



## ПРИМЕНЕНИЕ ХРОСОМНОГО МИКРОМАТРИЧНОГО АНАЛИЗА В ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ

Рекомендации Американского колледжа акушерства и гинекологии  
и Общества медицины матери и плода

### Резюме

Хромосомный микроматричный анализ является методом для выявления хромосомных аномалий, включая субмикроскопические аномалии, которые настолько малы, что не могут быть выявлены при стандартном кариотипировании. Как и для обычного кариотипирования плода, для пренатального хромосомного микроматричного анализа требуется исследование генетического материала плода, который может быть получен при биопсии ворсин хориона или амниоцентезе. На основании результатов многоцентрового исследования Национального института детского здоровья и развития человека Юнис Кеннеди Шрайвер, и данных предыдущих исследований показано, что пренатальный хромосомный микроматричный анализ является наиболее полезным, когда при ультразвуковом исследовании выявлены структурные аномалии плода. Возможность получения сложных для понимания данных и определение вариантов с неуточненным клиническим значением при проведении пренатального хромосомного микроматричного анализа подчеркивает необходимость генетического консультирования до и после исследования, с обсуждением преимуществ, ограничений и результатов исследования, чтобы пациенты могли принимать обоснованные решения. Американский колледж акушерства и гинекологии и Общество медицины матери и плода предлагают базовую информацию, а также рекомендации по применению хромосомной микрочиповой технологии в пренатальной диагностике.

Хромосомный микроматричный анализ является методом, выявляющим делеции (потери) и дупликации (удвоения) ДНК во всем геноме человека. Это высокоразрешающий полногеномный скрининг, который позволяет выявлять основные хромосомные анеуплоидии, а также локализацию и тип специфических генетических изменений, которые слишком малы, чтобы быть обнаруженными стандартным кариотипированием. Данный анализ является исследованием первой линии

при генетическом обследовании новорожденных и детей с необъяснимой умственной отсталостью, врожденными пороками развития или расстройствами аутистического спектра. В этой группе хромосомный микроматричный анализ был способен выявить патогенный генетический дисбаланс или генетические мутации более чем у 15% детей с нормальным кариотипом (1, 2).

Успешное применение микрочипов в диагностике генетических аномалий у новорожденных и детей стимулировало интерес к их применению в пренатальной диагностике. Несколько ранее описанных исследований продемонстрировали преимущество хромосомного микроматричного анализа перед стандартным исследованием кариотипа при пороках развития плода (3-7). Однако, до недавнего времени, применение этой технологии было ограничено из-за отсутствия крупных популяционных исследований. В декабре 2012 были опубликованы результаты масштабного исследования при поддержке Национального института детского здоровья и развития человека Юнис Кеннеди Шрайвер (NICHD) по сравнению эффективности хромосомного микроматричного анализа с исследованием кариотипа в пренатальной диагностике (8). Ниже приведены рекомендации Американского колледжа акушерства и гинекологии и Общества медицины матери и плода по применению хромосомного микроматричного анализа в пренатальной диагностике.

### Технология хромосомного микроматричного анализа

Хромосомный микроматричный анализ является методом, который может выявлять основные хромосомные анеуплоидии, а также субмикроскопические аномалии, которые слишком малы, чтобы быть обнаруженными при стандартном кариотипировании. В отличие от обычного кариотипа, который выявляет, прежде всего, генетические аномалии в результате значительных изменений числа или структуры хромосом, микроматричный анализ

может предоставить информацию о геноме человека на субмикроскопическом уровне. Дублицированные или делетированные участки ДНК известны как вариации числа копий. Эти субмикроскопические перестройки могут составлять значительную часть в структуре генетической патологии человека, которая по некоторым оценкам превышает 15% (10). Вероятность обнаружения клинически значимых вариаций числа копий в значительной степени связано с наличием структурных аномалий у плода, хотя значимые вариации числа копий могут быть также выявлены у структурно нормальных плодов. Другим типом перестроек ДНК являются однонуклеотидные полиморфизмы (SNP). Однонуклеотидные полиморфизмы являются разновидностью ДНК, в которой имеется изменение одного нуклеотида в геномной последовательности. Это может встречаться как у двух разных людей так и в паре хромосом одного человека, и может быть причиной заболевания. В отличие от синдрома Дауна и других частых трисомий, вариации числа копий или SNPs не связаны с увеличением возраста матери.

Существует два типа микрочипов, применяемых в клинической пренатальной диагностике: платформы для сравнительной геномной гибридизации и SNP микрочипы. Хотя оба этих метода выявляют вариации числа копий, они выявляют различные типы генетических изменений. При помощи каждого из этих методов, ДНК плода гибридизуется с чипом, содержащим фрагменты ДНК известного происхождения (известные последовательности). Исследуемую ДНК плода обычно выделяют из ворсин хориона или амниоцитов. При CGH фетальная ДНК помечена красителем одного цвета, в то время как контрольная ДНК (известная генетическая последовательность) помечена другим цветом. Относительная интенсивность различных цветов (относительное количество ДНК плода по сравнению с контрольной ДНК) сравнивается. Дубликации и делеции выявляются как области с более высоким или более низким уровнем сигнала по сравнению с контрольным образцом. Сравнительная геномная гибридизация выявляет вариации числа копий для относительно больших делеций или дубликаций, включая дубликации всей хромосомы (трисомии), но CGH не может обнаружить триплоидию. На SNP чипах происходит гибридизация только фетальной ДНК с платформой чипа, и наличие или отсутствие специфических известных последовательностей ДНК оценивается по интенсивности сигнала для проведения полногеномного анализа числа копий. SNP микрочипы способны выявлять потерю гетерозиготности и, следовательно, могут показать степень родства, а также триплоидии и однородительские дисомии.

Микрочипы также могут быть “таргетными” и сфокусированными на вариациях числа копий с известной патогенностью, вместо исследования всего генома. Таргетные чипы предназначены в первую очередь для выявления вариаций числа копий с известными клиническими эффектами, минимизируя при этом обнаружение вариантов с неопределенной клинической значимостью. Варианты с неизвестной значимостью - определенные изменения ДНК, которые либо еще не были достоверно охарактеризованы как доброкачественные или патогенные, либо которые ассоциированы с изменчивым фенотипом (различная пенетрантность). В противоположность этому, полногеномные чипы предназначены для обеспечения широкого охвата всего генома и, поэтому, оптимизации обнаружения, но с большей вероятностью могут выявлять изменения, которые

имеют неопределенное клиническое значение. Поскольку получение такого большого количества данных возможно при использовании любого типа микрочиповой технологии, использование баз данных позволяет выяснить, были ли описаны ранее специфические вариации числа копий, и считаются ли они патогенными, доброкачественными или имеют неопределенное клиническое значение.

## **Хромосомный микроматричный анализ по сравнению с кариотипом**

Основным преимуществом хромосомного микроматричного анализа, по сравнению с обычным кариотипом, является более высокое разрешение, что дает больше генетической информации. Кроме того, поскольку ДНК может быть выделена из некультивируемых образцов, результаты обычно получают быстрее, чем при кариотипировании, которое требует культивирования клеток.

Поскольку при проведении хромосомного микроматричного анализа не требуются делящиеся клетки, этот анализ может быть полезен при определении причины гибели плода (11). Кроме того, 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, связанной с человеческим фактором.

В 2012 году в национальном институте детского здоровья и развития человека Юнис Кеннеди Шрайвер (NICHD) было проведено исследование, которое показало, что хромосомный микроматричный анализ выявил все клинически значимые анеуплоидии и несбалансированные транслокации, обнаруженные при проведении традиционного пренатального кариотипирования (8). В соответствии с предыдущими исследованиями (12) при хромосомном микроматричном анализе были определены дополнительные клинически значимые отклонения у 6% плодов, имеющих УЗИ аномалии и нормальный кариотип. Кроме того, были выявлены аномалии у 1,7% плодов с нормальной ультразвуковой картиной и нормальным кариотипом (8). Таким образом, основываясь на результатах NICHD и предыдущих исследований, можно утверждать, что хромосомный микроматричный анализ является наиболее эффективным в обнаружении хромосомной патологии у плодов со структурными аномалиями, выявленными при УЗИ. В отличие от обычного кариотипирования, хромосомный микроматричный анализ не может обнаружить сбалансированные инверсии, сбалансированные транслокации и низкоуровневый мозаицизм. Кроме того, не все микрочипы могут обнаружить триплоидии, хотя большинство триплоидных плодов можно определить при УЗИ. В исследовании NICHD, как и ожидалось, ни триплоидии, ни сбалансированные транслокации не были определены аггау CGH, и образцы, показывающие хромосомный мозаицизм, были исключены из исследования.

Ограничение хромосомного микроматричного анализа заключается в возможности распознавать большое количество вариантов генетических патологий неизвестной клинической значимости. Они встречались в 3,4% случаев в исследовании NICHD (8). Такие результаты были классифицированы как «вероятно, доброкачественные» в 1,8% случаев, а как «скорее всего, патогенные» в 1,6%. В некоторых случаях, клиническая значимость была

неизвестна, так как находки относились к крайне редким или неизученным патологиям, в то время как некоторые результаты имели вариативную пенетрантность. То есть, такие результаты указывают на предрасположенность, но не на обязательность определенной патологии, например, аутизм. В некоторых случаях оценка родительских образцов позволяет выяснить, унаследовал ли ребенок патологию от родителей, или это патология *de novo*. Следует отметить, что интерпретация этих результатов изменялась в связи с появлением дополнительной информации относительно значимости некоторых делеций (дупликаций). Таким образом, ожидается, что интерпретация результатов хромосомного микроматричного анализа увеличит наши знания генома человека, а использование баз данных для связи клинических данных с вариациями числа копий станет более надежным.

## Необходимость консультации пациентов

Помимо результатов генетического тестирования, исследование NICHD подняло ряд важных вопросов касательно применения хромосомного микроматричного анализа в пренатальной диагностике. Выявление вариантов с неопределенной клинической значимостью в ходе проведения данного анализа может вызвать тревогу у пациентов. Это подчеркивает острую необходимость комплексного предварительного осмотра пациента и последующей консультации генетика или генетического консультанта о преимуществах, ограничениях и результатах тестирования для того, чтобы пациент смог принимать обоснованные решения. Пациенты должны быть осведомлены о возможностях и ограничениях хромосомного микроматричного теста до направления на генетическое консультирование.

В ходе NICHD исследования независимая междисциплинарная консультативная группа, состоявшая из клинических генетиков, цитогенетиков и генетических консультантов определила как правильно должна проходить консультация пациентов, у которых выявлены генетические изменения. После NICHD исследования был проведен опрос женщин, получивших неблагоприятные результаты (13). Женщины сообщили о необходимости обширной поддержки и консультирования в отношении анализа. Хотя в NICHD исследование было включено информированное добровольное согласие, многие из этих женщин сообщили о отсутствии хорошего понимания результатов и отметили, что информации недостаточно для принятия решения о сохранении беременности (13).

В дополнение к вариациям числа копий с неопределенной клинической значимостью, анализ может обнаружить генетические аномалии, проявляющиеся во взрослом

состоянии (например, мутаций гена *BRCA* или болезнь Шарко-Мари-Тута), которые могут быть унаследованы от родителя, не имеющего симптомов заболевания. Некоторые виды микрочипов могут использоваться для определения степени родства, а также определения отцовства. Тип и количество сообщаемой информации варьируется в зависимости от типа используемого чипа, а также политики лаборатории, которая выполняет анализ (14). Таким образом, генетическое консультирование и информированное согласие необходимо перед тестированием пациентов с хромосомного микроматричного анализа.

## Рекомендации

Американский колледж акушерства и гинекологии и Общества медицины матери и плода предлагают следующие рекомендации для использования хромосомного микроматричного анализа в пренатальной диагностике:

1. Женщинам, проходящим инвазивную пренатальную диагностику по поводу одной или нескольких структурных аномалий, выявленных при УЗИ у плода, рекомендуется хромосомный микроматричный анализ. Этот тест отменяет необходимость исследования кариотипа плода.

2. Женщинам, у которых не обнаружены аномалии развития плода и проходящим инвазивную пренатальную диагностику, может быть рекомендовано либо кариотипирование, либо проведение хромосомного микроматричного анализа плода.

3. Большинство генетических мутаций, определяемых хромосомным микроматричным анализом, не связаны с увеличением возраста матери, поэтому использование этого теста для пренатальной диагностики не должно ограничиваться женщинами в возрасте 35 лет и старше.

4. В случаях внутриутробной гибели плода или мертворождения, когда необходимо дальнейшее проведение цитогенетического анализа, хромосомный микроматричный анализ ткани плода (например, околоплодных вод, плаценты, и т.д.) рекомендуется из-за повышенной вероятности получения результатов и выявления аномалий, являющихся причиной гибели плода.

5. Комплексный осмотр до теста и консультация генетика или консультанта о преимуществах, ограничениях и результатах хромосомного микроматричного анализа после теста, имеют важное значение.

6. Проведение хромосомного микроматричного анализа невозможно без добровольного информированного согласия, в которое должна быть включена информация о возможности получения результатов с неясной клинической значимостью, информации об отцовстве, кровном родстве, а также о заболеваниях, которые могут проявиться во взрослом состоянии.

## Информация для пациентов при проведении хромосомного микроматричного анализа

1. Хромосомный микроматричный анализ выявляет практически все аномалии, которые могут быть выявлены у плода при кариотипировании, а также может выявить субмикроскопические перестройки. Но это не означает, что анализ может выявить ВСЕ генетические нарушения.

2. Определенные заболевания, выявляемые данным анализом, могут иметь различную степень тяжести (от легкой до тяжелой). Невозможно предсказать степень тяжести заболевания у данного пациента.

3. Тест может использоваться для определения степени родства (близкородственные браки), а также определения отцовства.

4. Генетические изменения, обнаруженные хромосомным микроматричным анализом, могут вызывать заболевания, а могут быть нейтральными. Образцы обоих родителей могут потребоваться для уточнения клинической значимости полученных результатов.

5. Некоторые из выявленных генетических изменений могут не проявляться в периоде новорожденности и детства, а у взрослых иметь неизвестную степень тяжести. Такие изменения могут указывать на то, что один из родителей имеет ту же болезнь, симптомы которой у него еще не проявились.

## Список литературы:

1. de Vries BB, Pfundt R, Leisink M, Koolen DA, Vissers LE, Janssen IM, et al. Diagnostic genome profiling in mental retardation. *Am J Hum Genet* 2005;77:606–16.
2. Stankiewicz P, Beaudet AL. Use of array CGH in the evaluation of dysmorphism, malformations, developmental delay, and idiopathic mental retardation. *Curr Opin Genet Dev* 2007;17:182–92.
3. Le Caignec C, Boceno M, Saugier-Verber P, Jacquemont S, Joubert M, David A, et al. Detection of genomic imbalances by array based comparative genomic hybridisation in fetuses with multiple malformations. *J Med Genet* 2005;42:121–8.
4. Van den Veyver IB, Patel A, Shaw CA, Pursley AN, Kang SH, Simovich MJ, et al. Clinical use of array comparative genomic hybridization (aCGH) for prenatal diagnosis in 300 cases. *Prenat Diagn* 2009;29:29–39.
5. Maya I, Davidov B, Gershovitz L, Zalstein Y, Taub E, Coppinger J, et al. Diagnostic utility of array-based comparative genomic hybridization (aCGH) in a prenatal setting. *Prenat Diagn* 2010;30:1131–7.
6. Hillman SC, Pretlove S, Coomarasamy A, McMullan DJ, Davison EV, Maher ER, et al. Additional information from array comparative genomic hybridization technology over conventional karyotyping in prenatal diagnosis: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2011;37:6–14.
7. Srebniak M, Boter M, Oudsluijs G, Joosten M, Govaerts L, Van Opstal D, et al. Application of SNP array for rapid prenatal diagnosis: implementation, genetic counselling and diagnostic flow. *Eur J Hum Genet* 2011;19:1230–7.
8. Wapner RJ, Martin CL, Levy B, Ballif BC, Eng CM, Zachary JM, et al. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med* 2012;367:2175–8.
9. Invasive prenatal testing for aneuploidy. ACOG Practice Bulletin No. 88. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet Gynecol* 2007;110:1459–67.
10. Vissers LE, Veltman JA, van Kessel AG, Brunner HG. Identification of disease genes by whole genome CGH arrays. *Hum Mol Genet* 2005;14(Spec No. 2):R215–23.
11. Reddy UM, Page GP, Saade GR, Silver RM, Thorsten VR, Parker CB, et al. Karyotype versus microarray testing for genetic abnormalities after stillbirth. NICHD Stillbirth Collaborative Research Network. *N Engl J Med* 2012;367:2185–93.
12. Shaffer LG, Rosenfeld JA, Dabell MP, Coppinger J, Bandholz AM, Ellison JW, et al. Detection rates of clinically significant genomic alterations by microarray analysis for specific anomalies detected by ultrasound. *Prenat Diagn* 2012;32:986–95.
13. Bernhardt BA, Soucier D, Hanson K, Savage MS, Jackson L, Wapner RJ. Women's experiences receiving abnormal prenatal chromosomal microarray testing results. *Genet Med* 2013;15:139–45.
14. Grote L, Myers M, Lovell A, Saal H, Lipscomb Sund K. Variability in laboratory reporting practices for regions of homozygosity indicating parental relatedness as identified by SNP microarray testing. *Genet Med* 2012;14:971–6.



г. Москва

Подольское шоссе, д. 8, стр. 5

Телефон: 8 (495) 660-83-77

E-mail: mail@genomed.ru