

<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2023.03.35-46>

## Новая нонсенс-замена в гене *CHD7* у пациента с синдромом *CHARGE* в Якутии

Кларов Л.А.<sup>1,2</sup>, Пшенникова В.Г.<sup>1</sup>, Терютин Ф.М.<sup>1</sup>, Лугинов Н.В.<sup>2,3</sup>, Котляров П.М.<sup>4</sup>, Барашков Н.А.<sup>1</sup>

- 1 – ФГБНУ «Якутский научный центр комплексных медицинских проблем»  
677000, г. Якутск, ул. Ярославского, д. 6/3
- 2 – ГАУ Республиканская больница №1 – Национальный центр медицины  
677010, г. Якутск, Сергеляхское шоссе, д.4
- 3 – ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова»  
677000, г.Якутск, ул. Белинского, д. 58
- 4 – ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Минздрава России  
117997, г. Москва, ул. Профсоюзная, д. 86

Синдром CHARGE – редкое аутосомно-доминантное заболевание, вызванное мутационными повреждениями в генах *CHD7* и *SEMA3E* (OMIM 214800). Распространенность составляет примерно 1 случай на 12000 новорожденных. Большинство случаев синдрома CHARGE обусловлено *de novo* патогенными вариантами гена *CHD7*, кодирующего ДНК-связывающий белок хромодомена хеликазы 7, который ответственен за организацию хроматина. Аббревиатура «CHARGE» обобщает шесть клинических признаков синдрома: C (coloboma) – глазная колобома, H (heart defects) – пороки сердца, A (atresia of choanae) – атрезия хоан, R (retardation of growth) – задержка роста и / или развития, G (genital anomalies) – аномалии гениталий, E (ear abnormalities) – аномалии уха. В настоящей работе представлен клинический случай с ранее не описанной нонсенс заменой с.1940C>G (p.Ser647\*) в гене *CHD7*, выявленной методом полноэкзомного секвенирования у пациента с недифференцированной формой потери слуха и множественными аномалиями развития. В результате клинико-генетического обследования у пациента выявлено 7 признаков, соответствующих обновленным диагностическим критериям синдрома CHARGE: три основных (аномалии внутреннего уха, глазная колобома и патогенные мутации в гене *CHD7*) и четыре второстепенных признака (задержка умственного развития, врожденный порок сердца, гипоталамо-гипофизарная дисфункция и дисфункция черепных нервов). В работе обсуждается связь с данным синдромом выявленных двух дополнительных признаков со стороны опорно-двигательного аппарата и эндокринной системы, не включенных в последнюю версию диагностических критериев синдрома CHARGE. Мы надеемся, что пристальное внимание к генотип-фенотипическим особенностям поможет определить, как лучше диагностировать, консультировать и оказывать необходимую медицинскую и социальную помощь пациентам с подобными редкими заболеваниями.

**Ключевые слова:** синдром CHARGE, ген *CHD7*, расстройства, связанные с *CHD7*, генотип-фенотипический анализ, полноэкзомный анализ, Якутия.

**Для цитирования:** Кларов Л.А., Пшенникова В.Г., Терютин Ф.М., Лугинов Н.В., Котляров П.М., Барашков Н.А. Новая нонсенс-замена в гене *CHD7* у пациента с синдромом CHARGE в Якутии. *Медицинская генетика* 2023; 22(3): 35-46.

**Автор для корреспонденции:** Кларов Л.А.; e-mail: eizonix@gmail.com

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках НИР ЯНЦ КМП «Изучение генетической структуры и груза наследственной патологии в популяциях Республики Саха (Якутия), а также при поддержке гранта РФФИ (№20-015-00328\_A).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Поступила:** 10.03.2023

## A novel nonsense variant in the *CHD7* gene in a patient with CHARGE syndrome in Yakutia

Klarov L.A.<sup>1,2</sup>, Pshennikova V.G.<sup>1</sup>, Teryutin F.M.<sup>1</sup>, Luginov N.V.<sup>2,3</sup>, Kotlyarov P.M.<sup>4</sup>, Barashkov N.A.<sup>1</sup>

- 1 – Yakutsk Scientific Center for Complex Medical Problems  
6/3, Yaroslavskogo str., Yakutsk, 677000, Russian Federation
- 2 – Republican Hospital No. 1 - National Center of Medicine  
4, Sergelyakhskoye Highway, Yakutsk, 677010, Russian Federation
- 3 – North-Eastern Federal University. M.K. Ammosov  
68, Belinsky str., Yakutsk, 677000, Russian Federation
- 4 – Russian Scientific Center for Radiology of the Ministry of Health of Russia  
86, Profsoyuznaya str., Moscow, 117997, Russian Federation

CHARGE syndrome is a rare autosomal dominant disease caused by mutational lesions in the *CHD7* and *SEMA3E* genes (OMIM 214800). The prevalence is approximately 1 in 12,000 newborns. Most cases of CHARGE syndrome are caused by *de novo* pathogenic variants of

the *CHD7* gene, which encodes the DNA-binding protein helicase 7 chromodomain, which is responsible for chromatin organization. The abbreviation "CHARGE" summarizes six clinical signs of the syndrome: C - coloboma, H - heart defects, A - atresia of choanae, R - retardation of growth and/or development, G - genital anomalies, E - ear abnormalities. This paper presents a genotype-phenotypic analysis of a case with a previously unknown nonsense substitution c.1940C>G (p.Ser647\*) in the *CHD7* gene, identified by whole exome sequencing in a patient with an initially undifferentiated form of hearing loss associated with multiple developmental anomalies. As a result of a clinical examination, the patient revealed 7 signs that correspond to the updated diagnostic criteria for CHARGE syndrome: three main ones (anomalies of the inner ear, ocular coloboma and pathogenic variant in the *CHD7* gene) and four secondary signs (mental retardation, congenital heart disease, cranial nerve dysfunction, hypothalamic-pituitary dysfunction). The paper discusses the relationship with this syndrome of the identified two additional signs from the endocrine system and the musculoskeletal system, not included in the latest version of the diagnostic criteria for the CHARGE syndrome. We hope that close attention to genotype-phenotypic characteristics will help determine how best to diagnose, counsel and provide the necessary medical and social care for patients with such rare diseases.

**Keywords:** CHARGE syndrome, *CHD7* gene, *CHD7*-associated disorders, genotype-phenotypic analysis, whole exome analysis, Yakutia.

**For citation:** Klarov L.A., Pshennikova V.G., Teryutin F.M., Luginov N.V., Kotlyarov P.M., Barashkov N.A. A novel nonsense variant in the *CHD7* gene in a patient with CHARGE syndrome in Yakutia. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]* 2023; 22(3): 35-46. (In Russ.)

**Corresponding author:** Klarov L.A.; **email:** eizonix@gmail.com

**Funding.** This study was supported by research work of the YSC CMP «Study of the genetic structure and burden of hereditary pathology in the populations of the Republic of Sakha (Yakutia)», as well as RFBR grant (No. 20- 015-00328\_A).

**Conflict of interest.** The authors declare no conflicts of interest.

**Accepted:** 10.03.2023

## Введение

Синдром CHARGE – наследственное аутосомно-доминантное заболевание, вызванное мутационными повреждениями генов *CHD7* и *SEMA3E* (OMIM 214800). Распространенность составляет примерно 1 случай на 12000 [1], но в некоторых провинциях Канады может достигать 1 на 8500 новорожденных [2]. В большинстве случаев синдрома CHARGE были выявлены *de novo* патогенные и вероятно патогенные варианты в гене *CHD7*, расположенном в локусе (8q12.1) хромосомы 8, который состоит из 38 экзонов и кодирует белок CHD7 (ДНК-связывающий белок хромодомена хеликазы 7), ответственный за организацию хроматина [3]. CHD7 принадлежит к семейству хромодоменных белков (CHD1-CHD9), которые действуют посредством модификаций доступа к транскрипционному аппарату матрицы хромосомной ДНК, изменяя структуру хроматина [4]. Белок CHD7 необходим для формирования мультитентного мигрирующего нервного гребня (временной клеточной популяции эктодермального происхождения), который в дальнейшем подвергается транскрипционному перепрограммированию, давая начало черепно-лицевым костям и хрящам, периферической нервной системе, пигментам и сердечно-сосудистым структурам [5]. Показано, что CHD7 участвует в активации схемы транскрипции нервного гребня, включая ключевые транскрипционные белки SOX9, TWIST и SLUG [5].

Впервые данный синдром был описан в 1979 г. Б. Холлом у 17 детей как атрезия хоан, ассоциированная с множественными аномалиями [6], в том же году Х. Гиттнер с соавт. опубликовали данные о 10 пациентах с множественными аномалиями и колобомой [7]. Некоторое время данный синдром был известен как синдром Холла-Гиттнер, однако в 1981 г. Р. Пэгон с соавт. [8] ввели аббревиатуру «CHARGE», обобщающую шесть основных клинических признаков данного синдрома: С (coloboma) – глазная колобома, Н (heart defects) – пороки сердца любого типа, А (atresia of choanae) – атрезия хоан, R (retardation of growth) – задержка роста и / или развития, G (genital anomalies) – аномалии гениталий, E (ear abnormalities) – аномалии уха (аномалии ушных раковин, среднего и внутреннего уха, потеря слуха). Классически, чтобы поставить клинический диагноз синдрома CHARGE, было необходимо наличие 4 из 6 признаков [9], при этом обязательно должны были присутствовать атрезия хоан и/или колобома [8].

Со временем диагностические критерии синдрома CHARGE расширились и включали все больше симптомов и признаков [10, 11]. Часть из них наблюдалась при других синдромах, например, гипогонадотропном гипогонадизме 5 типа с аносмией (синдром Каллманна) или без нее (OMIM 612370), который также вызван мутационными повреждениями гена *CHD7* и считает-

ся легким аллельным вариантом синдрома CHARGE. Диагностические критерии Э. Верлу 2005 г. включали больше второстепенных признаков и три типа проявлений: типичный, частичный и атипичный CHARGE синдром, что, конечно же, затрудняло постановку диагноза и запоминание врачами симптомов (табл. 1). С развитием молекулярно-генетических методов диагностики К. Хейл в 2016 г. [12] окончательно упростила постановку диагноза с определением всего двух из основных симптомов и любого количества второстепенных признаков, введя в основные признаки наличие патогенных вариантов в гене *CHD7* (табл. 1). Диагностические критерии синдрома CHARGE, используемые в разные годы, представлены в табл. 1.

Обновление диагностических критериев синдрома CHARGE [12] с учетом данных молекулярно-генетического анализа ввело в клинический обиход новое понятие «расстройства, связанные с геном *CHD7*». Данная формулировка по смыслу оказалась гораздо

шире термина «синдром», поскольку учитывает молекулярную природу патологии и объединяет такие аллельные заболевания, как синдром CHARGE (OMIM 214800), идиопатический гипоганодотропный гипогонадизм 5 типа с аносмией (синдром Каллмана) или без нее (OMIM 612370) и, что очень важно, ряд состояний с нарушениями аутистического спектра (не каталогизированы), которые ранее по клиническим критериям не соответствовали ни одному из описанных синдромов. При этом авторы подчеркивают важность клинических признаков и не призывают отказываться от привычных терминов и эпонимических названий, вводя «надстроечные» понятия в существующие контексты нозологий [12]. Кроме того, авторы всех диагностических критериев, в той или иной степени стремились учесть тяжесть состояний, разграничив «тяжелые» (типичные) и «более легкие формы» (частичные, атипичные). Исходя из современных представлений о природе данных состояний как о расстройствах, свя-

**Таблица 1. Диагностические критерии синдрома CHARGE годы**

**Table 1. Diagnostic criteria for CHARGE syndrome**

Pagon (1981)	Blake (1998)	Verloes (2005)	Hale (2016)
<p><b>C</b> (coloboma) – Колобома  <b>H</b> (heart defects) – Пороки сердца  <b>A</b> (atresia of choanae) – Атрезия хоан  <b>R</b> – (retardation of growth) Задержка умственного и соматического развития  <b>G</b> – (genital anomalies) Генитальные аномалии  <b>E</b> – (ear abnormalities) Пороки развития уха</p>	<p>Основные признаки  Колобома  Атрезия хоан или расщелина неба  Характерная аномалия уха  Дисфункция черепных нервов</p> <p>Второстепенные признаки  Гипоплазия гениталий  Отставание в развитии  Аномалия сердца или дуги аорты  Дефицит гормона роста  Орофациальная расщелина  Трахеопищеводная фистула  Характерное лицо</p>	<p>Основные признаки  Колобома  Атрезия хоан  Гипоплазия полукружных каналов</p> <p>Второстепенные признаки  Аномалия сердца или пищевода  Аномалия наружного или среднего уха  Ромбэнцефалическая дисфункция, в том числе сенсоневральная потеря слуха  гипоталамо-гипофизарная дисфункция (дефицит гонадотропина или гормона роста)  Интеллектуальная недееспособность</p>	<p>Основные признаки  Колобома  Атрезия хоан или расщелина неба  Аномалия наружного, среднего или внутреннего уха  Патогенные варианты в гене <i>CHD7</i></p> <p>Второстепенные признаки  Дисфункция черепных нервов  Дисфагия или нарушение питания  Структурные аномалии головного мозга  Задержка умственного развития или аутизм  Гипоталамо-гипофизарная дисфункция (дефицит гонадотропина или гормона роста) и аномалии гениталий  Порок развития сердца или пищевода  Аномалии почек  Аномалии скелета/конечностей</p>
<p><b>Правила включения</b>  Присутствие 4 признаков из 6</p>	<p><b>Правила включения</b>  4 основных или 3 основных + 3 второстепенных признака</p>	<p><b>Правила включения</b>  Типичный CHARGE:  3 основных или 2 основных + 2 второстепенных;  Частичный CHARGE: 2 основных + 1 из второстепенных признаков;  Атипичный CHARGE: 2 основных + 0 второстепенных или 1 основной + 3 второстепенных</p>	<p><b>Правила включения</b>  2 основных признака + любое количество второстепенных</p>

занных с геном *CHD7*, все случаи условно можно подразделить на обусловленные миссенс-вариантами — более «мягкие» формы (например, большинство случаев синдрома Каллманна, как оказалось, обусловлены миссенс-заменами гена *CHD7*) [13] и варианты, приводящие к преждевременной терминации трансляции полипептидной цепи или отсутствию белка (делеции, инсерции, нонсенс-замены и хромосомные абберации) — более «тяжелые» формы (например, большинство случаев классического синдрома CHARGE) [12].

В настоящее время актуальными являются фенотипические характеристики пациентов с различными вариантами гена *CHD7* для составления более полной клинической картины с описанием второстепенных симптомов или ранее не зарегистрированных признаков.

В связи с этим целью данной работы было описание случая синдрома CHARGE с новой нонсенс-заменой в гене *CHD7*, выявленной у пациента с первоначально недифференцированной формой потери слуха и множественными аномалиями развития.

## Методы

### *Пациент с синдромом CHARGE*

Пациент мужского пола, 2004 года рождения, родился естественным путем на 39 неделе с весом 3,5 кг, без осложнений, оценка по Апгар 7/8, закричал сразу. Вскармливание искусственное с рождения, прикорм с 6 мес. Психомоторное развитие с темповым отставанием. Профилактические прививки по графику. В 2014 году пациент поступил на обследование в ГАУ Республиканская больница №1 — Национальный центр медицины для подготовки к операции кохlearной имплантации. Прошел обследование у сурдолога, офтальмолога, кардиолога, невролога, ортопеда, уролога и эндокринолога.

### *Компьютерная томография*

КТ височных костей (до кохlearной имплантации) проведено на компьютерном томографе GE Optima 660 (64 срезовый), толщина среза 1 мм. При визуализации структур пирамиды височной кости использованы 2D изображения как в нативных аксиальных плоскостях, так и в режиме MPR-реформации с использованием «костного» фильтра с шириной окна 4000 ед.Н, уровнем окна +700 ед.Н. В исследовании использовали имеющиеся классификации аномалий височной кости [14-16]. Полное КТ-обследование организма (после кохlearной имплантации) проведено на ком-

пьютерном томографе Siemens GoUp (64 срезовый) с толщиной среза 1 мм. Исследование проводилось с болюсным введением рентгеноконтрастного вещества Ультравист 370. Исследование проводилось в режиме CareDose с фильтрами ионизирующего излучения для снижения лучевой нагрузки. Было проведено 4-фазное сканирование при болюсном контрастировании для визуализации системы кровообращения и накопления в паренхиматозных органах: нативное, артериальная, венозная и паренхиматозная фазы. Также была применена коронарная мультипланарная реформация по минимальной интенсивности MinPR, со слэбом 30 см, всего организма с приподнятыми руками от уровня локтей до колен. Контрастирование на серии томограмм после кохlearной имплантации проводилось контрастом Ультравист 370-40 мл в артериальную, венозную и отсроченную фазы. Исследование проводилось на компьютерном томографе, который имел оловянный фильтр и функцию программного снижения дозы CareDose, позволяющую без высокой ионизирующей нагрузки сканировать протяженные области.

### *Молекулярно-генетический анализ*

У пациента была выделена геномная ДНК методом фенольно-хлороформной экстракции. Полноэкзомный анализ проведен методом парно-концевого чтения (2x151 п.н.) со средним покрытием не менее 70-100x. Для пробоподготовки была использована методика селективного захвата участков ДНК, относящихся к кодирующим областям генов человека. Обработка данных полноэкзомного секвенирования проведена с использованием автоматизированного алгоритма, включающего выравнивание прочтений на референсную последовательность генома человека (hg19), постпроцессинг выравнивания, выявление вариантов и фильтрацию вариантов по качеству, а также аннотацию выявленных вариантов по всем известным транскриптам каждого гена из базы RefSeq с применением ряда методов предсказания функциональной значимости замен (SIFT, PolyPhen2-HDIV, PolyPhen2-HVAR, MutationTaster, LRT), а также методов расчета эволюционной консервативности позиций (PhyloP, PhastCons). Для оценки популяционных частот выявленных вариантов использованы данные из проектов «1000 геномов», ESP6500 и Exome Aggregation Consortium.

Определение нуклеотидной последовательности фрагмента второго экзона гена *CHD7* было проведено методом прямого секвенирования по Сэнгеру на генетическом анализаторе ABI Prism 3130XL («Applied Biosystems», USA) с помощью набора реагентов Big

DYEnamictm ET terminator cycle sequencing premix kit («Amersham Pharmacia Biotech», Sweden). Для определения первичной структуры ДНК продукты ПЦР были подвергнуты очистке на магнитных частицах с использованием роботизированной станции ТЕКАН гель-фильтрацией через колонку с сорбентом с последующей ферментативной реакцией секвенирования по Сэнгеру. Для расшифровки секвенограмм использован пакет компьютерных программ «Chromas» (Version 2.0). ПЦР-ПДРФ анализ был проведен с использованием эндонуклеазы рестрикции *AsuHPI* и детекцией фрагментов в 4% агарозном геле. При замене с.1940С>G появляется один сайт рестрикции для *AsuHPI*. Для определения пространственной структуры нативного и мутантного белков *CHD7* был применен алгоритм i-Tasser. Цветовое картирование проводилось на программе PyMol со спектральным цветовым градиентом по B-factor.

Данная работа одобрена локальным этическим комитетом при ГБУ РБ№2 – ЦЭМП (протокол №2 от 24 декабря 2015 года, решение №2). Аудиологический анализ, КТ-исследования и забор венозной крови проведены с информированного письменного согласия пациентов (старше 18 лет) или с согласия родителей пациентов (младше 18 лет).

## Результаты

### Результаты клинического обследования

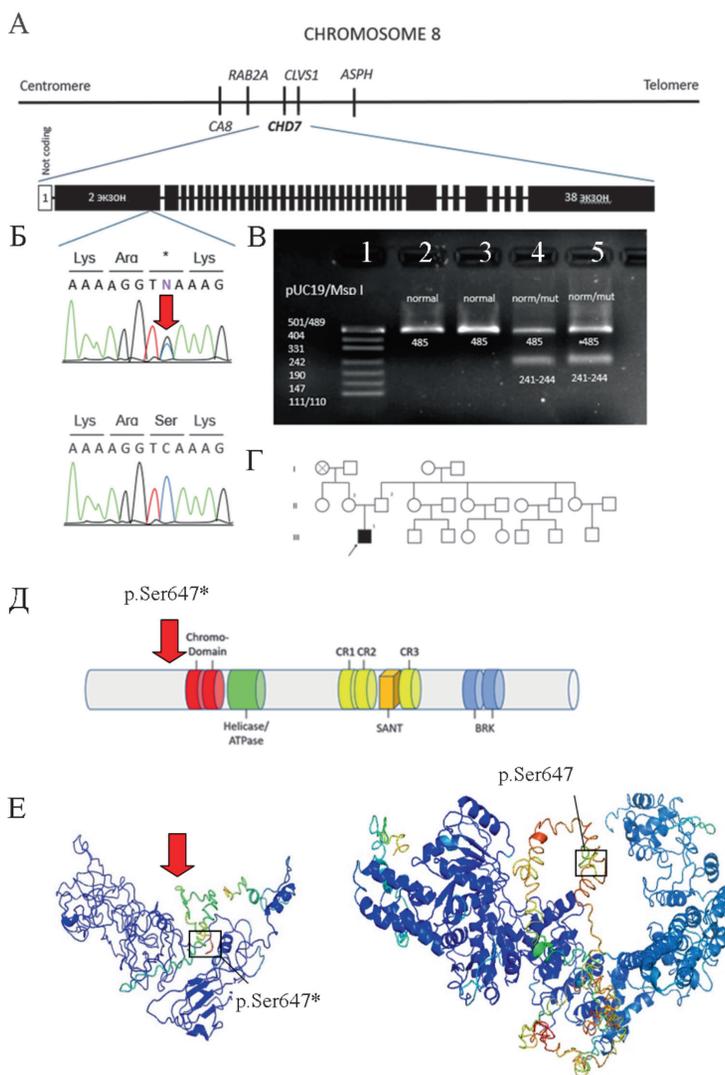
Пациенту при рождении установлены врожденный порок сердца (дефект межжелудочковой перегородки, открытый аортальный проток), микроцефалия, врожденная колобома сосудистой оболочки ОУ (с обеих сторон). В 2004 г. пациенту провели операцию по поводу врожденного порока сердца. В дальнейшем при прохождении обследования у кардиолога и ЭХОКГ пороков не обнаруживалось. При осмотре психиатром в 2014 г. был поставлен диагноз *умственная отсталость легкой степени*. Пациент состоит на учете с рождения в Сурдологопедическом центре Республиканской больницы №1 – НЦМ МЗ Республики Саха (Якутия) (г. Якутск) с диагнозом: *двусторонняя глухота* (состояние после кохлеарной имплантации в 2017 г.). В 2010 году пациент прошел обследование у сурдолога и РКТ височных костей (в 6 полных лет), где были обнаружены гипоплазия улитки и недоразвитие преддверия с обеих сторон и поставлен диагноз *двусторонняя глухота*. В 2014 г. пациент поступил на обследование в ГАУ Республиканская больница №1 – Национальный центр медицины для подготовки к операции кохлеарной имплантации. В возрасте 14 лет про-

ведена операция – кохлеарная имплантация в ФГБУ СЗОНКЦ им. Л.Г.Соколова ФМБА России. После имплантации глухота сохранилась. На приеме у невролога у пациента было обнаружено, что глазные щели шире справа. Отмечался расходящийся страбизм за счет левого глазного яблока, при этом движение глазных яблок сохранено в полном объеме. Отмечались нистагм, парез лицевого нерва справа, сглажена правая носогубная складка. Мелкая и крупная моторика недостаточны по возрасту. Пациент не ходит на пятках. Сухожильные рефлексы с обеих сторон живые. Тонус мышц в конечностях снижен. Был поставлен диагноз *резидуально-органическое поражение ЦНС, церебростенический синдром*. На приеме у офтальмолога на глазном дне справа выявлена колобома сосудистой оболочки на 9 часах парацентрально. Слева – обширная колобома сосудистой оболочки, захватывающая макулярную область, на внутреннем квадранте фиксированная шварты. Был поставлен диагноз *врожденная аномалия сосудистой оболочки глаза, колобома сосудистой оболочки глаза ОУ, миопия 3 степени ОС*. На приеме у уролога и после проведения УЗИ репродуктивных органов был поставлен диагноз *гипоплазия яичек*. На приеме у ортопеда были выявлены аномалия развития позвоночника, нарушение осанки, впадение левой лопатки, укорочение правой нижней конечности. На приеме у кардиолога и после прохождения ЭХОКГ поставлен диагноз: *оперированный врожденный порок сердца, дефект межжелудочковой перегородки, открытый аортальный проток (2004) НКО, эктопический тип*. На приеме у эндокринолога поставлен диагноз *гипоплазия яичек, диффузный зоб 0–1 степени, эутиреоидный эндемический*. Объективно щитовидная железа не увеличена, при пальпации мягко-эластичная. Клинически эутериоз.

### Молекулярно-генетическое исследование

В результате проведенного полноэкзомного секвенирования у пациента выявлена, нонсенс-замена с.1940С>G р.(Ser647\*) в гетерозиготном состоянии в гене *CHD7*, патогенные варианты в котором являются основной причиной синдрома CHARGE (рис. 1 Б, В). В базах данных ClinVar и HGMD данный вариант ранее не был зарегистрирован.

Схема хромосомной локализации и структурные особенности гена *CHD7* представлены на рис. 1А. Со слов матери, наследственность не отягощена, фрагмент родословной представлен на рис. 1Г (другие члены семьи, помимо пробанда не генотипированы). Результаты полноэкзомного секвенирования были верифициро-



**Рис. 1.** Идентификация нонсенс-замены с.1940С>G p.(Ser647\*) в гене *CHD7* у пациента с синдромом CHARGE. **А** – схема хромосомной локализации гена *CHD7*; **Б** – результаты секвенирования фрагмента второго экзона гена *CHD7*: верхняя панель – гетерозигота по мутации с.1940С>G, нижняя панель – норма. **В** – детекция мутации методом ПЦР-ПДРФ. Дорожка 1 – маркер молекулярного веса pUC19/MspI, дорожки 2 и 3 – контрольные образцы без мутации, дорожки 4 и 5 – пробанд с нонсенс-заменой с.1940С>G p.(Ser647\*) в гетерозиготном состоянии; **Г** – фрагмент родословной, пробанд обозначен черным квадратом, здоровые члены семьи обозначены белыми фигурами; **Д** – схематическое изображение функциональных доменов белка *CHD7*: два хромодомена, один хеликазный домен, один SANT (SNF2/SWI) между консервативными районами CR1, CR2 и CR3 и два домена BRK; **Е** – трехмерная пространственная структура *CHD7*, предсказанная i-Tasser. Справа – укороченный белок, состоящий из 646 аминокислотных остатков, слева – нативный белок. Красной стрелкой обозначена выявленная нонсенс-замена на нуклеотидном с.1940С>G и аминокислотном уровне p.Ser647\*.

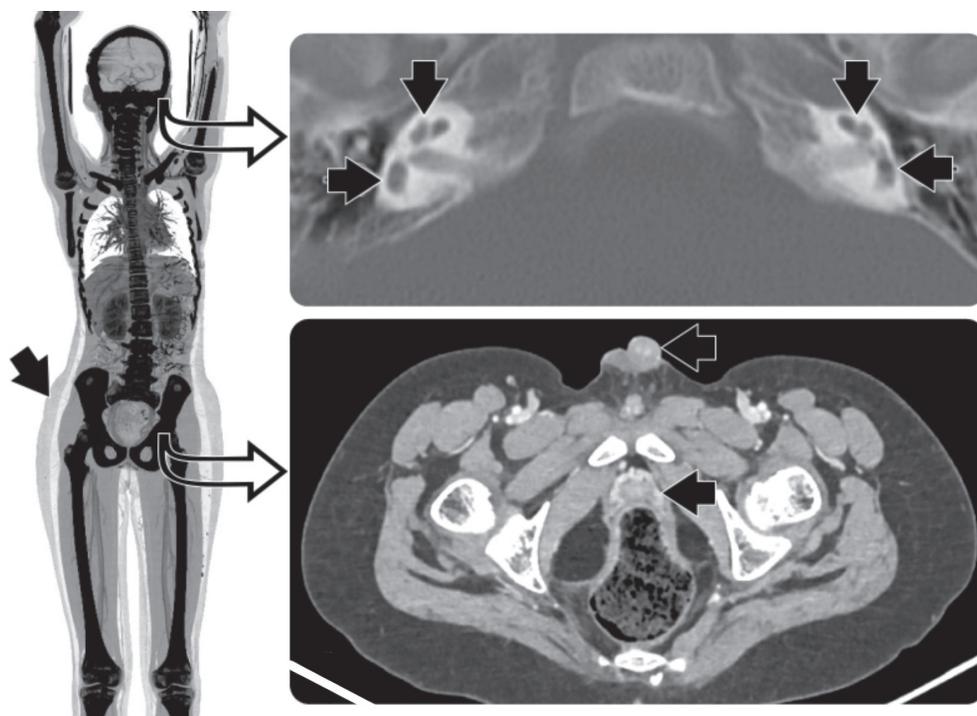
**Fig. 1.** Identification of the c.1940C>G p.(Ser647\*) variant in the *CHD7* gene in the patient with CHARGE syndrome. **A** – scheme of chromosomal localization of the *CHD7* gene; **Б** – fragment of the second exon of the *CHD7* gene sequencing: the upper panel is c.1940C>G heterozygote, the lower panel is normal. **В** – PCR-RFLP *CHD7* c.1940C>G p.(Ser647\*) variant detection. Lane 1, pUC19/MspI molecular weight marker, lanes 2 and 3, control samples without mutation, lanes 4 and 5, proband with heterozygous c.1940C>G p.(Ser647\*); **Г** – fragment of the pedigree, the proband is indicated by a black square, healthy members of the family are indicated by white figures; **Д** – functional domains of the *CHD7* protein: two chromodomains, one helicase domain, one SANT (SNF2/SWI) between conserved regions CR1, CR2, and CR3, and two BRK domains; **Е** – 3D structure of *CHD7* predicted by i-Tasser. On the right is a truncated protein consisting of 646 amino acid residues, on the left is a native protein. The red arrow indicates the identified c.1940C>G p.(Ser647\*) variant.

ваны методом прямого секвенирования по Сэнгеру фрагмента второго экзона гена *CHD7*, а также методом ПЦР-ПДРФ с применением эндонуклеазы рестрикции *AsuHPI* (рисунок 1Б,В). На рисунке 1Е представлена трехмерная структура белка *CHD7* с укороченной последовательностью из 646 аминокислотных остатков из-за образования преждевременного стоп-кодона в результате замены цитозина на гуанин в 1940 нуклеотидном положении гена *CHD7*. Схематичное изображение функциональных доменов белка *CHD7* представлено на рисунке 1Д. По рекомендациям ACMG [16] выявленный впервые вариант с.1940C>G р.(Ser647\*) в гене *CHD7* соответствовал следующим категориям патогенности: PVS1 – варианты, приводящие к прекращению синтеза белка; PM2 – вариант отсутствует в открытых базах данных; PP4 – фенотип пациента или/и семейная история высоко специфичны для за-

болевания с данной генетической этиологией. В целом, по совокупности данных критериев (PVS1+PM2+PP4), вариант был классифицирован нами как патогенный.

#### Компьютерная томография всего тела

На рис. 2А показано полное сканирование пациента с приподнятыми руками от уровня локтей до колен. На коронарной реформации (рис. 2А) всего тела отмечается отложение подкожного жира по женскому типу, преимущественно в бедрах. При исследовании височных костей с обеих сторон (рис. 2В) отмечается гипоплазия улитки [17], преддверие также гипоплазировано, неправильной формы без полукружных каналов, при этом внутреннее слуховое отверстие не сужено, водопровод преддверия не расширен. На томограммах малого таза (рис. 2С) определяются гипотрофированные яички и уменьшенная в размерах предстательная



**Рис. 2.** КТ всего тела пациента с синдромом CHARGE. **А** – MinPR коронарная реформация, с слэбом 30 см, всего организма с приподнятыми руками от уровня локтей до колен. Черная стрелка – отложение подкожного жира в бедрах, по женскому типу. **В** – Аксиальный срез на уровне височных костей. Черная стрелки – внутреннее ухо, гипоплазия улитки, преддверье неправильной формы, гипоплазировано, полукружные каналы не визуализируются. **С** – Аксиальный срез на уровне малого таза. Черные стрелка – недоразвитые яички, небольших размеров предстательная железа.

**Fig. 2.** CT scan of a patient with CHARGE syndrome. **A** - MinPR coronary reformation, with a 30 cm slab, of the whole body with raised arms from elbows to knees. The black arrow is the deposition of subcutaneous fat in the thighs, according to the female type. **B** - Axial section of the temporal bones. Black arrows - cochlear hypoplasia, hypoplasia and irregular shape of the vestibule, semicircular canals are not visualized. **C** - Axial section of the small pelvis. Black arrows - undeveloped testicles, small prostate.

железа. Не было выявлено морфологических изменений со стороны почек, печени и других паренхиматозных органов брюшной полости, а также легких и органов средостения.

### Обсуждение

В соответствии с современными представлениями о природе данной патологии как о расстройствах, связанных с геном *CHD7*, в первую очередь необходимо было подтвердить патогенетический характер выявленной нуклеотидной замены. В нашем случае патогенность замены с.1940C>G гена *CHD7*, выяв-

ленной в гетерозиготном состоянии, теоретически очевидна, поскольку она приводит к замене серина в 647 аминокислотном положении на стоп-кодон р.(Ser647\*) и к преждевременной терминации трансляции полипептидной цепи белка CHD7. Трехмерная структура укороченной мутантной цепи, состоящей из 646 аминокислот, представлена на рис. 1Е. По совокупности критериев, рекомендованных ACMG [16] (PVS1+PM2+PP4), вариант был классифицирован нами как патогенный. На основании полученных результатов нами было проведено генотип-фенотипическое сопоставление, при котором выявлено 7 признаков синдрома CHARGE. Три признака (аномалии вну-

**Таблица 2. Фенотип пациента в сопоставлении с диагностическими критериями синдрома CHARGE [12]**

**Table 2. The patient's phenotype compared to the diagnostic criteria for CHARGE syndrome according to [12]**

Признаки синдрома CHARGE по Хейл	Фенотип пациента с синдромом CHARGE и нонсенс-заменой с.1940C>G р.(Ser647*) в гене <i>CHD7</i>	
<b>Основные диагностические признаки</b>		
Колобома	+	Врожденная аномалия сосудистой оболочки глаз, колобома сосудистой оболочки глаза OU
Атрезия хоан или расщелина неба	–	Не выявлены
Аномалия наружного, среднего или внутреннего уха	+	Аномалия развития внутреннего уха: двусторонняя гипоплазия улитки, полукружные каналы не определяются с обеих сторон, двусторонняя глухота
Патогенные варианты гена <i>CHD7</i>	+	В гене <i>CHD7</i> выявлена нонсенс замена с.1940C>G р.(Ser647*) в гетерозиготном состоянии
<b>Второстепенные диагностические признаки</b>		
Дисфункция черепных нервов	+	Парез лицевого нерва справа, сглажена правая носогубная складка
Дисфагия или нарушение питания	–	Не выявлены
Структурные аномалии головного мозга	–	Не выявлены
Задержка развития интеллекта или аутизм	+	Резидуально-органические поражение ЦНС, церебростенической синдром, умственная отсталость легкой степени
Гипоталамо-гипофизарная дисфункция (дефицит гонадотропина или гормона роста) и аномалии гениталий	+	крипторхизм, задержка полового развития, гипоплазия яичек и предстательной железы по КТ
Порок развития сердца или пищевода	+	Состояние после операции по поводу дефекта межжелудочковой перегородки и открытого аортального протока
Аномалии почек	–	Не выявлены
Аномалии скелета, конечностей	–	Не выявлены
<b>Дополнительные признаки (не включены в диагностические критерии)</b>		
Опорно-двигательный аппарат (описан ряд случаев)		Нарушение осанки. Впалое стояние левой лопатки. Укорочение правой нижней конечности
Щитовидная железа (единичные сообщения)		Диффузный зоб 0-1 степени, эутиреоидный эндемический. Объективно щитовидная железа не увеличена, при пальпации мягко-эластичная

тренного уха, глазная колобома и патогенные варианты в гене *CHD7*), соответствовали основным диагностическим критериям [12]. Четыре признака (задержка умственного развития, врожденный порок сердца, гипоталамо-гипофизарная дисфункция и дисфункция черепных нервов) соответствовали второстепенным диагностическим критериям данного синдрома. На основании полученных результатов (3 основных, 4 второстепенных признака) пациенту подтвержден диагноз *расстройства связанные с геном CHD7, синдром CHARGE*. Фенотип пациента в сопоставлении с диагностическими критериями синдрома CHARGE [12] представлен в **табл. 2**.

### Основные диагностические признаки

**Атрезия хоан или расщелина неба.** По результатам КТ-исследования у пациента не выявлено атрезии хоан, а также не зарегистрировано пороков развития губы и неба – одних из наиболее значимых диагностических признаков синдрома CHARGE. Однако по данным обобщенных генотип-фенотипических исследований атрезия хоан встречалась меньше чем в половине случаев (46–47%), а расщелина неба была зарегистрирована только у 27–38% пациентов с данным синдромом [12, 17-19].

**Аномалии внутреннего уха.** Из основных признаков с большей частотой у пациентов с синдромом CHARGE в мире были зарегистрированы мальформации внутреннего уха (81–96%) [12, 17-19]. В нашем случае у пациента на томограммах височных костей, отмечалась гипоплазия улитки, преддверие также было гипоплазировано, неправильной формы, полукружные каналы не определялись с обеих сторон (рис. 2В). Ряд авторов считает наличие специфических аномалий внутреннего уха, в частности пороки развития полукружных каналов (гипоплазия или их отсутствие), одним из наиболее важных диагностических признаков данного синдрома, наряду с атрезией хоан и глазной колобомой [12, 20,21].

**Глазная колобома.** На втором месте по частоте встречаемости в мире (после аномалий внутреннего уха) у пациентов с синдромом CHARGE была зарегистрирована глазная колобома (66-79%) [12, 17-19]. В нашем случае на глазном дне справа выявлена колобома сосудистой оболочки на 9 часах парацентрально. Слева – обширная колобома сосудистой оболочки, захватывающая макулярную область, на внутреннем квадранте фиксированная шварта (табл. 2).

**Патогенные варианты гена *CHD7*.** Патогенные варианты гена *CHD7* были зарегистрированы с частотой

от 60% до 90% у пациентов с фенотипом синдрома CHARGE [17,19]. В нашем случае у пациента обнаружена ранее незарегистрированная нонсенс-замена с.1940C>G p.(Ser647\*) в гене *CHD7*. Поскольку большинство патогенных вариантов *CHD7*, связанных с CHARGE синдромом, приводит к преждевременной терминации трансляции или частичному отсутствию белка *CHD7* [22], считается, что гаплонедосточность *CHD7* является основным патогенетическим механизмом, лежащим в основе данного синдрома. В пользу этого предположения свидетельствуют случаи синдрома CHARGE с протяженными делециями, захватывающими область гена *CHD7* [23, 24].

Из основных диагностических признаков, ряд авторов призывает обращать внимание на типы аномалий внутреннего уха [11, 20, 21], поскольку аномалии лабиринта (гипоплазия полукружных каналов), в отличие от аномалий улитки, вероятно, имеют тот же уровень диагностической значимости при данном синдроме, что и глазная колобома и атрезия хоан, но встречаются с большей частотой. Эти три несмежных порока развития черепа (атрезия хоан, глазная колобома, аномалии полукружных каналов) связаны с тремя непрерывными эмбриологическими структурами (отической плакодой, зрительным пузырьком и медиальными структурами среднего черепа). Данные признаки не зависят от функциональных критериев, которые вместе с остальными менее специфическими для данного синдрома проявлениями (соответствующие буквам аббревиатуры CHARGE H – врожденные пороки сердца, G – аномалии гениталий, R – умственная отсталость и задержка развития) были отнесены к второстепенным диагностическим признакам [10–12] (**табл. 1**).

### Второстепенные диагностические признаки

Из 8 второстепенных КТ-исследование не подтвердило наличие трех признаков синдрома CHARGE (структурных аномалий головного мозга, скелетных аномалий, аномалий почек и других паренхиматозных органов брюшной полости), а также по результатам клинико-генетического обследования нами не выявлено признаков дисфагии, связанной с нарушениями питания. Из второстепенных в нашем случае были выявлены четыре диагностических признака: задержка умственного развития или аутизм, врожденный порок сердца, гипоталамо-гипофизарная дисфункция, дисфункция черепных нервов.

**Задержка умственного развития или аутизм.** Задержка умственного развития является одним из наиболее распространенных второстепенных призна-

ков данного синдрома и встречается с частотой от 88 до 95% случаев [12,17-19]. В нашем случае, по результатам клинического обследования у пациента выявлены резидуально-органическое поражение ЦНС, церебростенический синдром, умственная отсталость легкой степени. При этом следует отметить, что по данным КТ-исследования мы не выявили морфологических изменений со стороны ЦНС.

**Врожденные пороки сердца или пищевода.** На втором месте из второстепенных признаков находятся врожденные пороки сердца, которые были зарегистрированы в 72-78% всех случаев синдрома CHARGE [12,17-19]. Трахеэзофагеальная фистула встречалась гораздо реже – от 15 до 22% [12,17-19]. Из истории болезни известно, что у пациента при рождении диагностирован врожденный порок сердца (дефект межжелудочковой перегородки, открытый аортальный проток), аномалий пищевода не зарегистрировано. В 2004 г. пациенту провели операцию по поводу врожденного порока сердца. В дальнейшем при прохождении обследования у кардиолога и ЭХОКГ пороков не обнаруживалось. Следует отметить, что тетрада Фалло является наиболее частым типом порока сердца, о котором сообщалось в ассоциации с синдромом CHARGE [25]. Однако в нашем случае данная тяжелая аномалия сердца не зарегистрирована.

**Гипоталамо-гипофизарная дисфункция (дефицит гонадотропина или гормона роста) и аномалии гениталий.** По данным обобщенных исследований задержка развития встречается у 59-84%, а аномалии гениталий – у 66-68% пациентов с синдромом CHARGE [12,17-19]. В нашем случае у пациента отмечается задержка полового развития и крипторхизм. На томограммах малого таза (рис. 2С) определяются гипотрофированные яички и уменьшенная в размерах предстательная железа. В аксиальной проекции визуализируется отложение подкожного жира преимущественно в бедрах (рис. 2А), что в целом соответствует известной в ассоциации с данным синдромом гипоталамо-гипофизарной дисфункции, приводящей к гипогонадизму. Некоторые исследователи полагают, что гипогонадизм является причиной не только генитальной гипоплазии у пациентов мужского пола, но и отсутствия развития вторичных половых признаков у пациентов обоего пола, и предлагают использовать определение сывороточного лютеинизирующего гормона и фолликулостимулирующего гормона у детей (начиная с младенческого до подросткового возраста) с целью раннего выявления гипогонадизма для того, чтобы вовремя начать заместительную терапию и свести к минимуму потенциаль-

ные вторичные психосоциальные и медицинские проблемы, связанные с задержкой полового развития [26].

**Дисфункция черепных нервов.** По результатам клинического обследования у пациента выявлен парез лицевого нерва справа, сглажена правая носогубная складка, что указывает на дисфункцию черепных нервов. В мире частота дисфункции черепных нервов у пациентов с синдромом CHARGE имеет широкую вариабельность от 21% до 69% [12,17-19].

### **Дополнительные признаки**

Для составления более полной клинической картины расстройств, связанных с геном *CHD7*, особый интерес вызывают не только основные или второстепенные признаки, которые достаточно хорошо известны и подробно описаны, а дополнительные или ранее не зарегистрированные симптомы. В связи с этим, ниже приведены два дополнительных признака, не включенных в последнюю версию диагностических критериев синдрома CHARGE (табл. 2): нарушение осанки, впалое стояние левой лопатки, укорочение правой нижней конечности и диффузный зоб 0-1 степени, эутиреоидный эндемический.

**Опорно-двигательный аппарат.** В ряде исследований у пациентов с синдромом CHARGE были выявлены различные деформации позвоночника (кифосколиоз, грудной кифоз, лордоз), которые были отнесены к скелетным аномалиям [8, 27-33]. В нашем случае КТ-исследование не подтвердило наличие аномалий скелета и конечностей, которые могли бы быть причиной выявленных нарушений со стороны опорно-двигательного аппарата (нарушение осанки, впалое стояние левой лопатки, укорочение правой нижней конечности). Учитывая данные о том, что ранее были попытки провести ассоциации случаев идиопатического сколиоза с хромосомным регионом, захватывающим область гена *CHD7* на хромосоме 8 [34], остается открытым вопрос, могут ли такие минимальные признаки как, например, нетяжелый сколиоз, быть отнесены к спектру проявлений CHARGE-синдрома.

**Щитовидная железа.** Из дополнительных признаков у обследованного нами пациента выявлен диффузный зоб 0-1 степени, эутиреоидный эндемический. Врожденный гипотиреоз в совокупности с другими атипичными для синдрома CHARGE признаками ранее был описан в одном случае у пациента с миссенс-вариантом гена *CHD7* [35]. В этом случае связь с синдромом CHARGE окончательно не подтверждена в виду вероятного нейтрального действия выявленной миссенс-замены (в некото-

рых базах данных зарегистрирована как полиморфизм) и специфического фенотипа, не отвечающего основным диагностическим критериям синдрома. Авторы предполагают, что если данная миссенс-замена будет выявлена в других случаях, фенотипически напоминающих данный синдром, то только в этом случае, данному пациенту можно будет подтвердить синдром CHARGE [12]. В нашем случае, связь нарушений щитовидной железы с синдромом CHARGE не столь очевидна, поскольку для ряда регионов Сибири, в том числе и для Якутии, в целом характерен йододефицит. По аналогии с диагностической тактикой учета рецидивных случаев, следует ожидать последующих сообщений об эндокринных нарушениях, связанных с дисфункцией щитовидной железы у пациентов с патогенными вариантами гена *CHD7* для того, чтобы можно было проводить ассоциацию подобных неспецифических признаков с данным синдромом.

### Заключение

В целом, учитывая полиорганный характер данной патологии, в клинической практике критериями плохой выживаемости при синдроме CHARGE считаются мужской пол, пороки развития центральной нервной системы и/или пищевода, а также двусторонняя атрезия хоан. В нашем случае, прогноз заболевания, вероятно, более благоприятный, поскольку у пациента по результатам КТ-исследования отсутствуют атрезия хоан, морфологические изменения в ЦНС, а также морфологические изменения почек, печени и других паренхиматозных органов брюшной полости. Мы надеемся, что пристальное внимание к клиническим проявлениям, как к основным и второстепенным, так и к дополнительным при расстройствах, связанных с геном *CHD7*, в конечном итоге поможет определить, как лучше всего диагностировать, консультировать и оказывать необходимую медицинскую и социальную помощь пациентам с подобными редкими заболеваниями.

### Литература/References

1. Kallen K., Robert E., Mastroiacovo P. et al. CHARGE association in newborns: a registry-based study. *Teratology*. 1999; 60: 334-343. DOI: 10.1002/(SICI)1096-9926(199912)60:6<334::AID-TERA5>3.0.CO;2-S
2. Issekutz K.A., Graham J.M.Jr., Prasad C. et al. An epidemiological analysis of CHARGE syndrome: preliminary results from a Canadian study. *Am. J. Med. Genet.* 2005; 133A: 309-317. doi: 10.1002/ajmg.a.30560.
3. Vissers L.E.L.M., van Ravenswaaij C.M.A., Admiraal R. et al. Mutations in a new member of the chromodomain gene family cause CHARGE syndrome. *Nat Genet.* 2004;36:955-957. doi: 10.1038/ng1407.
4. Woodage T., Basrai M.A., Baxevanis A.D. et al. Characterization of the CHD family of proteins. *PNAS.* 1997; 94 (21): 11472-11477; doi: org/10.1073/pnas.94.21.11472
5. Bajpai R., Chen D.A., Rada-Iglesias A. et al. CHD7 cooperates with PBAF to control multipotent neural crest formation. *Nature.* 2010; 463: 958-962. DOI: 10.1038/nature08733
6. Hall B.D. Choanal atresia and associated multiple anomalies. *J. Pediat.* 1979; 95: 395-398. DOI: 10.1016/s0022-3476(79)80513-2
7. Hittner H.M., Hirsch N.J., Kreh G.M. et al. Colobomatous microphthalmia, heart disease, hearing loss, and mental retardation - a syndrome. *J. Pediat. Ophthalm. Strabismus.* 1979; 16: 122-128.
8. Pagon R.A., Graham J.M.Jr., Zonana J. et al. Coloboma, congenital heart disease, and choanal atresia with multiple anomalies: CHARGE association. *J. Pediat.* 1981; 99: 223-227. doi: 10.1016/s0022-3476(81)80454-4
9. Oley C.A., Baraitser M., Grant D.B. A reappraisal of the CHARGE association. *J. Med. Genet.* 1988; 25: 147-156. DOI: 10.1136/jmg.25.3.147
10. Blake K.D., Hartshorne T.S., Lawand C. et al. Cranial nerve manifestations in CHARGE syndrome. *Am. J. Med. Genet.* 2008; 146A: 585-592. doi: 10.1136/adc.65.2.217.
11. Verloes A. Updated diagnostic criteria for CHARGE syndrome: a proposal. *Am. J. Med. Genet.* 2005; 133A: 306-308. DOI: 10.1002/ajmg.a.30559
12. Hale C.L., Niederriter A.N., Green G.E. et al. Atypical phenotypes associated with pathogenic CHD7 variants and a proposal for broadening CHARGE syndrome clinical diagnostic criteria *Am J Med Genet A.* 2016; 170A(2): 344-354. doi: 10.1002/ajmg.a.37435
13. Kim H.-G., Kurth I., Lan F., et al. Mutations in CHD7, encoding a chromatin-remodeling protein, cause idiopathic hypogonadotropic hypogonadism and Kallmann syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* 2008; 83: 511-519. doi.org/10.1016/j.ajhg.2008.09.005
14. Jackler R.K., Luxford W.M., House W.F. Congenital malformations of the inner ear: a classification based on embryogenesis. *Laryngoscope.* 1987; 2-14. doi:10.1002/lary.5540971301.
15. Richards S., Aziz N., Bale S. et al. ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015; 17: 405-24. doi: 10.1038/gim.2015.30.
16. Sennaroglu L., Saatci I. A new classification for cochleovestibular malformations. *Laryngoscope.* 2002; 112: 2230-41. doi.org/10.1097/00005537-200212000-00019
17. Lalani S.R., Safiullah A.M., Fernbach S.D. et al. Spectrum of CHD7 Mutations in 110 Individuals with CHARGE Syndrome and Genotype-Phenotype Correlation. *Am J Hum Genet.* 2006;78:303-314. doi: 10.1086/500273
18. Zentner G.E., Layman W.S., Martin D.M. et al. Molecular and phenotypic aspects of CHD7 mutation in CHARGE syndrome. *Am J Med Genet A.* 2010;152A:674-686. doi: 10.1002/ajmg.a.33323
19. Bergman J.E.H., Janssen N., Hoefsloot L.H. et al. CHD7 mutations and CHARGE syndrome: the clinical implications of an expanding phenotype. *J of Med Genet.* 2011;48:334-342. DOI: 10.1136/jmg.2010.087106
20. Amiel J., Attié-Bitach T., Marianowski R. et al. Temporal bone anomaly proposed as a major criteria for diagnosis of CHARGE syndrome. *Am J Med Genet* 2001;99: 124- 127. doi.org/10.1002/1096-8628(20010301)99:2<124::AID-AJMG1114>3.0.CO;2-9

21. Stjernholm C. Aspects of temporal bone anatomy and pathology in conjunction with cochlear implant surgery. *Acta Radiol Suppl* 2003; 430: 2–15.
22. Janssen N., Bergman J.E., Swertz M.A. et al. Mutation update on the CHD7 gene involved in CHARGE syndrome. *Hum Mutat*. 2012;33:1149–1160 doi: 10.1002/humu.22086.
23. Arrington C.B., Cowley B.C., Nightingale D.R. et al. Interstitial deletion 8q11.2-q13 with congenital anomalies of CHARGE association. *Am J Med Genet A*. 2005;133:326–330 doi: 10.1002/ajmg.a.30562.
24. Palumbo O., Palumbo P., Stallone R. et al. 8q12.1q12.3 de novo microdeletion involving the CHD7 gene in a patient without the major features of CHARGE syndrome: case report and critical review of the literature. *Gene*. 2013;513:209–213. doi: 10.1016/j.gene.2012.09.132.
25. Cyran S.E., Martinez R., Daniels S., et al. Spectrum of congenital heart disease in CHARGE association. *J. Pediat*. 1987; 110: 576–580. doi: 10.1016/s0022-3476(87)80555-3.
26. Wheeler P.G., Quigley C.A., Sadeghi-Nejad A. et al. Hypogonadism and CHARGE association. *Am. J. Med. Genet*. 2000; 94: 228–231. doi.org/10.1002/1096-8628(20000918)94:3<228::AID-AJMG8>3.0.CO;2-H
27. Van de Laar I., Dooijes D., Hoefsloot L. et al. Limb anomalies in patients with CHARGE syndrome: an expansion of the phenotype. *Am. J. Med. Genet*. 2007; 143A: 2712–2715, 2007. doi.org/10.1002/ajmg.a.32008
28. Alazami A.M., Alzahrani F., Alkuraya F.S. Expanding the “E” in CHARGE. *Am J Med Genet A*. 2008;146A:1890–1892. doi: 10.1002/ajmg.a.32376.
29. Brock K.E., Mathiason M.A., Rooney B.L., Williams M.S. Quantitative analysis of limb anomalies in CHARGE syndrome: correlation with diagnosis and characteristic CHARGE anomalies. *Am J Med Genet A*. 2003;123A:111–121. doi: 10.1002/ajmg.a.20526.
30. Doyle C., Blake K. Scoliosis in CHARGE: a prospective survey and two case reports. *Am J Med Genet A*. 2005;133:340–343. doi: 10.1002/ajmg.a.30564
31. Jongmans M.C.J., Admiraal R.J., van der Donk K.P. et al. CHARGE syndrome: the phenotypic spectrum of mutations in the CHD7 gene. *J Med Genet*. 2006; 43:306–314. doi: 10.1136/jmg.2005.036061
32. Wright E.M., O’Connor R., Kerr B.A. Radial aplasia in CHARGE syndrome: a new association. *Eur J Med Genet*. 2009;52:239–241. doi: 10.1016/j.ejmg.2009.03.017.
33. Yu T., Meiners L.C., Danielsen K. et al. Deregulated FGF and homeotic gene expression underlies cerebellar vermis hypoplasia in CHARGE syndrome. *Elife*. 2013;2:e01305. doi: 10.7554/eLife.01305
34. Tilley M.K., Justice C.M., Swindle K. et al. CHD7 gene polymorphisms and familial idiopathic scoliosis. *Spine*. 2013; 38: E1432–E1436. doi: 10.1097/BRS.0b013e3182a51781
35. Vuorela P., Ala-Mello S., Saloranta C. et al. Molecular analysis of the CHD7 gene in CHARGE syndrome: identification of 22 novel mutations and evidence for a low contribution of large CHD7 deletions. *Genet Med*. 2007;9:690–694. DOI: 10.1097/gim.0b013e318156e68e