

**В.А. Гнетецкая<sup>1</sup>, Г.Г. Гузеев<sup>2</sup>, И.В. Канивец<sup>2</sup>,  
С.А. Коростелев<sup>3</sup>, Н.А. Семенова<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Центр планирования семьи и репродукции, Москва

<sup>2</sup> Детская городская клиническая больница №13 им. Н.Ф. Филатова, Москва

<sup>3</sup> Первый московский государственный медицинский университет  
им. И.М. Сеченова, Москва

<sup>4</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет  
им. Н.И. Пирогова, Москва

## Хромосомный микроматричный анализ как инструмент в практике современного генетического консультирования

**Ключевые слова:** хромосомный микроматричный анализ, генетическое консультирование.

**Контактная информация:** Канивец Илья Вячеславович.

E-mail: dr.kanivetz@gmail.com

© Коллектив авторов, 2013

Генетическое консультирование – процесс обеспечения отдельных лиц и семей информацией о характере, типе наследования и значении генетических расстройств, способствующий принятию ими информированных медицинских и личных решений [1]. Но качественное генетическое консультирование невозможно без постановки точного диагноза. Однако до недавнего времени многие наследственные синдромы с множественными пороками развития и/или умственной отсталостью, дизморфиями а также расстройства аутистического спектра оставались

недифференцированными в связи с отсутствием доступной подтверждающей молекулярно-генетической диагностики. Использование рутинного кариотипирования позволяет выявить хромосомный дисбаланс размером 3–5 Мб и более [2]. В последние два десятилетия для повышения разрешения это исследование нередко совмещали с таргетными молекулярными технологиями, при помощи которых можно выявить изменения генома.

Флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) [3], сравнительная геномная гибридизация (CGH) [4] и

V.A. GNETETSKAYA, G.G. GUZEYEV, I.V. KANIVETS, S.A. KOROSTELEV, N.A. SEMENOVA

### Chromosomal microarray analysis as a tool of modern genetic counselling

**Key words:** chromosomal microarray analysis, genetic counseling.

спектральное кариотипирование (SKY) [5] до сих пор применяют для обнаружения дополнительных сложных или субмикроскопических нарушений. Однако такие технологии не подходят для полногеномного сканирования в обычных клинических исследованиях в качестве рутинного метода диагностики – они не имеют необходимого разрешения, требуют слишком много времени, трудоемки и/или дорогостоящи [6–8].

*Геномные микрочипы*, используемые для оценки числа копий ДНК, – мощный диагностический инструмент, рекомендуемый Американским колледжем медицинской генетики в качестве теста первой линии для пациентов с дефицитом интеллекта, расстройствами аутистического спектра и/или множественными врожденными аномалиями [9, 10]. Геномные микрочипы, используемые в клинической практике, обеспечивают полногеномное покрытие для выявления хромосомного дисбаланса с более высоким разрешением по сравнению с рутинным кариотипированием. Возможность изучения генома при таком высоком разрешении привела к открытию широко распространенных вариаций числа копий в геноме человека, таких как полиморфные изменения у здоровых людей и новые патогенные дисбалансы числа копий.

Вариация числа копий (CNV) – сегмент ДНК размером по крайней мере 1000 п.н., который отличается числом копий от репрезентативного референсного генома. Термин «CNV» не подразумевает клинической значимости, поэтому выделение патогенных или доброкачественных CNV необходимо для четкой связи с клиническими проявлениями. Потеря числа копий (делеция) или их увеличение (дупликация) должны быть определены, чтобы уточнить характер CNV.

В зависимости от клинической значимости обнаруженные у пациента CNV должны быть отнесены к одной из трех основных категорий [11].

**Патогенные CNV.** Вариации числа копий документированы во многих рецензируемых изданиях, даже если пенетрантность и экспрессивность CNV известна как переменная. Эта категория включает большие CNVs, которые могут быть не описаны в медицинской литературе в том размере, в каком они встречаются у пациентов, но они перекрывают меньший интервал с четко установленной клинической значимостью. Даже если полный эффект CNV у пациента не известен, ее патогенный характер не вызывает сомнения. За исключением устоявшихся цитогенетических гетероморфизмов, эта категория включает большинство цитогенетически видимых изменений (более 3–5 Mb). При отсутствии ассоциированных с синдромами локусов внутри интервала вывод о патогенности CNV сле-

дует делать с осторожностью.

**CNV с неопределенной клинической значимостью** – это большая группа включает CNV, которые позже будут описаны либо как исключительно патогенные, либо как доброкачественные. Однако если на момент подготовки заключения имеется недостаточно доказательств для однозначного определения клинической значимости, CNV должны быть описаны как имеющие неопределенную клиническую значимость. Ниже приведены три категории для классификации неопределенных вариантов.

- *Неопределенная клиническая значимость; вероятно, патогенные.* Например: имеется единственное описание CNV, но с четко определенными точками разрыва и фенотипом, характерными для данного пациента.

- *Неопределенная клиническая значимость; вероятно, доброкачественные.* Например:

- 1) CNV не имеет генов в интервале (однако включается в отчет, поскольку превышает размер критерия, установленного лабораторией).

- 2) CNV описана в небольшом количестве случаев в базах данных вариаций в общей популяции, но не представляет собой частый полиморфизм.

- *Неопределенная клиническая значимость (нет подклассификации).* Например: CNV описаны во многих противоречивых публикациях и/или базах данных, но окончательные выводы в отношении клинической значимости еще не сделаны.

**Доброкачественные CNV.** Вариации числа копий, описанные во многих рецензируемых изданиях или базах данных как доброкачественный вариант, особенно если вариация числа копий была хорошо охарактеризована (например, вариация числа копий в гене амилазы слоны [12]) и/или CNV представляет собой частый полиморфизм. Чтобы квалифицироваться как полиморфизм, CNV должны быть зарегистрированы у 1% в общей популяции. Важно внимательно изучить дозу CNV, зарегистрированной как доброкачественный вариант, учитывая, например, что дупликации некоторых регионов могут быть доброкачественными, а делеции того же участка могут иметь клиническую значимость.

На сегодняшний день в России хромосомный микроматричный анализ доступен на коммерческой основе и успешно применяется клиническими генетиками для идентификации субмикроскопического хромосомного дисбаланса. Высокое разрешение, получаемое при использовании для этого исследования олигонуклеотидных микроматриц *CytoScan™ HD*

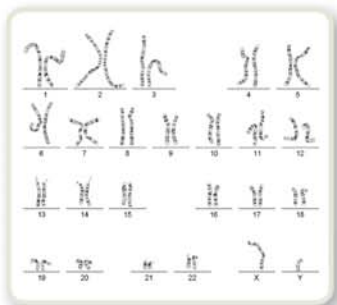
# ХРОМОСОМНЫЙ МИКРОМАТРИЧНЫЙ АНАЛИЗ



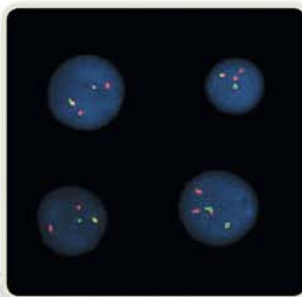
Полногеномный  
анализ  
с низким  
разрешением

Таргетный  
анализ  
с высоким  
разрешением

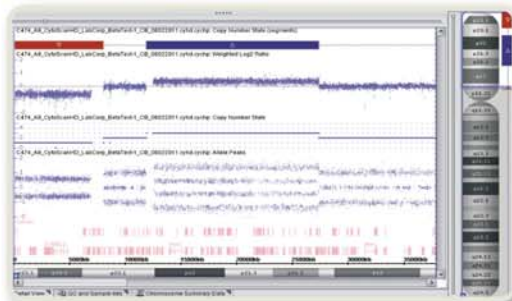
Полногеномный  
анализ  
с высоким  
разрешением



+



=



КАРИОТИП

FISH

ХРОМОСОМНЫЙ  
МИКРОМАТРИЧНЫЙ АНАЛИЗ

Диагностическая  
эффективность < 5%

Диагностическая  
эффективность > 20%

- ✓ Высокая плотность маркеров перекрывающая весь геном позволяет получить разрешение на уровне отдельных генов.
- ✓ Наличие полиморфных маркеров (SNPs) позволяет определить участки с потерей гетерозиготности, однородительских дисомий и происхождение генетического материала.
- ✓ Увеличенная чувствительность позволяет измерять уровень мозаицизма и оценивать качество образца.

**Показания к назначению  
хромосомного микроматричного  
анализа:**

- Врожденные пороки и малые аномалии развития
- Задержка психомоторного развития, аутизм.
- Подозрение на микроделеционные синдромы

Высокое разрешение получаемое с использованием олигонуклеотидных микроматриц позволяет идентифицировать хромосомный дисбаланс с высочайшей точностью, чувствительностью и воспроизводимостью результатов.



ООО "Геномед"  
Лаборатория молекулярной патологии  
г. Москва, ул. Ленинская слобода, д. 26

Тел.: 8 (495) 660-83-77  
[www.genomed.ru](http://www.genomed.ru)

фирмы *Affymetrix*<sup>®</sup> (США), позволяет идентифицировать хромосомный дисбаланс с высочайшей точностью, чувствительностью и воспроизводимостью результатов.

В практической работе врачу-генетику нередко приходится сталкиваться с ситуацией, когда клинические признаки и фенотип пациента не оставляют сомнения в генетической этиологии заболевания, но верифицировать синдром существующими методами не представляется возможным. Точная оценка риска и пренатальная диагностика в таких случаях невозможны.

#### Клинический случай №1

*Пациент Б., 10 лет.* В генетическую консультацию ДГКБ №13 им. Н.Ф. Филатова обратились родители мальчика, страдающего эпилепсией и ожирением, с задержкой психоречевого развития. Ребенок обследован в Московском НИИ педиатрии и детской хирургии. Основной клинический диагноз: идиопатическая генерализованная эпилепсия (миоклонии век с абсансами). Легкая задержка психоречевого развития. Ожирение II–III степени, синдромальная форма. Витилиго, червеобразная форма. Крипторхизм двусторонний (ложный?).

Из анамнеза: мальчик от родителей, не состоящих в кровном родстве; 3-я беременность (от 1-й – девочка, 17 лет, здорова; 2-я – мед. аборт), роды вторые, срочные. Масса тела при рождении – 4870 г, длина – 60 см. Эпилептические приступы отмечали с рождения. При осмотре определяется генерализованное ожирение, множественные очаги депигментации различной формы и размеров на лице, туловище и конечностях, множественные седые пряди волос, утолщенные мочки ушей, короткая шея, брахидактилия, микропенис.

Проведено обследование: кариотип 46,XY,21 ps<sup>+</sup>. Анализ аллельного метилирования промоторной области гена SNRPN методом метилспецифической ПЦР (синдром Прадера–Вилли) патологии не выявил. Анализ метилирования промоторной области гена FMR1 методом ПЦР (синдром Мартина–Белл) – без патологии.

ТМС крови: по результатам исследования, данных за наследственные аминокислотопатии, органические ацидурии и дефекты митохондриального бета-окисления не выявлено.

Для дальнейшего уточнения диагноза у ребенка с синдромальной патологией было принято решение о проведении хромосомного микроматричного анализа. Молекулярно-цитогенетическое исследование выполнено в лаборатории «Геномед» на оборудовании компании *Affymetrix*<sup>®</sup> (США) с использованием микроматрицы *Cytoscan*<sup>TM</sup> HD (*Affymetrix*<sup>®</sup>, США). В ходе исследования выявлена

микроделеция на коротком плече 16 хромосомы (молекулярный кариотип 46,XY,21ps+.arr и т.д. arr 16p11.2 (28810324–29043863)x1) размером ~234 kb. Данная перестройка не захватывает наименьшую область перекрытия, характерную для синдрома микроделеции 16p11.2 (OMIM 611913). Тем не менее найденная делеция содержится в базе данных ISCA и определена как патогенная с судорогами, ожирением и дефицитом интеллекта. Пациенту установлен диагноз: синдромальная форма множественных врожденных аномалий развития с дефицитом интеллекта. Микроделеция 16p11.2 идентифицирована как причина данной патологии. В данном случае, по существующим рекомендациям [11], показано обследование родителей. Они отказались от дальнейшего обследования, поскольку не нуждались в прогнозе относительно дальнейшего деторождения.

#### Клинический случай №2

*Девочка В., 6 лет.* Родители обратились в медико-генетическую консультацию с жалобами на задержку интеллектуального и речевого развития у их дочери, а также для определения прогноза в отношении дальнейшего деторождения.

Из анамнеза: ребенок от 1-й беременности, протекавшей без особенностей. Роды в срок. Масса тела при рождении – 3100 г, длина – 51 см. Оценка по шкале АПГАР – 7/8 баллов. Раннее развитие ребенка с грубой задержкой моторного (ходит с 2,5 лет) и психоречевого (не говорит) развития.

При осмотре отмечены микроцефалия, протрузия языка, птоз, блефарофимоз, большие низко расположенные уши, широкий кончик носа. Родители отмечают добродушный, дружелюбный характер девочки. Со слов родителей, ребенок обычно пребывает в хорошем настроении. На основании наличия у ребенка дефицита интеллекта, задержки моторного и речевого развития, необычного фенотипа и поведенческих особенностей был установлен диагноз: синдромальная форма задержки психомоторного и речевого развития.

В отсутствие хорошо распознаваемого фенотипа дифференциальная диагностика проводилась между микроделеционными синдромами, в том числе с синдромом Ангельмана. С учетом рекомендаций Американского колледжа медицинской генетики [11] в качестве исследования первой линии ребенку был назначен хромосомный микроматричный анализ. Исследование было выполнено в лаборатории «Геномед» на оборудовании компании *Affymetrix*<sup>®</sup> (США) с использованием микроматрицы *Cytoscan*<sup>TM</sup> HD (*Affymetrix*<sup>®</sup>, США). В результате была выявлена микроделеция на длинном плече 17 хромосомы (молекулярный кариотип arr 17q21.31

(43574907–44212416)x1) размером ~637 kb. В данной области присутствуют ОММ аннотированные гены, связанные с синдромом микроделеции 17q21.31. Ген KANSL1 – единственный ген, мутации в котором обуславливают большинство признаков этого синдрома [13, 14]. Поставлен диагноз: синдром Кулена-де Фриза (*Koolen-De Vries syndrome*; ОММ 610443), который наследуется по аутосомно-доминантному типу, однако в настоящее время почти все случаи были результатом мутации гена KANSL1 или делеции *de novo* [15]. Учитывая наличие известной перестройки, матери ребенка было рекомендовано проведение пренатальной диагностики при следующей беременности.

## Выводы

Приведенные клинические случаи – хороший пример использования хромосомного микроматричного анализа в практике врача-генетика с целью повышения качества медико-генетического консультирования.

## Литература

1. Pagon R.A., Bird T.D., Dolan C.R., Stephens K., Adam M.P. Seattle: University of Washington; 1993–2013.
2. Shaffer L.G., Lupski J.R. Molecular mechanisms for constitutional chromosomal rearrangements in humans. *An Rev Genet* 2000; 34: 297–329.
3. Trask B.J. Fluorescence in situ hybridization: applications in cytogenetics and gene mapping. *Trends Genet* 1991; 7: 149–54.
4. Rao P.H., Houldsworth J., Dyomina K., Parsa N.Z., Cigudosa J.C., et al. Chromosomal and gene amplification in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 1998; 92: 234–40.
5. Lu X.Y., Harris C.P., Cooley L., Margolin J., Steuber P.C., et al. The utility of spectral karyotyping in the cytogenetic analysis of newly diagnosed pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2002; 16: 2222–7.
6. Harris C.P., Lu X.Y., Narayan G., Singh B., Murty V.V., et al. Comprehensive molecular cytogenetic characterization of cervical cancer cell lines. *Genes Chromosomes Cancer* 2003; 36: 233–41.
7. Lau C.C., Harris C.P., Lu X.Y., Perlaky L., Gogineni S., et al. Frequent amplification and rearrangement of chromosomal bands 6p12-p21 and 17p11.2 in osteosarcoma. *Gen Chromosom Cancer* 2004; 39: 11–21.
8. Ravnan J.B., Tepperberg J.H., Papenhausen P., Lamb A.N., Hedrick J., et al. Subtelomere FISH analysis of 11 688 cases: an evaluation of the frequency and pattern of subtelomere rearrangements in individuals with developmental disabilities. *J Med Genet* 2006; 43: 478–89.
9. Manning M., Hudgins L. Professional Practice and Guidelines

- Committee. Array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities. *Genet Med* 2010; 12: 742–5.
10. Miller D.T., Adam M.P., Aradhya S., et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet* 2010; 86: 749–64.
  11. Kearney H.M., Thorland E.C., Brown K.K., Quintero-Rivera F., South S.T. American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants. *Genet Med* 2011; XX (XX).
  12. Perry G.H., Dominy N.J., Claw K.G., et al. Diet and the evolution of human amylase gene copy number variation. *Nat Genet* 2007; 39: 1256–1260.
  13. Koolen D.A., Kramer J.M., Neveling K., Nillesen W.M., Moore-Barton H.L., Elmslie F.V., et al. Mutations in the chromatin modifier gene KANSL1 cause the 17q21.31 microdeletion syndrome. *Nat Genet* 2012; 44 (6): 639–41.
  14. Zollino M., Orteschi D., Murdolo M., Lattante S., Battaglia D., Stefanini C., et al. Mutations in KANSL1 cause the 17q21.31 microdeletion syndrome phenotype. *Nat Genet* 2012; 44 (6): 636–8.
  15. Koolen D.A., de Vries B.B. KANSL1-Related Intellectual Disability Syndrome. *GeneReviews™*.