

Киевская Ю.К.<sup>1</sup>, Шилова Н.В.<sup>3</sup>, Канивец И.В.<sup>1,2</sup>, Кудрявцева Е.В.<sup>5</sup>,  
Пьянков Д.В.<sup>1</sup>, Коростелев С.А.<sup>4</sup>.

DOI 10.25694/URMJ.2019.15.06

## Применение хромосомного микроматричного анализа для диагностики хромосомной патологии у плодов с врожденными пороками сердца

1- ООО «Геномед», г. Москва; 2-ФГБОУ ДПО Российская академия непрерывного профессионального образования, 3-ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова», г. Москва, 4-ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, 5-ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» МЗ РФ, кафедра акушерства и гинекологии г. Екатеринбург

Kievskaya J.K., Shilova N.V., Kanivets I.V., Kudryavtseva E.V., Pyankov D.V., Korostelev S.A.

## The use of chromosomal microarray analysis for the diagnosis of chromosomal pathology in fetuses with congenital malformations of the heart

### Резюме

Распространенность ВПС у плода составляет в среднем 8 случаев на 1000 родов (5,6 – 15,32 в зависимости от страны) и 7,2 на 1000 живорожденных. Около 50% этих детей без оказания высококвалифицированной помощи погибают в период новорожденности, еще 25% - в первый год жизни. Цель нашего исследования явилось определение частоты и структуры хромосомных аномалий у плодов с диагностированными пороками сердца. В исследование были включены 152 беременные женщины, которым была проведена инвазивная пренатальная диагностика в 2013-2019 году в связи с выявлением у плода по результатам УЗИ врожденного порока сердца. Полученный от плода материал был исследован методом хромосомного микроматричного анализа (ХМА). Различные хромосомные аномалии были выявлены у 49 (32,2%) плодов с пренатально диагностированными пороками сердца. У 25 (16,4%) плодов с ВПС были диагностированы анеуплоидии (числовые аномалии хромосом). Патогенные CNVs (структурные хромосомные перестройки) были диагностированы у 24 (15,7%) плодов с пороками сердца, причем в 10 случаях был выявлен синдром делеции 22q11.2. Таким образом, хромосомные синдромы имеют большой удельный вес среди причин ВПС. Причем значительную часть из них составляют структурные перестройки, для диагностики которых недостаточно стандартного цитогенетического исследования. Наиболее часто хромосомные аномалии выявлялись у плодов, у которых имелись сочетанные пороки развития.

**Ключевые слова:** хромосомный микроматричный анализ, пренатальная диагностика, врожденные пороки сердца

### Summary

The prevalence of congenital heart defects in the fetus is on average 8 cases per 1000 births (5.6 - 15.32 depending on the country) and 7.2 per 1000 live births. About 50% of these children without the provision of highly qualified care die during the neonatal period, another 25% in the first year of life. The aim of our study was to determine the frequency and structure of chromosomal abnormalities in fetuses with diagnosed heart defects. The study included 152 pregnant women who underwent invasive prenatal diagnosis in 2013-2019 due to the detection of a congenital heart defect in the fetus by ultrasound. The material obtained from the fetus was studied by the method of chromosome microarray analysis. Various chromosomal abnormalities were detected in 49 (32.2%) fetuses with prenatally diagnosed heart defects. Aneuploidy (numerical chromosome abnormalities) was diagnosed in 25 (16.4%) fetuses with congenital heart defects. Pathogenic CNVs (structural chromosomal rearrangements) were diagnosed in 24 (15.7%) fetuses with heart defects, and in 10 cases, 22q11.2 deletion syndrome was detected. Thus, chromosomal syndromes have a large share among the causes of congenital heart defects. Moreover, a significant part of them is structural adjustment, for the diagnosis of which is not enough standard cytogenetic studies. Most often, chromosomal abnormalities were detected in fetuses that had combined malformations.

**Key words:** chromosomal microarray analysis, prenatal diagnosis, congenital heart defects

## Введение

Врожденные пороки сердца нередко входят в состав генетических синдромов, но их нозологическая принадлежность бывает трудно распознаваема в пренатальном периоде.

Своевременная диагностика конкретного генетического синдрома помогает будущим родителям получить достоверную информацию о прогнозе для жизни, здоровья и развития ребенка после рождения, получить рекомендации по планированию деторождения и профилактике аномалий у потомства в дальнейшем, а врачам - определить тактику ведения больного, в том числе оценить возможность и, главное, целесообразность проведения кардиохирургической коррекции, оценить потенциальные риски хирургического вмешательства. Генетический синдром, не являясь абсолютным противопоказанием к операции на сердце, тем не менее, в силу определенных особенностей, может осложнить как ход самой операции, так и вызвать различные пред- и послеоперационные осложнения. В частности, при синдроме Холта-Орама затруднена пункция периферических артерий в связи с патологией лучевой кости и, соответственно, аномальным расположением сосудов, а при синдроме Тернера высока вероятность повреждения грудного лимфатического протока. Послеоперационный период синдромов Беквита-Видемана и ДиДжорджи может сопровождаться судорогами гипогликемической и гипокальциемической природы, а также проблемами инфекционного характера [1].

Хромосомные синдромы диагностируются примерно у 1/3 детей с ВПС и, как правило, не имеют характерного наследования за исключением случаев носительства родителями структурных перестроек типа транслокаций или инверсий. Наиболее частыми хромосомными синдромами, которые диагностируются при наличии ВПС у плода, являются трисомии 13 (синдром Патау), 18 (синдром Эдвардса) и 21 (синдром Дауна) [2]. Однако нередко причиной синдромальной патологии с ВПС оказывается структурная хромосомная перестройка (CNV), которая не выявляется путем стандартного цитогенетического исследования, но может быть выявлена при проведении хромосомного микроматричного анализа, например, микроделеция 22-ой хромосомы. Субмикроскопическая делеция района q11.2 хромосомы 22 является наиболее частой причиной формирования конотрункальных ВПС (общий артериальный ствол, тетрада Фалло, атрезия легочной артерии и др.). Данный синдром встречается с частотой 1:2000/4000 живорожденных, и является самым частым микроделеционным синдромом, диагностируемым у новорожденных. Как правило, делеция 22q11.2 приводит не к изолированным, а к синдромальным формам ВПР, объединенных на сегодняшний день в группу SATCN 22. В группу SATCN 22 включены: синдром Ди-Джорджи, синдром конотрункальных и лицевых аномалий и вело-кардио-фациальный синдром. Варибельность клинических проявлений у больных очень велика: от форм с тяжелыми пороками сердца и иммунодефицитом до легких

форм, проявляющихся только лицевыми аномалиями и гиперназальным голосом. В среднем, размер микроделеции 22q11.2 составляет от 1.5 до 3Mb, что не позволяет идентифицировать данную патологию путем стандартного цитогенетического кариотипирования [3]

Роль делеций 22q11.2 в формировании ВПС была хорошо описана до появления анализа хромосомных микрочипов (ХМА) [4]. Частота распространенности делеции 22q11.2 при перерыве дуги аорты типа В встречается примерно в 50% случаев, в 33% при общем артериальном стволе, в 15% случаев при Тетраде Фалло и в 5-10% при ДМЖП [5]. У пациентов с делецией 22q11.2 смертность значительно выше, а хирургическое и периоперационное течение осложняется сопутствующими патологиями, такими как низкий уровень иммунитета, гипопаратироз и гипокальциемический криз. [6]

В клинических рекомендациях Американской Коллегии Акушеров-Гинекологов (ACOG) и Общества Медицины Матери и Плода (SMFM) отмечается необходимость использования ХМА в качестве теста первой линии в случаях, выявления по результатам УЗИ пороков развития плода. В 2012 году мультицентровое исследование, организованное Национальным Институтом Здоровья Ребенка и Человеческого Развития (NICHD), показало, что при беременностях с установленными ультразвуковыми аномалиями и нормальным кариотипом у плода, в 6% случаев при проведении ХМА были обнаружены клинически значимые CNVs [6, 7, 8]

Преимуществом хромосомного микроматричного анализа, по сравнению со стандартным анализом кариотипа, является высокое диагностическое разрешение метода, что позволяет выявлять большее количество патогенных CNVs, которые имеют неблагоприятный постнатальный прогноз. Кроме того, поскольку ДНК может быть выделена из некультивируемых образцов, результаты будут получены быстрее, чем при кариотипировании, которое требует культивирования клеток, что часто имеет решающее значение при постановке пренатального диагноза. Хромосомный микроматричный анализ является стандартизированной процедурой, которая включает в себя использование компьютерного анализа, в то время как кариотипирование включает микроскопическое исследование окрашенных хромосом и имеет субъективный характер и повышенный риск ошибки, связанный с человеческим фактором.

Моногенные болезни с наличием ВПС с характерным наследованием могут иметь аутосомно-доминантное или аутосомно-рецессивное наследование [9]. При наличии моногенной патологии повторный риск рождения ребенка с пороком сердца наиболее высокий. Поиск моногенной причины ВПС может быть следующим этапом обследования, после исключения хромосомных анеуплоидий, а также микродупликационных и микроделеционных синдромов.

Цель исследования: определить частоту и структуру хромосомных аномалий у плодов с диагностированными пороками сердца.

**Материалы и методы**

Проведено ретроспективное, когортное, описательное исследование.

В исследование были включены 152 беременные женщины, которым была проведена инвазивная пренатальная диагностика в 2013-2019 году в связи с выявлением у плода по результатам УЗИ врожденного порока сердца. Исследование проводилось на базе медико-генетического центра «Геномед». В 72,3% (110/152) случаях был проведен амниоцентез, в 9,2% (14/152) - кордоцентез, в 18,4% (28/152) - биопсия ворсин хориона. Срок беременности у пациенток на момент обследования был у 6,6% (10/152) от 10 до 14 недель, у 38% (58/152) от 15 до 20 недель, у 55,2% (84/152) более 21 недели (в среднем 19 недель). Полученный от плода материал был исследован методом хромосомного микроматричного анализа (ХМА).

При проведении ХМА использовались SNP-олигонуклеотидные микроматрицы (Thermo Fisher, США) с разрешающей способностью от 800 000 п.н. (в отдельных клинически значимых регионах от 500 000 п.н.). Выделение и анализ ДНК проводились в соответствии с протоколом производителя реагентов. Определение вариаций числа копий (CNVs) производилось путем измерения интенсивности сигнала с зондов.

**Результаты и обсуждение**

Различные хромосомные аномалии были выявлены у 49 (32,2%) плодов с пренатально диагностированными пороками сердца.

У 25 (16,4%) плодов с ВПС были диагностированы анеуплоидии (числовые аномалии хромосом). Было вы-

явлено 15 плодов с трисомией 21 (синдромом Дауна), 3 плода с трисомией 18 (синдромом Эдвардса), 5 плодов с трисомией 13 (синдром Патау), 1 плод с моносомией X (синдром Тернера), в 1 случае была выявлена триплоидия.

Патогенные CNVs (структурные хромосомные перестройки) были диагностированы у 24 (15,7%) плодов с пороками сердца, причем в 10 случаях был выявлен синдром делеции 22q11.2. В остальных 59% случаев (у 14 плодов) были детектированы CNVs затрагивающие участки различных хромосом. Спектр выявленных хромосомных аномалий представлен в таблице 1.

Далее мы разделили пациенток на 3 группы. В 1 группу вошли те, у кого были диагностированы у плодов изолированные пороки сердца. 2 группу составили пациентки с комбинированными пороками сердца плода. В 3 группу вошли пациентки, у которых у плода помимо пороков сердца были выявлены ВПР других органов и систем.

В большинстве случаев - у 61 (40%) плодов наблюдались изолированные пороки сердца, из которых самым частым атриовентрикулярный канал (АВК) – у 20 плодов (33% среди плодов с изолированными пороками сердца), у 18 плодов (29,5% плодов этой группы) был выявлен дефект межжелудочковой перегородки (ДМЖП), у 5 (8%) правая дуга аорты, по 4 (6,5%) плода имели транспозицию магистральных сосудов и общий артериальный ствол, 6,5%, 3 (5%) - стеноз аортального клапана, 2 (3%) - двойное отхождение магистральных сосудов от правого желудочка, 1 (1,6%) - аномалию конотрункуса и 1 (1,6%) стеноз легочной артерии. В 3 случаях (4,2%) тип ВПС не был указан.

**Таблица 1. Хромосомные аномалии, определенные у плодов с ВПС**

Синдром / Syndrom	Кол-во (amount)	Доли среди образцов (share among all samples) (N=152), %	Доли от плодов с ХА (share among fetuses with CA) (N=49), %
Анеуплоидии (aneuploidy)			
Трисомия 21 (синдром Дауна) / Trisomy 21 (Down syndrome)	15	9,9	30,6
Трисомия 18 (синдром Эдвардса) / Trisomy 18 (Edwards syndrome)	3	1,9	6,1
Трисомия 13 (синдром Патау) / Trisomy 13 (Patau syndrome)	5	3,3	10,2
Моносомия X (синдром Тернера) / Monosomy X (Turner syndrome)	1	0,7	2
Триплоидия	1	0,7	2
Патогенные CNVs (pathogenic CNVs)			
Синдром делеции 22q11.2 / Chromosome 22q11.2 deletion	10	6,6	20,4
Синдромом инвертированной дупликации/делеции 8p / Chromosome 8p inverted duplication/deletion syndrome	1	0,7	2
Синдром кошачьего крика / Cri-du-chat syndrome	1	0,7	2
Синдром дупликации 4q21.1 / Chromosome 4q21.1 duplication	1	0,7	2
Синдром делеции 11q24.2 / Chromosome 11q24.2 deletion	1	0,7	2
Синдром делеции 9q33.3 / Chromosome 9q33.3 deletion syndrome	1	0,7	2
Синдром делеции 8p23.1 / Chromosome 8p23.1 deletion syndrome	2	1,3	4
Синдром делеции 4q32.3 / Chromosome 4q32.3 deletion	1	0,7	2
Синдром дупликации 1q21.1 / Chromosome 1q21.1 duplication syndrome	1	0,7	2
Синдром дупликации 2p25.2 / Chromosome 2p25.2 duplication	1	0,7	2
Синдром делеции / Chromosome 17q21.31 deletion	1	0,7	2
Chromosome 5p15.33 duplication	1	0,7	2
Синдром делеции 3p26.3 / Chromosome 3p26.3 deletion	1	0,7	2
Синдром делеции 22q13.2 / Chromosome 22q13.2 deletion	1	0,7	2

Таблица 2. Структура хромосомных аномалий у плодов с изолированными пороками сердца

Синдром / Syndrom	Кол-во / amount (N=61)	Доля среди всех образцов 1 группы (share among all samples) (N=61), %	Доля от плодов с ХА (share among fetuses with CA) (N=20), %
Трисомия 21 (синдром Дауна) / Trisomy 21 (Down syndrome)	12	20,2	63,1
Синдром делеции 22q11.2 / Chromosome 22q11.2 deletion	4	5,1	20
Синдром дупликашии 4q21.1 / Chromosome 4q21.1 duplication syndrome	1	1,25	5
Синдром делеции 8p23.1 / Chromosome 8p23.1 deletion syndrome	1	1,25	5
Синдром делеции 4q32.3 / Chromosome 4q32.3 deletion	1	1,25	5
Синдром делеции 9q33.3 / Chromosome 9q33.3 deletion syndrome	1	1,25	5

Таблица 3. Структура хромосомных аномалий у плодов с комбинированными пороками сердца

Синдром / Syndrom	Кол-во / amount (N=54)	Доля среди всех образцов 2 группы / share among all samples) (N=54), %	Доля от плодов с ХА / share among fetuses with CA (N=11), %
Трисомия 18 (синдром Эдвардса)	3	5,6	27,3
Синдром делеции 22q11.2 / Chromosome 22q11.2 deletion	3	5,6	27,3
Синдром делеции 22q13.2 / Chromosome 22q13.2 deletion	1	1,8	9
Синдром инвертированной хромосомы	8	1,8	9
Chromosome 1q21.1 duplication	1	1,8	9
Chromosome 2p25.2 duplication	1	1,8	9
Chromosome 3p26.3 deletion	1	1,8	9

Среди изолированных ВПС частота хромосомной патология составила 31% - хромосомные аномалии были обнаружены у 20 плодов этой группы. Структура хромосомных аномалий у плодов с изолированными ВПС представлена в таблице 2.

При трисомии 21 в 100% - у 12 плодов, был диагностирован АВК. При синдроме делеции 22q11.2 у 2 плодов был - общий артериальный ствол, у 1 - ДМЖП, у 1 - стеноз легочной артерии). У плода с дупликацией 4q21.1 был диагностирован ДМЖП, 8p23.1 - 12,5% - АВК, с делецией 4q32.3 - стеноз аортального клапана, с делецией 9q33.3 - общий артериальный ствол.

Комбинированные ВПС были диагностированы у 54 (35%) плодов. В этой группе хромосомная патология была диагностирована у 11 (20%) плодов, причем 72% из них составили патогенные CNVs, выявленные у 8 плодов. Структура хромосомных аномалий у плодов с комбинированными ВПС представлена в таблице 3.

Во 2 группе syndrome 22q11.2 deletion syndrome был выявлен у 3 плодов, у первого из них имелось сочетание ДМЖП с правой дугой аорты, у 2 - сочетание ДМЖП

со стенозом аорты, у 3 - тетрада Фалло. При синдроме chromosome 22q13.2 deletion было определено сочетание ДМЖП и коарктации аорты, при синдроме инвертированной 8 хромосомы - сочетание ДМЖП и общего артериального ствола, у плода с дупликацией 2p25.2 было сочетание двойного отхождения магистральных сосудов от правого желудочка с тетрадой Фалло, у плода с делецией 3p26.3 deletion - тетрада Фалло.

Анеуплоидии были диагностированы у 5,6% плодов во 2 группе, все они приходились на трисомию 18 хромосомы. ВПС при синдроме Эдвардса включали в себя сочетания ДМЖП с коарктацией аорты, ДМЖП с АВК и ДМЖП с двойным отхождением магистральных сосудов от правого желудочка.

В 80% - у 43 плодов, в данной группе плодов был установлен нормальный молекулярный кариотип

Сочетание изолированного врожденного порока сердца с пороками других областей наблюдалось у 28 плодов - 18,5% среди всех обследованных. Сочетание комбинированного врожденного порока сердца с пороками других областей наблюдалось у 10 (6%) плодов. Всего в 3 группу вошло 38 пациенток. Хромосомная патология

Таблица 4. Структура хромосомных аномалий у плодов, имеющих ВПС и пороки других органов и систем

Синдром / Syndrom	Кол-во amount (N=38)	Доля среди всех образцов 3 группы (share among all samples) (N=39), %	Доля от плодов с ХА (share among fetuses with CA) (N=15), %
Трисомия 13 (синдром Патау)	4	10,2	26,6
Трисомия 21 (синдром Дауна) / Trisomy 21 (Down syndrome)	1	2,5	6,6
Моносомия X (синдром Тернера) / Monosomy X (Turner)	1	2,5	6,6
Триплоидия	1	2,5	6,6
Cri-du-chat syndrome	3	7,7	20
Syndrome 22q11.2 deletion syndrome	2	5,1	13,3
Chromosome 8p23.1 deletion syndrome	1	2,5	6,6
Chromosome 5p15.33 duplication	1	2,5	6,6
Chromosome 11q24.2 deletion	1	2,5	6,6

в этой группе встречалась с частотой 39,4% (15 плодов). Структура хромосомных аномалий в 3 группе представлена в таблице 4.

Таким образом, хромосомные синдромы имеют большой удельный вес среди причин ВПС. Причем значительную часть из них составляют структурные перестройки, для диагностики которых недостаточно стандартного цитогенетического исследования. Наиболее часто хромосомные аномалии выявлялись у плодов, у которых имелись сочетанные пороки развития.

Учитывая полученные результаты, мы считаем, что в случае выявления ВПС у плода, пациентку необходимо направить на инвазивную пренатальную диагностику (независимо от уровня риска, полученного при проведении комплекса пренатальной диагностики). При проведении инвазивной диагностики в качестве теста первой линии целесообразно использовать хромосомный микроматричный анализ, поскольку многие хромосомные синдромы (микроделеции и микродупликации), достаточно часто встречающиеся в исследуемой группе, не могут быть выявлены с помощью цитогенетического исследования.

## Заключение

Полученные данные демонстрируют высокую частоту выявления хромосомного дисбаланса у плодов с пороками сердца. Причем значительную часть выявленных хромосомных перестроек составляют патогенные CNVs, детекция которых невозможна при проведении стандартного цитогенетического исследования (кариотипа). Использование ХМА для диагностики генетической патологии, как причины врожденного порока сердца, позволяет выявлять не только анеуплоидии у плода, но также и другие субмикроскопические несбалансированные структурные аномалии - делеции и дупликации, и может быть рекомендовано в качестве теста первой линии. ■

**Киевская Ю.К.**, ООО «Геномед», г. Москва; **Шилова Н.В.**, ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова», г. Москва; **Канивец И.В.**, ООО «Геномед», г. Москва, ФГБОУ ДПО Российская академия непрерывного профессионального образования; **Кудрявцева Е.В.**, ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» МЗ РФ, кафедра акушерства и гинекологии г. Екатеринбург; **Коростелев С.А.**, ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России

## Литература:

1. Le Vaillant C, Beneteau C, Chan-Leconte N, et al. [Beckwith-Wiedemann syndrome: What do you search in prenatal diagnosis? about 14 cases]. *Gynecol Obstet Fertil* 2015;43(11):705-11
2. Е.А.Шевченко «Ранняя пренатальная диагностика врожденных пороков сердца у плодов с расширением воротникового пространства» 2008г
3. Wilson DI, Burn J, Scambler P, Goodship J «DiGeorge syndrome: part of CATCH 22» *J Med Genet* 30:852-856.
4. Современные представления о механизмах формирования кардиоваскулярной патологии у новорожденных и грудных детей» Котлюкова Н.П., Симонова Л.В.
5. McDonald-McGinn, D. M. et al. 22q11.2 deletion syndrome. *Nat. Rev. Dis. Prim.* 1, 15071 (2015г)
6. Peyvandii, S. et al. 22q11.2 deletions in patients with conotruncal defects: data from 1,610 consecutive cases. *Pediatr. Cardiol.* 34, 1687-1694 (2013)
7. McDonald-McGinn, D. M. et al. 22q11.2 deletion syndrome. *Nat. Rev. Dis. Prim.* 1, 15071 (2015г)
8. Prenatal diagnostic testing for genetic disorders. *Practice Bulletin No. 162. American College of Obstetricians and Gynecologists. Obstet Gynecol* 2016;127:e108-22.
9. А.А. Баранов «Федеральный клинические рекомендации по оказанию медицинской помощи детям с врожденными пороками сердца» 2015 г.
10. Кудрявцева Е.В., Ковалев В.В., Канивец И.В., Киевская Ю.К., Коростелев С.В. Использование хромосомного микроматричного анализа в пренатальной диагностике в России. *Уральский медицинский журнал.* 2017, №11, с. 10-14