daher sein, eine verlässliche Genotyp-Phänotyp-Assoziation zu etablieren, die es auch ermöglicht, neue AHF-assozierte Gene zu identifizieren. Die Veröffentlichung gewonnener Datensätze ist dabei unabdingbar, da sie helfen würde, Patienten in therapeutische Subgruppen einzuteilen.

Einleitung

Die umfassendste Definition der angeborenen strukturellen Herzfehlbildungen (AHF) findet sich bei Mitchell et al. (1971), der diese als „*a gross structural abnormality of the heart or intrathoracic great vessels that is actually or potentially of functional significance*“ beschreibt. Diese Definition gibt einen Einblick in die heterogene Gruppe angeborener Herzfehler, die zu einer teils ausgeprägten Funktionseinschränkung des kindlichen Herz-Kreislauf-Systems führen können, und bezieht neben den klassischen Formen, wie bspw. dem Vorhofseptumdefekt (ASD) oder den Fehl-

bildungen der Herzkappen, auch die Kardiomyopathien inklusive der Non-Compaction Kardiomyopathie (LVNC) mit ein. Epidemiologisch handelt es sich bei den AHF um die häufigste humane Fehlbildung, die einen hohen Anteil an Kindersterblichkeit aufweist [1] und deshalb als eine der wesentlichen Herausforderungen der Gesundheitsversorgung der kommenden Jahre betrachtet wird [2].

Die Geburtsprävalenz moderater bis schwerwiegender AHF beläuft sich auf 5–10 pro 1000 Lebendgeburten [3], ist jedoch stark davon abhängig, welche AHF-Formen mit einbezogen werden. Bei wechselnden Einschlusskriterien, wenn z. B. auch die bikuspide Aortenklappe oder der persistierende Ductus arteriosus und das Auftreten von schweren Herzfehlern beim Feten mitbetrachtet werden, kann sich die Prävalenz auf 5–50 pro 1000 erhöhen [2]. Von wesentlicher Bedeutung ist insbesondere die Gruppe der lebensbedrohlichen Herzfehler, die mit einem Anteil von 25 % aller angeborenen Herzfehler angegeben wird, da bei diesen Patienten innerhalb des ersten Lebensjahres eine medizinische Intervention (bspw. Katheterbehandlung oder auch Operation) für das weitere Überleben notwendig ist [4]. Deshalb würde diese Gruppe maßgeblich von einer adäquaten Früherkennung, bspw. mittels Echokardiographie oder Einbezug genetischer Diagnostikmöglichkeiten, die eine prognostische Einschätzung

bezüglich des Krankheitsverlaufes und eventueller therapeutischer Ansätze erlauben, profitieren.

Notwendigkeit von Evidenzklassen und Gruppierungen

Neben der konventionellen Einteilung kindlicher Herzfehler, die sich vor allem auf das klinische Erscheinungsbild bezieht, erfolgt häufig eine Einteilung in syndromale und nicht-syndromale Herzfehler. Dabei zeigen Patienten mit syndromalen Herzfehlern neben einem angeborenen Herzfehler auch Dysmorphien oder Veränderungen extrakardialer Organe, während die nicht-syndromalen durch das isolierte Auftreten eines Herzfehlers charakterisiert sind. Ziel dieser Einteilung ist das bessere Verständnis der zugrunde liegenden Genetik und die Aufklärung möglicher funktioneller Mechanismen.

Insgesamt gesehen ist die Quote ätiologisch erklärbare Herzfehler zum jetzigen Zeitpunkt sehr gering. Sie beträgt nur ~30 % bei syndromalen Herzfehlern und 10–15 % bei isolierten AHF [5, 6]. Hierfür ist neben dem ausgesprochen heterogenen Wiederholungsrisiko, abhängig von AHF-Typ und Verwandtschaftsverhältnis [7], welches aufgrund der häufig beobachteten reduzierten Penetranz und variablen Expressivität vielfach nicht in Einklang mit den klassischen Vererbungsmustern zu bringen ist, auch die unzureichende Publikationslage bezüg-

Tab. 1 Gene, die mit syndromalen AHF assoziiert sind

Vererbung	Gene Evidenzklasse Tier 1	Gene Evidenzklasse Tier 2
Monoallelisch	ARID1A, NOTCH2, NSD1, ACTB, ADNP, ASXL1, CHD7, COL1A1, COL3A1, EFTUD2, EHMT1, ELN, FBN2, FGFR2, FOXC1, FOXC2, FOXF1, GLI3, HDAC4, HRAS, JAG1, KANSL1, KDM6A, KMT2A, KMT2D, MAP2K1, MAP2K2, MED13L, NOTCH1, NF1, NIPBL, PTPN11, RAI1, SALL1, SALL4, SHOC2, SKI, SMAD3, SMAD4, SMARCA2, SMARCA4, SMARCB1, SMARCE1, SMC1A, SOS1, SOX2, SOX9, TBX1, TBX20, TBX3, TBX5, TFAP2B, TGFB1, TGFB2, ZEB2, NRAS, BRAF, CBL, KRAS, BRAF1, RIT1, ABCC9, FBLN, CDK13, CHD4, PRKD1	COL2A1, CREBBP, CTCF, DDX59, EP300, KAT6B, NFIX, PKD1, PKD2, RNF135, RPS19, RRAS, SETBP1, SF3B4, SHANK3, SNRPB, SRCAP, TLL1, TWIST1, WNT5A, ZFPMP2, CHRNA1, LRP5, NRXN1, RARB, ROR2
Biallelisch	CCBE1, CD96, CHST14, CHST3, EVC, EVC2, IRX5, LTBP3, MEGF8, MGP, MKKS, NEK1, PEX1, PEX10, PEX12, PEX2, PEX26, PEX5, RAB23, RBM8A, SH3PXD2B, SLC2A10, STRA6, UBR1, DHCRT, FLNB	ATIC, B3GALT6, CEP290, CEP57, CHUK, DDX11, DIS3L2, EOGT, ESCO2, FBLN5, FIG4, FKBP14, FKTN, GPC6, IGFBP7, KIF7, LRP2, MGAT2, MKS1, MPLKIP, NPHP3, PHGDH, PTF1A, RNU4ATAC, STAMB, TBC1D24, TTC37, WDR60, ZMPSTE24, FTO, CHRNA1, LRP5, NRXN1, RARB, ROR2
X-linked	FLNA, AMER1, BCOR, GPC3, MED12, MID1, ZIC3, HCCS	COX7B, NSDHL
Hemizygot	–	RBM10

Tab. 2 Gene, die mit nicht-syndromalen AHF assoziiert sind

Vererbung	Gene Evidenzklasse Tier 1	Gene Evidenzklasse Tier 2
Monoallelisch	GATA4, GATA6, ACTA2, ACVR2B, CFC1, CITED2, CRELD1, LEFTY2, MYH11, MYH7, NKX2-5, NODAL, NR2F2, NOTCH1, GJA1, ACTC1, MYH6, NOTCH2, ABCC9, FBN2, ELN, SOS1, SALL4, FGFR2, COL1A1	NAA15, NFATC1, SMAD2, TAB2, GDF1
Biallelisch	CCDC103, CCDC114, CCDC151, CCDC39, CCDC40, DNAAF3, DYX1C1, GJA1	GDF1, NKX2-6, PLXND1
X-linked	FLNA	–
Hemizygot	–	PQBP1

lich der zugrunde liegenden kausal-assoziierten Gene von Bedeutung. So finden sich bei vielen in der Literatur dargestellten genetischen Assoziationen weder hinreichend Angaben zur Ko-Segregation innerhalb der Familie noch bezüglich der populationsspezifischen Allelfrequenz, sodass die Mehrzahl der humanen AHF-Gene nur über eine eingeschränkte kausale Evidenz verfügt.

Um die bereits bekannten Gene in einen kausalen Zusammenhang mit der Entstehung angeborener Herzfehler zu setzen, haben wir in Anlehnung an bereits publizierte und öffentlich zugängliche Genotyp-Phänotyp-Kriterien (<http://www.ebi.ac.uk/gene2phenotype>) eine kritische Literaturrecherche der bekannten AHF-Gene durchgeführt. Bei der Aufstellung der im Folgenden auf-

geführten Listen sowohl für Gene, die mit syndromalen und nicht-syndromalen AHF sowie LVNC assoziiert sind, als auch für Chromosomenregionen, in denen Kopienzahlvarianten mit AHF in Verbindung stehen, wurden nur genomweite Studienansätze (arraybasiert, Linkage-Analysen und NGS-Verfahren) mit ausreichender genomweiter statistischer Evidenz berücksichtigt, die neben einer nachvollziehbaren Ko-Segregation auch eine passende populationsspezifische Allelfrequenz aufweisen. Es erfolgte die Einteilung in zwei Evidenzklassen: *Tier 1* und *Tier 2*. Als Voraussetzung für *Tier 1* sollte das potenzielle Krankheitsgen in drei oder mehr unabhängigen Familien/Erkrankten beobachtet und bei *Tier 2* in mindestens zwei unabhängigen Beobachtungen nachgewiesen

worden sein. Neben den Evidenzklassen haben wir zudem das zugrunde liegende Vererbungsmuster genauer betrachtet (monoallelisch, biallelisch, X-chromosomal und hemizygot), um neben einer besseren Einteilung neuer Varianten auch ein Verständnis der zugrunde liegenden Mechanismen zu ermöglichen.

Von den aktuellen in der Literatur zu findenden Genen sind 151 der Gruppe der mit syndromalen AHF assoziierten Gene zuzuordnen ([Tab. 1](#)) und 34 Gene dem nicht-syndromalen Formenkreis ([Tab. 2](#)). Es finden sich 44 Chromosomenregionen, die eine starke Assoziation mit angeborenen Herzfehlern zeigen ([Tab. 3](#)); 19 Gene können mit einem Non-Compaction Phänotyp assoziiert werden ([Tab. 4](#)).

Bei den allermeisten bisher bekannten Genen/Regionen handelt es sich um ein autosomal dominantes Vererbungsmuster. Häufig werden sowohl in der Gruppe der syndromalen, als auch nicht-syndromalen Gene/Regionen reduzierte Penetranz sowie variable Expressivität beobachtet.

Syndromale strukturelle Herzfehler

Insgesamt sind ~15–20 % der Fälle mit angeborenen Herzfehlern dem syndromalen Formenkreis zu zuordnen [8]. Dabei lassen sich 8–10 % dieser sogenannten syndromalen Herzfehler durch unbalancierte Chromosomenstörungen wie Aneuploidien und strukturelle Chromosomenveränderungen einschließlich submikroskopischer Chromosomenveränderungen (CNV) erklären [2]. So finden sich bei ca. 40–50 % der Patienten mit Trisomie 21, bei 20–50 % mit Turner-Syndrom und bei nahezu allen Fällen mit Trisomie 13 und Trisomie 18 strukturelle Herzfehler [2]. Es wird indessen vermutet, dass durch solche genetische Veränderungen dosisinsensitive Gene betroffen sind, die aufgrund einer dysregulierten Expression Auswirkung auf die Kardiogenese haben. Die häufigste AHF-assoziierte CNV stellt eine 3 Mb Deletion auf Chromosom 22q11.2 (Velokardiofaziales Syndrom/Mikrodeletionssyndrom 22q11.2) dar. Diese in einer von 4000–6000 Lebend-

Zusammenfassung · Abstract

geborenen auftretende CNV kann bei 15 % aller Fälle mit Fallot-Tetralogie (TOF) gefunden werden [9]. Durch die Deletion sind zwar mehr als 30 Gene betroffen, es ließ sich jedoch anhand von Sequenzanalysen und Tiermodellen eine reduzierte Gendosis des Transkriptionsfaktors *TBX1* nachweisen. Dieser reguliert die Zellproliferation im zweiten Herzfeld und wird deswegen als ursächlich für die Entstehung der Herzfehlbildungen angesehen [10]. Als weitere Chromosomenstörungen, die in Verbindung mit AHF auftreten, sind das Cri-du-chat-Syndrom (Deletion 5p15.2), das Cat-eye-Syndrom (Inversion und Duplikation 22q11), das Jacobsen-Syndrom (Deletion 11q23) und das Williams-Beuren-Syndrom mit einer Deletion in 7q11.23 zu nennen [2]. Von den 26–28 Genen, die in diesem Intervall zu finden sind, sind *ELN* und *LIMK1* diejenigen, die am häufigsten deletiert sind. Auch wenn die *Eln* Knockout-Maus am besten den humanen Phänotyp rekapituliert [11], lassen sich nicht alle menschlichen Phänotypen durch den partiellen Verlust von *ELN* erklären, sodass andere Kandidatengene wie *BAZ1B*, *LIMK1* und *CLIP2* eine Rolle spielen könnten [12]. Anhand des *Eln*-Mausmodells konnte gezeigt werden, dass genetische Modifier die Haploinsuffizienz eines Gens beeinflussen [13]. Dies könnte auch in Bezug auf andere syndromale Herzfehler eine plausible Erklärung für den heterogenen Phänotyp im Menschen und der Maus darstellen.

Unbalancierte Chromosomenanomalien erklären jedoch nur einen kleinen Anteil der syndromalen Herzfehler, viele Ursachen wurden in den letzten Jahren durch die Identifizierung seltener Genvarianten mittels Kandidatensequenzierung und insbesondere durch NGS aufgeklärt.

Strukturelle Herzfehler treten bei vielen unterschiedlichen monogen erblichen Syndromen auf. So weisen 90 % der Patienten beim Alagille-Syndrom, welches durch Mutationen in *JAG1* verursacht wird, einen AHF auf. Das Holt-Oram-Syndrom, welches in 80 % der Fälle mit einem Herzfehler assoziiert ist, wird durch dominante *Loss-of-function*-Mutationen (LOF-Mutatio-

medgen 2017 · 29:248–256 DOI 10.1007/s11825-017-0131-9
© Der/die Autor(en) 2017. Dieser Artikel ist eine Open-Access-Publikation.

A.-K. Kahlert · K. Hoff · M.-P. Hitz

Genetik der angeborenen Herzfehler

Zusammenfassung

Strukturelle Herzfehler sind eine der häufigsten menschlichen Fehlbildungen. Es lassen sich mehrere morphologische Gruppen unterscheiden, wobei auch Überlappungen mit verschiedenen Formen der Kardiomyopathien, unter anderem mit der Non-Compaction Kardiomyopathie, beobachtet werden. Zum jetzigen Zeitpunkt liegt nur ein sehr eingeschränktes Verständnis der zugrunde liegenden genetischen Ursachen vor. Dies liegt zum einen an einer „komplexen Genetik“, bei welcher häufig reduzierte Penetranz und variable Expressivität vorliegen, zum anderen aber auch an heterogenen Literaturangaben, bei denen nur unzureichende genetische Evidenzen bestehen. Der Fokus dieses Reviews ist es, anhand von stringenten Evidenzkriterien die bekannten Gene für strukturelle Herzfehler darzustellen. Speziell durch die Nutzung von Next Generation Sequencing (NGS) können zunehmend mehr relevante genetische

Zusammenhänge geklärt werden. Dies gilt nicht nur für die Validierung von Genotyp-Phänotyp-Assoziationen, sondern auch für die Identifizierung neuer Gene für angeborene Herzfehler (AHF), was besonders wegen des seltenen Vorkommens rekurrenter AHF-assozierter Mutationen im gleichen Gen in Zukunft notwendig sein wird. Um dieses Ziel zu erreichen, ist es notwendig, große deutschlandweite oder internationale Studien zu etablieren und bereits publizierte Datensätze öffentlich zugänglich zu machen. Dies sollte auch für diagnostische Datensätze gelten. Mit einem derartigen Ansatz könnte nicht nur eine Gen-Panel-Diagnostik, sondern auch die Eingruppierung der Herzfehler in therapeutische Subgruppen erreicht werden.

Schlüsselwörter

Genetik angeborener Herzfehler · Syndromal · Nicht-syndromal · Non-Compaction Kardiomyopathie

Genetics of congenital heart disease

Abstract

Congenital heart disease (CHD) is the most common congenital malformation in humans. Morphologically, it is possible to distinguish different forms, some of which, such as non-compaction cardiomyopathy, show a significant overlap with cardiomyopathies. Currently, our understanding of the underlying genetics is limited, because of its complexity, in which reduced penetrance and variable expressivity are often observed. In addition, the available literature is often diverse, and consists of inadequate genetic evidence. Therefore, the focus of this review is to present the genes known to be involved in CHD, based on stringent criteria. With the use of next generation sequencing (NGS) technologies, an increasing number of relevant genetic connections can be

clarified. It not only helps to establish strong genotype–phenotype associations, but also to identify novel CHD genes, which will be urgently needed in the future given the rare occurrence of recurrent CHD-associated mutations in the same gene. To achieve this goal, it will be necessary to establish nationwide and international studies and make published datasets available to the community. The same applies to diagnostic datasets. Such an approach would be helpful in obtaining gene panel diagnostics and in classifying CHD into therapeutic subgroups.

Keywords

Genetics of congenital heart defects · Syndromic · Non-syndromic · Non-compaction cardiomyopathy

nen) in *TBX5*, welches in der frühen Organogenese eine wichtige Rolle spielt, hervorgerufen. Weitere Syndrome, die häufig mit Herzfehlern assoziiert sind, sind das Noonan-Syndrom, verursacht durch Mutationen des RAS-Signalweges, bei welchem AHF in 80–90 % der Patienten beobachtet werden, das CHARGE-Syndrom (*CHD7*) mit 50–80 %, das Ellis-

van-Creveld-Syndrom (*EVC* und *EVC2*) mit 60 % und das Kabuki-Syndrom (*KMT2D* und *KDM6A*) mit 31–55 % [2].

Eine kürzlich veröffentlichte exomweite Studie an 1891 Patienten mit AHF identifizierte drei neue Syndrome, die durch De-novo-Mutationen in *CDK13*, *CHD4* und *PRKD1* verursacht sind [14]. Bei den sieben beschriebenen Patienten

Tab. 3 Chromosomenregionen, die mit AHF assoziiert sind

Region/Syndrom	Chr	Start	Ende	Typ	Kardialer Phänotyp	Prozent von AHF	Quelle
1p36 microdeletion	chr1	834083	5408761	del	CM, PDA, TOF	71	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
1q21.1_susceptibility_for_Thrombocytopenia-Absent_Radius	chr1	145401253	145928123	dup	TOF, ASD, VSD, CoA	74	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
1q21.1_microdeletion	chr1	146577486	147394506	del	CoA, IAA, PDA, CTD, VSD, ASD, BAV, dilAoAsc, AI, TGA	29	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
1q21.1_microduplication	chr1	146577486	147394506	dup	TOF	20	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
2p15p16.1_microdeletion	chr2	55000000	64100000	del	VD	NA	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
2q13_microdeletion	chr2	111442130	113065779	del	VSD, PDA, CoA	NA	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
Mowat-Wilson_[ZEB2_(ZFHX1B)]	chr2	145145586	145277916	del	AHF	NA	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
2q31.1 microdeletion syndrome	chr2	173200000	178000000	del	ASD, VSD	70	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
2q37_monosomy	chr2	239954693	242930600	del	AHF	20	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
Wolf-Hirschhorn	chr4	72448	2327204	del	ASD, VSD	50	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
Cri_du_Chat	chr5	37693	11347262	del	VSD, ASD, TOF, PDA	NA	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
Sotos_microdeletion_(NSD1)	chr5	175728978	177013961	del	ASD, VSD, PDA	21	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
6q16_microdeletion	chr6	9984014	9997014	del	AHF	NA	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
6q26q27_microdeletion	chr6	164178309	164178309	del	AHF	NA	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
7q11.23_duplication	chr7	72744454	74142513	dup	AHF	NA	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
Williams-Beuren	chr7	72744454	74142513	del	AHF	53–85	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
8p23.1_deletion	chr8	8119295	11765719	del	TOF, AVSD, VSD, BSVC	94	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
9q_subtelomeric_deletion_(EHMT1)	chr9	140403363	141153431	del	VSD, ASD, TOF	NA	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
10p15.3_microdeletion	chr10	1	899000	del	BAV, PFO	22	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review

Tab. 3 Chromosomenregionen, die mit AHF assoziiert sind (Fortsetzung)

Region/Syndrom	Chr	Start	Ende	Typ	Kardialer Phänotyp	Prozent von AHF	Quelle
10q22.3q23.2_microdeletion	chr10	81610020	89110020	del	AVSD, PDA, TI	33	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
11q23_microdeletion (Jacobsen syndrome)	chr11	118021543	119538160	del	VSD, ASD, HLHS	56	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
12q14_microdeletion	chr12	65071919	68645525	del	AHF	70	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
15q11.2	chr15	20303106	20635885	del	VSD, ASD, CoA, LVOTO, TOF, TAPVD	NA	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
15q24_microdeletion	chr15	74377174	76162277	del	AHF	20	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
16p13.3 microduplication	chr16	1	7900000	del	PFO, ASD	40	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
16p11.2_microdeletion	chr16	3015999	3070999	del	AHF	NA	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
Rubinstein-Taybi_(CREBBP)	chr16	3775056	3930121	del	ASD, VSD, PDA	NA	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
16p13.11_microdeletion_(ID/MCA_susceptibility_locus)	chr16	15504454	16292268	del	AHF	20	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
16p12.2–p11.2 microdeletion syndrome	chr16	21474000	29652000	del	PFO, ASD	60	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
16p12.1_microdeletion	chr16	29649996	30199855	del	HLHS	30	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
Miller-Dieker	chr17	1182956	2588909	del	AHF	22	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
17p13.1	chr17	6500000	10700000	del	ASD, VSD, PDA	NA	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
Potocki-Lupski	chr17	16757111	20219651	dup	ASD, PFO	50	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
Smith-Magenis	chr17	16757111	20219651	del	ASD	40–45	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
17p13.2	chr17	25800000	31800000	del	ASD, VSD, PDA	NA	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
17q12_duplications	chr17	34856056	36248918	dup	ASD	NA	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
17q21.3_microdeletion	chr17	43705165	44188442	del	ASD, VSD, PS, BAV	27	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
17q23 microdeletion syndrome	chr17	57600001	58300000	del	ASD, VSD, VD	27–36	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review

Tab. 3 Chromosomenregionen, die mit AHF assoziiert sind (Fortsetzung)

Region/Syndrom	Chr	Start	Ende	Typ	Kardialer Phänotyp	Prozent von AHF	Quelle
Cat-eye_(Type_1)	chr22	17392953	18591860	del	AHF	NA	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
Common_Smaller_22q11_deletion	chr22	18661725	20311904	del	TOF, CTD, IAA, VSD	26	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
Common_Smaller_22q11_duplication	chr22	18661725	20311904	dup	variable AHF	NA	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
Common_Larger_22q11_deletion	chr22	18661725	21561514	del	TOF, CTD, IAA, VSD	26	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
Common_Larger_22q11_duplication	chr22	18661725	21561514	dup	variable AHF	NA	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review
22q11.2_distal_deletion	chr22	22115848	23696229	del	TOF, CTD, IAA, VSD	26	DecipherISCA/OMIM www.rarechromo.org Literature review

AHF Angeborene Herzfehler, AI Aortenklappeninsuffizienz, ASD Atriumseptumdefekt, AVSD Atrioventrikulärer Septumdefekt, BAV Bikuspide Aortenklappe, BSVC Bilaterale Vena cava superior, CM Kardiomyopathie, CoA Koarktation der Aorta, CTD Konotrunkaler Herzfehler, dilAoAsc Dilatation der Aorta ascendens, HLHS Hypoplastisches Linksherzsyndrom, IAA Unterbrochener Aortenbogen, LVOTO Linksventrikuläre Ausflusstraktobstruktionen, PDA persistierender Ductus arteriosus, PFO persistierendes Foramen ovale, PS Pulmonalstenose, TAPVD Totale Lungengefäßenfehlmündung, TGA Transposition der großen Arterien, TI Trikuspidalklappeninsuffizienz, TOF Fallot'sche Tetralogie, VSD Ventrikelseptumdefekt, Chr Chromosom

mit Mutationen in *CDK13* konnten Defekte des Ventrikelseptums und des atrialen Septums sowie teilweise auch Veränderungen der Pulmonalklappe nachgewiesen werden. Zusätzlich zeigten die Patienten eine auffallend faziale Ähnlichkeit, eine signifikante Entwicklungsverzögerung, eine moderate Mikrozephalie sowie zum Teil eine Agenesie des Corpus callosum. Patienten mit Mutationen in *CHD4* scheinen teilweise phänotypisch mit dem CHARGE-Syndrom zu überlappen. Neben einer Fallot-Tetralogie sowie einer Koarktation der Aorta und einem Septumdefekt hatten die Patienten eine schon früh manifeste Entwicklungsverzögerung, Fehlbildungen der Genitalien sowie zum Teil eine Chiari-Malformation. Mutationen in *PRKD1* führten zu einer schweren Entwicklungsverzögerung sowie zu ektodermalen und Extremitätenfehlbildungen. Als Herzfehler konnten Atriumseptumdefekte und Pulmonalstenose beobachtet werden [14].

Nicht-syndromale strukturelle Herzfehler

Insgesamt ist das Wissen über die zugrunde liegenden genetischen Mechanismen der nicht-syndromalen Herzfehler noch sehr gering, auch wenn diese die größte Gruppe darstellen. Neben den initialen Linkage-Analysen, die zur Identifizierung von Genen wie *NKX2.5* [15] und *NOTCH1* [16] führten, wurde eine große Anzahl der bekannten Gene aufgrund von Beobachtungen im Mausmodell oder anderen Modellorganismen auf genetische Veränderungen mittels „targeted resequencing“ passender Kandidatengene identifiziert. Eine große Problematik ergibt sich jedoch aus der Tatsache, dass viele der Gene nur eine unzureichende Assoziation mit den zugrunde liegenden Herzfehlern zeigen und zum aktuellen Zeitpunkt nicht als kausal betrachtet werden können. Im Gegensatz zu den syndromalen Herzfehlern lassen sich bei isolierten Herzfehlern zu einem weitaus geringeren Prozentsatz De-novo-Mutationen nachweisen [6, 14]. Außerdem zeigt sich eine Anhäufung von seltenen proteinintrunkierenden Varianten, welche

von einem gesunden Elternteil vererbt worden sind.

Auch die Anzahl krankheitsverursachender CNV ist überschaubar. Zwar konnten vereinzelt große De-novo-Ereignisse bei isoliert auftretenden Fällen mit Fallot-Tetralogie [17], Linksherzfehlbildungen, wie dem hypoplastischen Linksherzsyndrom (HLHS) [18], oder anderen sporadisch auftretenden AHF-Fällen gefunden werden [19], doch insgesamt bleibt die Ätiologie unklar.

Neben Transkriptionsfaktoren, wie u. a. *CITED2*, *GATA4*, *NKX2.5*, und Rezeptoren sowie deren Liganden, wie u. a. *JAG1*, *NOTCH1*, *SMAD6*, *VEGF*, spielen ebenso kardiale Strukturproteine eine Rolle bei AHF. Als wichtigste Vertreter dieser Gruppe sind hier *MYH6*, *MYH7*, *MYH11* (kardiale Muskelbestandteile) und *ACTC1* (kardiales Aktin) zu nennen, die insbesondere bei der Ebstein-Anomalie [20], ASD [21] oder anderen Herzfehlbildungen [22] gefunden werden können. Vor allem die kardialen Strukturproteine zeigen eine große Überlappung mit den Kardiomyopathien.

Tab. 4 Gene, die mit Non-Compaction Kardiomyopathie assoziiert sind

Vererbung	Gene Evidenzklasse Tier 1	Gene Evidenzklasse Tier 2
Monoallelisch	<i>LDB3, PRDM16, MIB1, DTNA, MYH7, ACTC1, TNNT2, TNNI3, TMP1, LMNA, SCNSA, HCN4</i>	<i>PLN, CASQ2, RYR2</i>
Biallelisch	<i>MYBPC3</i>	<i>DSP</i>
X-linked	<i>TAZ, DMD</i>	–
Hemizygot	–	–

Linksventrikuläre Non-Compaction Kardiomyopathie

Die LVNC ist die häufigste Form der Kardiomyopathien, die nicht nur isoliert, sondern auch in Verbindung mit AHF auftritt. Interessanterweise werden jedoch auch Fehlbildungen des rechten Herzens wie Ebstein-Anomalie, Pulmonalstenose/-atresie, Trikuspidalatresie und „Double outlet right ventricle“ im Zusammenhang mit LVNC beobachtet [23]. Während die LVNC vorwiegend einem autosomal dominanten Erbgang folgt, können seltener auch autosomal rezessive, X-chromosomal rezessive und mitochondriale Vererbung beobachtet werden. In Verbindung mit AHF zeigt sich jedoch vorwiegend eine autosomal dominante Vererbung, welche wiederum durch eine verminderte Penetranz in einzelnen Familien gekennzeichnet ist [23].

Das erste Kandidatengen, welches ursächlich für LVNC identifiziert worden ist, wurde beim Barth-Syndrom, das neben LVNC u. a. auch durch eine skelettale Myopathie und Neutropenie gekennzeichnet ist, auf dem X-Chromosom beschrieben. Mutationen in *TAZ*, welches für das Protein Tafazzin kodiert, führen zu einer Dysfunktion der Mitochondrien und damit der Energieversorgung der Zellen [24].

Gene, die mit AHF assoziiert sind, folgen überwiegend einem autosomal dominanten Erbgang. So konnten bei Patienten mit HLHS und LVNC Mutationen in *DTNA* gefunden werden, bei Patienten mit ASD Mutationen in *NKX2.5* und in Fällen von Ebstein-Anomalie und LVNC in *MYH7* [20, 23]. Bei den isolierten LVNC stehen vorrangig die kardialen Strukturproteine im Vordergrund. Mehr als 20 % aller Mutationen können in den Sarkomergenen *MYH7*, *ACTC1*, *TNNT2*, *MYBPC3*, *TPM1* und

TNNI3 nachgewiesen werden [23, 25]. Es spielen jedoch auch Gene für Ionenkanäle wie *SCN5A* [23], Desmosomen wie *DSP* [26] und Transkriptionsfaktoren wie *PRDM16* [27] und *MIB1* [28] eine wichtige Rolle, insbesondere in Assoziation mit anderen Kardiomyopathie-Formen.

Ebenso wie AHF kann eine LVNC in Zusammenhang mit syndromalen Erkrankungen auftreten. Chromosomale Aberrationen umfassen Deletionen von 1p36, 7p14.3p14.1, 18p, 22q11.2, distal der Region von 22q11.2 und 8p23.1 sowie Trisomie 18 und 13 und die Tetrasomie 5q35.2-5q35. Mutationen in *RPS6KA3* im Rahmen des Coffin-Lowry-Syndroms sowie in *NSD1*, welches ursächlich für das Sotos-Syndrom ist, und die Duplikation von *PMP22* (Charcot-Marie-Tooth-Erkrankung Typ 1A) werden ebenfalls mit LVNC in Verbindung gebracht [23].

Mittels genetischer Diagnostik lässt sich mit 35–40 % im Vergleich zu AHF ein deutlich höherer Prozentsatz an Mutationen bei den betroffenen Personen mit LVNC identifizieren [23, 25, 29]. Dies könnte, trotz der großen Vielfalt an unterschiedlichen Genen, an einem gemeinsamen Entstehungsmechanismus liegen, der auf unterschiedliche Art und Weise während der Entwicklung gestört wird.

Zusammenfassung/Statement/Ausblick

Ätiologisch ist davon auszugehen, dass ein großer Anteil der syndromalen Herzfehler durch Neumutationen verursacht wird [6, 30]. Auch wenn sich aktuell nur ein kleiner Teil der nicht-syndromalen Herzfehler erklären lässt, so zeigt sich doch, dass von einem Elternteil vererbte LOF-Mutationen eine wichtige Rolle spielen. Um jedoch bei Patienten mit syndromalen Herzfehlern alle dominanten Krankheitsgene zu identifizieren,

müssen über 10.000 Patienten untersucht werden. Aufgrund der niedrigen Penetranz ist diese Herausforderung bei den nicht-syndromalen Herzfehlern sogar noch größer. Dies zeigt jedoch, dass internationale Kollaborationen und ein aktiver Datenaustausch unumgänglich sind, um einen tieferen Einblick in die genetische Architektur von AHF gewinnen zu können.

Auch wenn in diesem Review nur die wichtigsten Gene bei AHF besprochen werden konnten, so stellen sie einen guten Ausgangspunkt für die Zusammensetzung von Genpanels dar [31], ohne einen Anspruch auf Vollständigkeit zu erheben. Panelanalysen in ausgewählten Patientengruppen, wie bspw. Familien oder syndromale Patienten mit AHF, konnten ihren Nutzen bereits mehrfach beweisen (bspw. Nextera Illumina Cardiopanel und Mendeliom Panel). So konnte bei 13 Familien mit isolierten AHF mittels Paneldiagnostik gefolgt von Segregationsanalysen in 46 % der Fälle eine genetische Diagnose gestellt werden [32].

Panel- sowie auch genomweite Array-CGH-Analysen sollten somit am Anfang der sequenziellen Diagnostik insbesondere bei familiären und syndromalen Patienten mit AHF stehen und die darauf zu findenden Gene sollten im Rahmen von Validierungsanalysen konsequent reevaluiert werden. Patienten, bei denen aktuell keine Diagnose möglich ist, sollten im Rahmen großer deutscher und/oder internationaler Studien mittels „Whole Exome Sequencing“ (WES) oder „Whole Genome sequencing“ (WGS) untersucht werden. Die hierbei gewonnenen Erkenntnisse sollten das Design zukünftiger Genpanels maßgeblich beeinflussen.

Um eine hohe Akzeptanz und Transparenz bei Patienten und Ärzten/Forschern zu erreichen, ist es anzustreben, neben der Etablierung sogenannter Genregister, welche die bereits in diesem Review erwähnten Informationen zur Allelität und bekannten molekularen Mechanismen enthalten (bspw. LOF, Gain-of-Function und Haploinsuffizienz), auch Zugang zu den primären Daten mittels eines kontrollierten „Access Committees“ zu ermöglichen. Es wäre vorstellbar, die bereits existierenden

Strukturen des deutschen „Kompetenznetz für angeborene Herzfehler e. V.“ um ein solches genetisches Register zu ergänzen. Auf diesem Weg könnten zukünftig zum Nutzen der Patienten auf internationaler Ebene auch die sehr seltenen krankheitsverursachenden Mutationen gefunden werden.

Der geschilderte Ansatz würde mit stetig größer werdender Anzahl von Patienten mit spezifischen Mutationen in krankheitsverursachenden Genen eine Eingruppierung in therapeutisch sinnvolle Subgruppen und eine zukünftige Risikostratifizierung ermöglichen.

Fazit für die Praxis

- Aktuell lassen sich ca. 30 % der syndromalen und 10 % der nicht-syndromalen Herzfehler auf genetischer Ebene klären.
- Syndromale AHF werden vorzugsweise durch Neumutationen verursacht, wohingegen bei nicht-syndromalen komplexere Mechanismen, wie bspw. vererbte LOF-Mutationen eine Rolle spielen.
- Auch wenn eine Paneldiagnostik nur einen kleinen Teil der kausalen Gene identifizieren kann, so sollte sie doch Teil eines sequenziellen diagnostischen Vorgehens bei familiären und syndromalen Fällen von AHF werden.
- Valide Datenbanken, die sowohl der Forschung als auch der Diagnostik, anhand von klar definierten Evidenzkriterien zur Verfügung gestellt werden, sind unumgänglich, um eine bessere Genotyp-Phänotyp-Korrelation zu etablieren und zukünftig potenziell therapeutische Ansätze zu ermöglichen.

Korrespondenzadresse

Dr. med. M.-P. Hitz, PhD

Klinik für angeborene Herzfehler und Kinderkardiologie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein Campus Kiel
Kiel, Deutschland
Marc-Phillip.Hitz@uksh.de

Danksagung. Wir danken Frau PD Dr. A. Caliebe, Herrn Prof. Dr. H.H. Kramer und Frau Prof. Dr. E. Schröck für die kritische Durchsicht dieses Übersichtsartikels und ihre anregenden Kommentare.

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. A.-K. Kahlert, K. Hoff und M.-P. Hitz geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Dieser Beitrag beinhaltet keine von den Autoren durchgeführten Studien an Menschen oder Tieren.

Open Access. Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>) veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Literatur

1. Tennant PW, Pearce MS, Bythell M, Rankin J (2010) 20-year survival of children born with congenital anomalies: a population-based study. *Lancet* 375:649–656
2. Fahed AC, Gelb BD, Seidman JG, Seidman CE (2013) Genetics of congenital heart disease: the glass half empty. *Circ Res* 112:707–720
3. Oyen N, Poulsen G, Boyd HA, Wohlfahrt J, Jensen PK, Melbye M (2009) National time trends in congenital heart defects, Denmark, 1977–2005. *Am Heart J* 157:467–473.e1
4. Talner CN (1998) Report of the New England Regional Infant Cardiac Program, by Donald C. Fyler, MD. *Pediatrics*. 1980;65(suppl):375–461. *Pediatrics* 102:258–259
5. Gelb BD, Chung WK (2014) Complex genetics and the etiology of human congenital heart disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* 4:a013953
6. Homzy J, Zaidi S, Shen Y, Ware JS, Samocha KE, Karczewski KJ, DePalma SR, McKean D, Wakimoto H, Gorham J et al (2015) De novo mutations in congenital heart disease with neurodevelopmental and other congenital anomalies. *Science* 350:1262–1266
7. Oyen N, Poulsen G, Boyd HA, Wohlfahrt J, Jensen PK, Melbye M (2009) Recurrence of congenital heart defects in families. *Circulation* 120:295–301
8. Pierpont ME, Basson CT, Benson DW Jr., Gelb BD, Giglia TM, Goldmuntz E, McGee G, Sable CA, Srivastava D, Webb CL (2007) Genetic basis for congenital heart defects: current knowledge: a scientific statement from the American Heart Association Congenital Cardiac Defects Committee, Council on Cardiovascular Disease in the Young: endorsed by the American Academy of Pediatrics. *Circulation* 115:3015–3038
9. Botto LD, May K, Fernhoff PM, Correa A, Coleman K, Rasmussen SA, Merritt RK, O’Leary LA, Wong LY, Elixson EM et al (2003) A population-based study of the 22q11.2 deletion: phenotype, incidence, and contribution to major birth defects in the population. *Pediatrics* 112:101–107
10. Nevis K, Obregon P, Walsh C, Guner-Ataman B, Burns CG, Burns CE (2013) Tbx1 is required for second heart field proliferation in zebrafish. *Dev Dyn* 242:550–559
11. Li DY, Brooke B, Davis EC, Mecham RP, Sorensen LK, Boak BB, Eichwald E, Keating MT (1998) Elastin is an essential determinant of arterial morphogenesis. *Nature* 393:276–280
12. Euteneuer J, Carvalho CM, Kulkarni S, Vineyard M, Grady RM, Lupski JR, Shinawi M (2014) Molecular and phenotypic characterization of atypical Williams-Beuren syndrome. *Clin Genet* 86:487–491
13. Kozel BA, Knutson RH, Ye L, Ciliberto CH, Broekelmann TJ, Mecham RP (2011) Genetic modifiers of cardiovascular phenotype caused by elastin haploinsufficiency act by extrinsic noncomplementation. *J Biol Chem* 286:44926–44936
14. Sifrim A, Hitz MP, Wilsdon A, Breckpot J, Turki SH, Thienpont B, McRae J, Fitzgerald TW, Singh T, Swaminathan GJ et al (2016) Distinct genetic architectures for syndromic and nonsyndromic congenital heart defects identified by exome sequencing. *Nat Genet* 48:1060–1065
15. Schott JJ, Benson DW, Basson CT, Pease W, Silberbach GM, Moak JP, Maron BJ, Seidman CE, Seidman JG (1998) Congenital heart disease caused by mutations in the transcription factor NKX2-5. *Science* 281:108–111
16. Garg V, Muth AN, Ransom JF, Schluterman MK, Barnes R, King IN, Grossfeld PD, Srivastava D (2005) Mutations in NOTCH1 cause aortic valve disease. *Nature* 437:270–274
17. Greenway SC, Pereira AC, Lin JC, DePalma SR, Israel SJ, Mesquita SM, Ergul E, Conta JH, Korn JM, McCarroll SA et al (2009) De novo copy number variants identify new genes and loci in isolated sporadic tetralogy of Fallot. *Nat Genet* 41:931–935
18. Hitz MP, Lemieux-Perreault LP, Marshall C, Feroz-Zada Y, Davies R, Yang SW, Lionel AC, D’Amours G, Lemyre E, Cullum R et al (2012) Rare copy number variants contribute to congenital left-sided heart disease. *PLoS Genet* 8:e1002903
19. Erdogan F, Larsen LA, Zhang L, Turner Z, Tommerup N, Chen W, Jacobsen JR, Schubert M, Jurkatis J, Tschach A et al (2008) High frequency of submicroscopic genomic aberrations detected by tiling path array comparative genome hybridisation in patients with isolated congenital heart disease. *J Med Genet* 45:704–709
20. Postma AV, van Engelen K, van de Meerakker J, Rahman T, Probst S, Baars MJ, Bauer U, Pickardt T, Sperling SR, Berger F et al (2011) Mutations in the sarcomere gene MYH7 in Ebstein anomaly. *Circ Cardiovasc Genet* 4:43–50
21. Matsson H, Eason J, Bookwalter CS, Klar J, Gustavsson P, Sunnegardh J, Enell H, Jonzon A, Viikula M, Gutierrez I et al (2008) Alpha-cardiac actin mutations produce atrial septal defects. *Hum Mol Genet* 17:256–265
22. Granados-Riveron JT, Ghosh TK, Pope M, Bu’Lock F, Thornborough C, Eason J, Kirk EP, Fatkin D, Feneley MP, Harvey RP et al (2010) Alpha-cardiac myosin heavy chain (MYH6) mutations affecting myofibril formation are associated with congenital heart defects. *Hum Mol Genet* 19:4007–4016
23. Towbin JA, Lorts A, Jefferies JL (2015) Left ventricular non-compaction cardiomyopathy. *Lancet* 386:813–825
24. Bleyl SB, Mumford BR, Brown-Harrison MC, Pagotto LT, Carey JC, Pysher TJ, Ward K, Chin TK (1997) Xq28-linked noncompaction of the left ventricular myocardium: prenatal diagnosis and pathologic analysis of affected individuals. *Am J Med Genet* 72:257–265
25. Probst S, Oechslin E, Schuler P, Greutmann M, Boye P, Knirsch W, Berger F, Thierfelder L, Jenni R, Klaassen S (2011) Sarcomere gene mutations in isolated left ventricular noncompaction cardiomyopathy

- do not predict clinical phenotype. *Circ Cardiovasc Genet* 4:367–374
26. Williams T, Machann W, Kuhler L, Hamm H, Muller-Hocker J, Zimmer M, Ertl G, Ritter O, Beer M, Schonberger J (2011) Novel desmoplakin mutation: juvenile biventricular cardiomyopathy with left ventricular non-compaction and acantholytic palmoplantar keratoderma. *Clin Res Cardiol* 100:1087–1093
27. Arndt AK, Schafer S, Drenckhahn JD, Sabeh MK, Plovie ER, Caliebe A, Kloocki E, Musso G, Werdich AA, Kalwa H et al (2013) Fine mapping of the 1p36 deletion syndrome identifies mutation of PRDM16 as a cause of cardiomyopathy. *Am J Hum Genet* 93:67–77
28. Luxan G, Casanova JC, Martinez-Poveda B, Prados B, D'Amato G, MacGrogan D, Gonzalez-Rajal A, Dobarro D, Torroja C, Martinez F et al (2013) Mutations in the NOTCH pathway regulator MIB1 cause left ventricular noncompaction cardiomyopathy. *Nat Med* 19:193–201
29. Hoedemaekers YM, Caliskan K, Michels M, Frohn-Mulder I, van der Smagt JJ, Phefferkorn JE, Wessels MW, ten Cate FJ, Sijbrands EJ, Dooijes D et al (2010) The importance of genetic counseling, DNA diagnostics, and cardiologic family screening in left ventricular noncompaction cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet* 3:232–239
30. Zaidi S, Choi M, Wakimoto H, Ma L, Jiang J, Overton JD, Romano-Adesman A, Bjornson RD, Breitbart RE, Brown KK et al (2013) De novo mutations in histone-modifying genes in congenital heart disease. *Nature* 498:220–223
31. Schulze-Bahr E, Klaassen S, Abdul-Khalil H, Schunkert H (2015) Molecular diagnosis for cardiovascular diseases. *Dtsch Med Wochenschr* 140:1538
32. Jia Y, Louw JJ, Breckpot J, Callewaert B, Barrea C, Sznajer Y, Gewillig M, Souche E, Dehaspe L, Vermeesch JR et al (2015) The diagnostic value of next generation sequencing in familial nonsyndromic congenital heart defects. *Am J Med Genet A* 167:1822–1829