

Array-CGH в диагностике геномных болезней у детей с врожденными пороками сердца и экстракардиальной патологией

Слепухина А.А.^{1,2}, Скрябин Н.А.¹, Кашеварова А.А.¹,
Новикова М.А.³, Лифшиц Г.И.², Лебедев И.Н.¹

¹ Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, Россия; a.slepukhina@medgenetics.ru

² Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

³ Сибирский федеральный биомедицинский исследовательский центр им. академика Е.Н. Мешалкина, Новосибирск, Россия

Каждый сотый новорожденный имеет порок сердца, и в 10% случаев они являются причиной младенческой смертности. Генетические изменения могут стать основой возникновения сердечно-сосудистых аномалий. У части пациентов с врожденными пороками сердца, сопровождающимися экстракардиальной патологией, могут быть выявлены патогенные вариации числа копий ДНК. В настоящем исследовании 15 пациентам в возрасте от 1 месяца до 4 лет, перенесшим оперативное лечение по поводу врожденного порока сердца, был проведен полногеномный анализ с использованием ДНК-микрочипов высокого разрешения SurePrint G3 Human Genome CGH Microarray Kit, 8x60K. Все пациенты имели экстракардиальную патологию. У 7 из 15 (46%) детей выявлены патогенные и вероятно патогенные вариации числа копий ДНК: у 4 пациентов диагностирован синдром микроделеции 22q11.2, по одному пациенту имели синдромы микроделеции 7q11.23 и микроделеции 1p36, еще один пациент имел микроудупликацию в регионе 20p13. Полученные данные свидетельствуют о том, что aCGH отличается высокой диагностической ценностью при выявлении геномного дисбаланса у детей с врожденными пороками сердца и экстракардиальной патологией.

Ключевые слова: вариации числа копий ДНК, врожденные пороки сердца, микроделеции, микроудупликации, ДНК-микрочипы.

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Array-CGH in diagnostics of genomic diseases in children with congenital heart diseases and extracardiac pathology

Slepukhina A.A.^{1,2}, Skryabin N.A.¹, Kashevarova A.A.¹,
Novikova M.A.³, Lifshits G.I.², Lebedev I.N.¹

¹ Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia; e-mail: a.slepukhina@medgenetics.ru

² Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

³ Meshalkin Siberian Federal Biomedical Research Center, Novosibirsk, Russia

Each hundredth newborn has a heart defect, and it is the cause of infant mortality in 10% of cases. Genetic changes can become the basis for the occurrence of cardiovascular anomalies. The part of patients with congenital heart defects (CHD) and extracardiac pathology have pathogenic copy number variations. In the present study 15 patients aged 1 month to 4 years, who underwent operative treatment for CHD, were examined using high-resolution DNA microarrays SurePrint G3 Human Genome CGH Microarray Kit, 8x60K. All patients had an extracardiac pathology. Seven out of 15 (46%) children had pathogenic and probably pathogenic copy number variations: 4 patients — microdeletion syndrome 22q11.2, one — microdeletion syndromes 7q11.23, microdeletion 1p36, microduplication at the 20p13. Thus, aCGH has a high diagnostic power in detecting genomic imbalance in children with CHD and extracardiac pathology.

Key words: Copy number variations, congenital heart defects, microdeletion, microduplication, microarray.

Введение

Сравнительная геномная гибридизация на ДНК-чипах (array-CGH, aCGH) — метод молекулярного кариотипирования, нашедший свое применение и получивший признание в области нейрокогнитивных заболеваний, в 2011 году рекомендованный для диагностики геномного дисбаланса у лиц с расстройствами аутистического спектра (РАС), задержкой развития, интеллектуальной недостаточностью, когнитивными расстройства-

ми и множественными пороками развития [1]. Его широкое применение послужило установлению доли генетической патологии, обусловленной вариациями числа копий ДНК (Copy Number Variations, CNVs), под которыми понимают наличие фрагментов ДНК размером более одной тысячи пар нуклеотидов, по числу копий отличающихся от референсного генома [1]. Возникающие системные изменения связывают с увеличением или уменьшением дозы множества генов, расположен-

ных в участке, подверженном изменению числа копий ДНК и с расстройством координации экспрессии генов [2], что приводит к развитию микроделеционных и микродупликационных синдромов (ММС). В англоязычной литературе CNVs изначально были отнесены к геномным заболеваниям, т.к. выявлялись в ходе полногеномного анализа, как правило, с использованием микрочипов, с отсутствием данных по их структурному положению [3]. В классификации, применяемой клиническими генетиками, CNVs скорее были бы отнесены к хромосомным заболеваниям в результате структурных хромосомных перестроек. Доля выявляемых патогенных CNVs варьирует в разных нозологических группах. При умственной отсталости неясной этиологии она составляет 14—18% случаев [4]; при аутизме и РАС — от 6 до 10% случаев [5]; при спонтанных прерываниях беременности — 1—13% случаев, причем доля CNVs с неизвестной клинической значимостью в этой группе может достигать до 40% [6].

Активное использование аCGH в диагностике у детей с врожденными пороками сердца (ВПС) пока является сравнительно новым направлением и активно внедряется с 2014—2015 гг. Это связано с накоплением информации о клинической значимости CNVs, а также о присутствии генов, участвующих в кардиогенезе, в составе микроструктурных перестроек хромосом. При ВПС доля патогенных CNVs может колебаться от 3 до 26% [7, 8]. Ключевыми в формировании такого разброса являются критерии формирования групп сравнения: синдромальный или несиндромальный порок сердца; изолированный или сочетанный порок; CNV выявлена пренатально или постнатально; CNV унаследована или возникла *de novo*; установление доли патогенных CNVs в определенных нозологических группах.

Среди выявляемых вариаций можно выделить «рекуррентные» и редкие CNVs. И те, и другие, могут лежать в основе ВПС. К числу рекуррентных CNVs в основном относятся известные микроделеции регионов 22q11, 7q11.23, 17p13, соответствующие синдромам Ди Джорджи, Вильямса, Миллера—Дикера. Как правило, это достаточно хорошо воспроизводимые хромосомные перестройки одинакового размера, с повторяющимися точками разрывов, возникающие из-за ограничений региона низкокопийными повторами ДНК (или другими повторяющимися элементами генома), что способствует неаллельной гомологичной рекомбинации — основному молекулярно-генетическому механизму, лежащему в основе формирования повторяющихся CNVs. Существует ряд других молекулярных механизмов, которые приводят к формированию редких CNVs [9]. Абсолютное большинство микроделеционных синдромов, в том числе затрагивающих области 22q11, 8p23.1, 7q11.23, 16p13, 17p11, 17p13, приводя к множественному повреждению органов и систем, сопровождаются ВПС. ВПС при микроделециях или микродупликациях хромосом являются столь же высо-

копенетрантным признаком, как и для хромосомных аномалий. Например, при трисомии 21 ВПС характерны для 60—80% больных, а при микроделеции 22q11 — для 60—85% пациентов.

Более того, почти все выявляемые ВПС: дефект межжелудочковой или межпредсердной перегородки, стеноз выносящих отделов, уменьшение камер сердца, транспозиция сосудов — являются общими как для фенотипического проявления анеуплоидий, так и для патогенных CNVs. Особенностью пороков сердца для большинства ММС является отсутствие строгой специфичности повреждения, что становится одной из ключевых проблем дифференциальной диагностики заболеваний в пренатальном периоде. Клинический полиморфизм вызывает серьезные затруднения как при выявлении специфики встречаемости определенных морфологических изменений, так и при продумывании дизайна научного исследования, что напрямую отражается в разбросе оценочных значений частоты CNVs в нозологической структуре ВПС. Ввиду сложности генетической организации CNVs, систематизация данных затруднена, тем не менее, невозможно переоценить вклад микрочиповых исследований в диагностику геномного дисбаланса. При интерпретации получаемых результатов врач лабораторной диагностики сталкивается с тремя пока не нашедшими свое однозначное и логическое объяснение проблемами: неполная пенетрантность CNVs; клинический полиморфизм пороков сердца, что осложняет формирование группы риска для проведения исследования; неясное клиническое значение, что особенно характерно для впервые выявленных или редких CNVs.

В обзоре Лалани с соавторами у пациентов с пороками сердца описано около 40 CNVs, в клиническую картину которых входит более 20 типов кардиоваскулярных аномалий, причем при одном и том же синдроме обязательно встречаются различные варианты пороков и их сочетания [8]. Особенности морфологического повреждения сердца пока недостаточно изучены в силу редко проводимой на практике диагностики геномного дисбаланса у пациентов с ВПС. Для микроделеций, известных достаточно давно, такая специфичность установлена. Например, для синдрома микроделеции 22q11 характерны конотрункальные пороки, для микроделеции 7q11.23 — сужение восходящего отдела аорты (надклапанный стеноз аорты) [2]. Как правило, микроделеции в регионах 22q11 и 7q11.23 не встречаются у условно здоровых лиц, что не всегда характерно для некоторых других CNVs.

Таким образом, изучение характеристик выявленной структурной перестройки, ее размера, захватываемых генов и регуляторных областей, вероятно, поможет объяснить клинический полиморфизм и тяжесть проявлений ММС. Тем не менее, ведущим в понимании формирования пороков сердца остается ген-кандидатный подход.

Материал и методы

Обследовано 15 детей, перенесших оперативное лечение по поводу ВПС. Средний возраст больных ($M \pm s$) составил $20,7 \pm 13$ месяцев (от 1 месяца до 4 лет). Среди обследованных пациентов было 10 мальчиков и 5 девочек. Все пациенты имели ВПС и экстракардиальную патологию. Диагноз ВПС устанавливался на основании эхокардиографических данных, согласно рекомендациям РКО, а также клинических, электрокардиографических, биохимических и патологических характеристик заболевания с оценкой физиологических изменений кровотока и гемодинамики порока [10]. Согласно протоколу исследования, критерием включения являлось сочетание ВПС с экстракардиальной патологией. К экстракардиальной патологии были отнесены: врожденные пороки развития других органов и систем, лицевые дизморфии, установленные заболевания и/или глобальное отставание в развитии, задержка психического, психоречевого, речевого, психомоторного, интеллектуального и физического развития. Исследование одобрено локальным этическим комитетом организации и проводилось после получения письменного согласия законных представителей детей.

ДНК для молекулярно-цитогенетического анализа выделяли с использованием стандартного протокола фенол-хлороформной экстракции из лимфоцитов периферической крови. Мечение анализируемой и контрольной ДНК проводилось с использованием набора SureTag Complete DNA Labeling Kit в соответствии с протоколом производителя (Agilent Technologies, США). Гибридизацию проводили на ДНК-микрочипах высокого разрешения SurePrint G3 Human Genome CGH Microarray Kit, 8x60K в соответствии с протоколом, рекомендованным производителем (Agilent Technologies, США). Данные получали с использованием программ Scan (v. 9.1.1.1), визуализировали в программе Cytogenomics (v. 3.0) (Agilent Technologies, США) и анализировали с использованием публично доступных баз данных DGV [11] и DECIPHER [12]. Описания функций генов, локализованных в областях CNV, были получены из баз данных NCBI Gene [13], GeneCards [14] и OMIM [15].

Верификацию выявленных патогенных и условно патогенных CNVs проводили с использованием полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (РТ-ПЦР) по ранее опубликованному подробному описанию технологии [16]. В качестве контроля использовали праймеры на последовательность гена *HEXB*:

HEXB F 5'-CCGGGCACAATAGTTGAAGT-3'
HEXB R 5'-TCCTCCAATCTTGTCATAGC-3'

Подбор оптимальных праймеров для проведения реакции проводили с использованием программ Primer3 [17]. Проверку специфичности последовательности выбранных праймеров проводили с помощью программы Primer-BLAST [18].

Результаты и обсуждение

Среди 15 пациентов с ВПС и множественными аномалиями развития методом а-CGH у 7 (46%) были выявлены патогенные и условно патогенные CNVs. Подробная фенотипическая картина пациентов представлена в таблице.

Большой цилиндрический нос с узким основанием крыльев у пациентов № 1 и № 2, в сочетании со специфическими пороками сердца стали основанием в подозрении микроделеции 22q11. Пороки развития сосудов, формирующихся в ходе редукции аортальных дуг, являются частыми для этой микроделеции, составляя около 35% [8]. У пациентов с перерывом дуги аорты типа В микроделеция 22q11 встречается в 56% случаев [19]. Пациент № 11 также имел порок, схожий по формированию (перерыв дуги аорты тип А), но иные лицевые аномалии (широкая выступающая переносица, треугольная форма лица, микрогнатия). У пациентов № 1 и № 2 выявлены микроделеции $arr[hg18] \ 22q11.21(17299942_19770514) \times 1$ размером 2,47 млн п.н. и $arr[hg18] \ 22q11.21(17299942_18691763) \times 1$ размером 1,39 млн п.н. соответственно. У пациента № 11 не выявлено патогенных CNVs. У пациента № 3 была выявлена идентичная пациенту № 1 делеция $arr[hg18] \ 22q11.21(17299942_19770514) \times 1$, размером 2,47 млн п.н., а у пациента № 4 — делеция $arr[hg18] \ 22q11.21(17299942_19709958) \times 1$, размером 2,41 млн п.н. CNVs пациентов № 1 — № 4 захватывали ген *TBX1*, гаплонедостаточность которого приводит к развитию пороков сердца. Фенотипически пациенты имели множественные и более разнообразные проявления, по сравнению с типичной картиной микроделеции 22q11, а также нехарактерные признаки, такие как полимикрогирию (пациент № 3) и поведенческие отклонения (пациенты № 3 и 4). Ни один из четырех пациентов с делецией 22q11.21 на момент обследования не имел указаний в анамнезе на патологию тимуса, частые заболевания или иные признаки иммунодефицита. Ни у одного из них не было расщелины неба, в том числе подслизистой, хотя расщелина губы и/или неба является патогномоничным признаком для этой микроделеции и наблюдается у 30—65% пациентов [15]. Пороки сердца у пациентов с микроделецией 22q11 были выявлены с рождения. В пренатальном периоде УЗ-маркеры ВПС и других аномалий не обнаружены. Пациент № 3 был проконсультирован генетиком, после получения результата стандартного цитогенетического исследования о нормальном кариотипе, у генетика больше не наблюдался.

Пациент № 5 с микроделецией $arr[hg18] \ 7q11.23(72364514_73777326) \times 1$, размером 1,41 млн п.н., имел классический фенотип синдрома Вильямса. Делеция включала ген *ELN*, мутации в котором лежат в основе развития надклапанного стеноза аорты.

**Клинико-фенотипическая характеристика пациентов и результаты а-CGN анализа
(патогенные и условно патогенные CNVs)**

№	Возраст (мес.)	CNV	ВПС	Лицевые аномалии	Экстракардиальная патология и микроаномалии развития
1	2	3	4	5	6
1	1	arr[hg18] 22q11.21 (17299942_1977051 4)x1 dn	Аберрантная левая подклю- чичная артерия. ДМЖП. Дву- створчатый аортальный кла- пан.	Большой цилиндрический нос с узким основанием кры- льев.	Врожденная гидронефротическая трансформация обеих почек 3 степени, двусторонний гидроуре- тер. Двусторонний крипторхизм. Церебральная ишемия 1 ст., острый период, синдром гипер- возбудимости.
2	26	arr[hg18] 22q11.21 (17299942_1869176 3)x1 dn	Атрезия легочной артерии, тип В. ДМЖП, ДМПП. Трикус- пидальная недостаточность 2 ст., Множественные боль- шие аортолегочные коллате- рали. МАРС: ложная хорда в полости левого желудочка.	Большой цилиндрический нос с узким основанием кры- льев.	Синдром двигательных наруше- ний, нарушение сна. ППЦНС, СДВГ. Хроническая венозная и артериальная гипоксемия. Дист- рофия 1-2 ст.
3	31	arr[hg18] 22q11.21 (17299942_1977051 4)x1	Тетрада Фалло	Большой цилиндрический нос с узким основанием кры- льев.	Аномалия развития головного мозга, полимикрогирия левой те- менной доли. Задержка темпов психического развития сочетан- ного генеза, когнитивные особен- ности. ЗППР. СДВГ.
4	25	arr[hg18] 22q11.21 (17299942_1970995 8)x1	Тетрада Фалло	Лобные бугры, широкое основание носа, маленькие ноздри, эпикант, приоткры- тый рот, пухлая нижняя губа	Глобальная задержка развития, СДВГ, отсутствие речи, поведен- ческие отклонения — детская ма- стурбация.
5	15	arr[hg18] 7q11.23 (72364514_7377732 6)x1 dn	Надклапанный аортальный стеноз	Короткий нос с вздернутым кончиком и развернутыми ноздри, большие пухлые губы, звездчатая радужка	ЗППР, добавочные соски.
6	15	arr[hg18] 1p36.33-p36.32 (749625_3987303)x 1	ДМЖП	Лобные бугры, широкая впавшая переносица, минда- левидный разрез глаз, эпи- кант.	ЗМР и ЗППР. Долихоцефалия. Низкорасположенные уши. Удли- нение средней и концевой фаланг 4 пальца ноги. Беременность на- ступила в результате ЭКО.
7	4	arr[hg18] 20p13 (2412867_3824216) x3 mat	ДМЖП, ООО, ОАП, Недоста- точность кровообращения 2 ст. Частичный аномальный дренаж легочных вен в верх- нюю полую вену. Высокая ле- гочная гипертензия.	Припухлость век, большие щеки, нос грушевидный, квадратная форма головы	Недоношенность 33 нед. Бронхо- легочная дисплазия. Умеренная наружная гидроцефалия. Анома- лия строения бронхиального де- рева правого лёгкого. Дыхатель- ная недостаточность 2 ст.; УЗИ 20 нед.: ВПС, ЗВУР тяж. ст.
8	2	Не выявлено пато- генных и условно патогенных вариан- тов.	Коарктация аорты. ДМЖП. ОАП. ООО. Трикуспидальная недостаточность 1 ст. Легоч- ная гипертензия 1 ст.	Телекант, гипертелоризм.	ППЦНС, синдром мышечной дист- онии, синдром вегето-висцера- льных нарушений. Гидронефроти- ческая трансформация правой почки. Уретерогидронефроз справа III-IV ст. Дистрофия 2 ст. УЗИ 22 нед.: Spina bifida, ВПС, ги- перэкзогенный кишечник, врож- денный порок мочеполовой сис- темы.
9	20	Не выявлено пато- генных и условно патогенных вариан- тов.	ДМПП. Митральная недоста- точность 1-2 ст. Легочная ги- пертензия 2 ст. Общий се- мейный анамнез ВПС.	Лобные бугры. Гипертело- ризм, эпикант, антимоноло- идный разрез глаз, впавшая широкая переносица, откры- тый рот с пухлой вывернутой нижней губой, микрогнатия, низко посаженные уши	ППЦНС, дистрофия. ЗМР и ЗППР, СДВГ, частые ОРВИ. Макроцефа- лия, брахидактилия. Задержка роста.

Таблица (окончание)

1	2	3	4	5	6
10	25	Не выявлено патогенных и условно патогенных вариантов.	ДМЖП. Аневризма межжелудочковой перегородки. Ложная хорда в полости ЛЖ. ООО. Подклапанный аортальный стеноз. Митральная недостаточность 1 ст. Трикуспидальная недостаточность 1 ст, Легочная гипертензия 1 ст.	Широкое основание носа.	ЗППР. ППЦНС. Дистрофия 1-2 ст. Осложненный семейный анамнез: синдром аутизма и интеллектуальной недостаточностью.
11	48	Не выявлено патогенных и условно патогенных вариантов.	Аорто-легочное окно (II тип). Перерыв дуги аорты (типа А). ДМЖП. ДМПП. ОАП. Трикуспидальная недостаточность 2 ст.	Треугольное лицо, широкая выступающая переносица, прямые брови, короткий нос, короткий фильтр, ретро-, микрогнатия, острый подбородок, треугольные зубы, дефекты ушей.	Рецидивирующий бронхит. ДН 1-2 ст. по обструктивному типу. Асимметричная воронкообразная деформация грудной клетки. Пупочная грыжа, крипторхизм. Варусная деформация стоп. ЗППР. Изменения формы головы по типу долихоцефалии (выступающий затылок). Смещение макушки.
12	15	Не выявлено патогенных и условно патогенных вариантов.	Единственный желудочек сердца, левый, одноприточный. Трикуспидальная атрезия тип 1В. ДМПП. ОАП. Аберрантная правая подключичная артерия. Вторичная легочная гипертензия.	Низкий лоб, лобные бугры, широкая впавшая переносица, ноздри прижаты, круглый мясистый кончик носа, короткий фильтр крупный рот, одутловатые щеки, готическое небо. Деформация ушных раковин.	ППЦНС, синдром внутричерепной гипертензии. ЗВУР 2 ст. Язвенно-некротический энтероколит. Брахицефалия, незаращение большого родничка. Кожная синдактилия 2, 3 пальцев стоп, сандалевидная щель. ЗППР. Задержка роста.
13	17	Не выявлено патогенных и условно патогенных вариантов.	ДМЖП, ДМПП. Аневризма межпредсердной перегородки Трикуспидальная недостаточность 1 ст. Легочная гипертензия 2 ст. Добавочные хорды в полости ЛЖ	Эпикант, назальный мост, нос вздернут, ноздри развернуты, фильтр длинный сглаженный, уменьшение средней трети лица, большие уши.	Атрезия пищевода, нижний трахеопищеводный свищ. Бронхолегочная дисплазия новая форма. ППЦНС, синдром вегето-висцеральных дисфункций, СДВГ, ЗМР и ЗППР. Деформация стоп. Хроническая белково-энергетическая недостаточность 2 ст. Задержка роста.
14	32	Не выявлено патогенных и условно патогенных вариантов.	Тетрада Фалло	Лобные бугры. Гипертелоризм незначительный, эпикант, впалая переносица, микрогнатия, рот приоткрыт, зубы неровные — неправильное прорезывание	Долихоцефалия (выступающий затылок), смещение макушки. Врожденная аномалия развития верхней левой конечности: укорочение, отсутствие локтевой кости, костей кисти, один трехфаланговый палец. Множественные пятна цвета кофе с молоком. Гипотрофия, гипотиреоз, пиелозктазия, миопия -2/-3, ангиопатия сетчатки, УЗИ 32 нед. — пиелозктазия, ЗВУР 1 ст., ЗМР, ЗППР. Множественные очаги в глубоких отделах височной доли справа, в мосте, в передних долях и средних ножках мозжечка с обеих сторон неясного генеза.
15	35	Не выявлено патогенных и условно патогенных вариантов.	Общий артериальный ствол 1 тип. ДМЖП. ООО. Высокая легочная гипертензия	Миндалевидный разрез глаз, удлинённый фильтр, ноздри прижаты. Аномалия уха (двойной противозавиток).	Врожденная аномалия развития костной системы: аномалия крестцово-копчикового отдела, двусторонняя пяточно-варусная косолапость, гипоспадия венечная форма. Пахово-мошоночная грыжа (оперирован), крипторхизм (оперирован). Стеноз левого главного бронха. Поперечная складка ладони. Деформация желчного пузыря. Гипотонус мышц. Выраженная ЗППР. СДВГ. Поведенческие отклонения.

Примечание. ДМЖП — дефект межжелудочковой перегородки; ДМПП — дефект межпредсердной перегородки; ЗВУР — задержка внутриутробного развития; ЗМР — задержка моторного развития; ЗППР — задержка психоречевого развития; ОАП — открытый артериальный проток; ООО — открытое овальное окно; ППЦНС — перинатальное поражение центральной нервной системы; СДВГ — синдром дефицита внимания и гиперактивности

У пациента № 6 выявлена микроделеция $\text{arr[hg18]1p36.33-p36.32(749625_3987303)x1}$, размером 3,24 млн п.н., включающая критический регион для развития аномалий сердца, содержащий два гена, участвующих в патогенезе пороков развития данного органа — *SKI* и *PRDM16* [20, 21]. Данная абберрация обуславливает синдром микроделеции 1p36. Из особенностей анамнеза: беременность наступила с использованием вспомогательных репродуктивных технологий после четырех лет бесплодия. Делеция 1p36 является весьма распространенной (1:5000), наряду с микроделцией 22q11, имеет фенотипически разнообразные проявления с преимущественным поражением нервной системы, пациенты могут иметь как отставание в развитии или порок сердца, так и сочетанное поражение нескольких систем одновременно [21].

Пациент № 7 преждевременно рожден на 33 неделе беременности. Помимо бронхолегочной дисплазии недоношенных детей, у него отмечалась аномалия строения бронхиального дерева. Микроудупликация $\text{arr[hg18]20p13(2412867_3824216)x3}$ размером 1411 т.п.н. была расценена как потенциально патогенная, так как отсутствует в таком виде в DGV, содержит 5 генов, кодирующих энзимы, ген транскрипционного фактора *EBF4*, влияющий на миграцию клеток нервного гребня, гены, ответственные за половое созревание, деторождение (гены гонадотропин релизинг гормона (ГРнГ) и окситоцина). Ген *ADAM33*, также включенный в регион дупликации, связан с межклеточными взаимодействиями, ассоциирован с ранней детской астмой и участвует в регуляции функционирования легких [22]. Ген *CENPB* кодирует высококонсервативный белок, являющийся компонентом центромеры, в том числе экспрессируется в гладкомышечных клетках сосудов и связан с перекрестной активацией MAP-киназного пути [23]. Известны описания пациентов с делецией региона 20p13, который частично пересекается с найденным в генах ГРнГ и окситоцина. У двух пациенток описаны отклонения в наступлении полового созревания, предположительно возникшие из-за изменения доз указанных генов [24]. Для дальнейшего прогноза репродуктивного здоровья пациентки педиатру и родителям следует внимательно отслеживать клинические изменения в пубертатном периоде. У другой пациентки с делецией региона 20p13, перекрывающейся с выявленной дупликацией описаны сердечно-сосудистые мальформации [12]. Микроудупликация унаследована от матери, соответственно, возможно влияние данной микроудупликации на экспрессию гена окситоцина, который запускает процесс родов, и может приводить к преждевременным родам. В любом случае феномен требует дальнейшего более детального изучения. Сходные микроудупликации в регионе 20p13 в базе DECIPHER отмечены как CNVs с неясным клиническим значением.

У пациентов № 8—15 не было выявлено патологических CNVs, подробные фенотипы приведены с целью формирования у читателя представления об экстракардиальной

патологии в группе пациентов с риском генетических заболеваний и понимания, что на данном этапе нет четких клинических критериев разделения таких пациентов.

Все выявленные CNVs подтверждены методом РТ-ПЦР. У пациентов № 1, 2, 5 микроделеции возникли *de novo*, у пациентов № 3, 6 проверено наследование только от матерей — делеции не унаследованы, пациент № 4 — усыновлен, материал родителей не доступен. У пациента № 7 подтвержденная микроудупликация в регионе 20p13 оказалась материнского происхождения.

Таким образом, молекулярная диагностика геномного дисбаланса на ДНК-чипах у пациентов с пороками сердца является достаточно эффективным методом выявления заболеваний. Вероятно, дальнейшим шагом, по диагностике генетических дефектов у пациентов с сочетанной патологией должно быть полноэкзомное или полногеномное секвенирование, которое дает хорошие результаты: так, среди 1213 пациентов с ВПС, сочетающимися с нейрокогнитивными заболеваниями, у 20% были найдены точковые мутации [25].

Учитывая, что ВПС является первой нозологией, по поводу которой ребенок получает медицинскую помощь, ранняя диагностика генетического заболевания будет способствовать более критичной и внимательной оценке состояния пациента до и после оперативного вмешательства, а также может повлиять на срок назначения операции. Наличие патогенной CNV влияет на прогноз заболевания, его течение, развитие послеоперационных осложнений, что отражено в публикациях по наиболее изученному по своему клиническому течению синдрому микроделеции 22q11 [26, 27]. Сочетание сопутствующей дисфункции органов и систем является фактором операционного риска и влияет на прогноз для дальнейшей жизнедеятельности, даже при качественной своевременной хирургической коррекции ВПС. Как правило, ВПС диагностируется у пациента сразу после рождения и, в зависимости от его тяжести, подвергается оперативному лечению. Если достигнута компенсация состояния, основным лечащим врачом пациента является кардиолог, ребенок значительное время находится на стационарном лечении, как правило, у генетика не обследуется и не наблюдается. Таким образом, обследование у генетика на этапе кардиологического лечения или перед кардиохирургическим вмешательством и проведение молекулярно-цитогенетической диагностики является наиболее рациональным.

Так как успешность хирургического лечения ВПС является определяющим и критичным фактором для снижения детской смертности, многие специалисты подтверждают особую важность пренатальной, неонатальной, предоперационной диагностики наследственных заболеваний, и её влияние на восстановительный послеоперационный период [28, 29]. Поэтому выявление геномных заболеваний является первоочередной задачей при формировании групп риска, профилактируемых и усиленно контролируемых пациентов с пороками сердца по развитию каких-либо послеоперационных осложнений. Ранняя по-

становка диагноза генетического заболевания является имманентной частью нехирургического риска, т.к. не может быть модифицирована, в отличие, например, от инфекции. Существуют и некоторые отдаленные прогностические факторы, которые могут повлиять на здоровье ребенка в целом, например, риск развития шизофрении и шизотипического спектра заболеваний. Шизофрения развивается у 25% пациентов с микроделецией 22q11, риск развития шизотипических состояний у них в 8 раз выше среднепопуляционного [30, 31].

Выявление наследственных заболеваний в пренатальный период, период новорожденности, у детей раннего возраста с множественными аномалиями развития существенно влияет на хирургическую тактику и исходы лечения, что лежит в основе требований к совершенствованию диагностики микроделеционных и микродупликационных синдромов и применению полногеномного анализа с использованием ДНК-микрочипов.

Список литературы

- Kearney HM, Thorland EC, Brown KK et al. American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants. *Genet Med*. 2011;13(7):680-5. doi:10.1097/GIM.0b013e3182217a3a.
- Fahed AC, Gelb BD, Seidman JG, Seidman CE. Genetics of congenital heart disease: the glass half empty. *Circ Res*. 2013;112(4):707-20. doi:10.1161/CIRCRESAHA.112.300853.
- Simmons AD, Carvalho CMB, Lupski JR. What Have Studies of Genomic Disorders Taught Us About Our Genome? B: Methods in molecular biology (Clifton, N.J.). Vol 838.; 2012:1-27. doi:10.1007/978-1-61779-507-7_1.
- Hochstenbach R, Buizer-Voskamp JE, Vorstman JAS, Ophoff RA. Genome Arrays for the Detection of Copy Number Variations in Idiopathic Mental Retardation, Idiopathic Generalized Epilepsy and Neuropsychiatric Disorders: Lessons for Diagnostic Workflow and Research. *Cytogenet Genome Res*. 2011;135(3-4):174-202. doi:10.1159/000332928.
- Persico AM, Napolioni V. Autism genetics. *Behav Brain Res*. 2013;251:95-112. doi:10.1016/j.bbr.2013.06.012.
- Bagheri H, Mercier E, Qiao Y et al. Genomic characteristics of miscarriage copy number variants. *Mol Hum Reprod*. 2015;21(8):655-661. doi:10.1093/molehr/gav030.
- Thienpont B, Mertens L, de Ravel T et al. Submicroscopic chromosomal imbalances detected by array-CGH are a frequent cause of congenital heart defects in selected patients. *Eur Heart J*. 2007;28(22):2778-84. doi:10.1093/eurheartj/ehl560.
- Lalani SR, Belmont JW. Genetic basis of congenital cardiovascular malformations. *Eur J Med Genet*. 2014;57(8):402-13. doi:10.1016/j.ejmg.2014.04.010.
- Кашеварова АА, Лебедев ИН. Геномная архитектура хромосомных болезней человека. *Генетика*. 2016;52(5):511-528.
- Lang RM, Bierig M, Devereux RB, et al. Рекомендации по количественной оценке структуры и функции камер сердца. *Российский кардиологический журнал*. 2012;3(95):3-28.
- DGV. Available at: <http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>.
- Firth HV. DECIPHER: Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans using Ensembl Resources. *Am J Hum Genet*. 2009;84:524-533.
- NCBI Gene. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>.
- GeneCards. Available at: <http://www.genecards.org/>.
- OMIM. Available at: <http://www.omim.org/>.
- Слепухина АА, Кашеварова АА, Скрыбин НА и др. Алгоритм молекулярно-цитогенетической диагностики микроделеционных синдромов врожденных пороков развития. В сборнике: Методические рекомендации по медицинским технологиям диагностики и лечения хромосомных, орфанных и многофакторных заболеваний человека/ под редакцией проф. В.А. Степанова. Академиздат. Новосибирск; 2016:175-194.
- Primer3. Available at: <http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>.
- primer-blast. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>.
- Peyvandi S, Lupo PJ, Garbarini J, и др. 22q11.2 deletions in patients with conotruncal defects: data from 1,610 consecutive cases. *Pediatr Cardiol*. 2013;34(7):1687-94. doi:10.1007/s00246-013-0694-4.
- Zaveri HP, Beck TF, Hernandez-Garcia A et al. Identification of critical regions and candidate genes for cardiovascular malformations and cardiomyopathy associated with deletions of chromosome 1p36. *PLoS One*. 2014;9(1):e85600. doi:10.1371/journal.pone.0085600.
- Jordan VK, Zaveri HP, Scott DA. 1p36 deletion syndrome: an update. *Appl Clin Genet*. 2015;8:189-200. doi:10.2147/TACG.S65698.
- Wang X, Li W, Huang K et al. Genetic variants in ADAM33 are associated with airway inflammation and lung function in COPD. *BMC Pulm Med*. 2014;14:173. doi:10.1186/1471-2466-14-173.
- Robitaille G, Christin M-S, Clement I et al. Nuclear autoantigen CENP-B transactivation of the epidermal growth factor receptor via chemokine receptor 3 in vascular smooth muscle cells. *Arthritis Rheum*. 2009;60(9):2805-16. doi:10.1002/art.24765.
- Martin MM, Vanzo RJ, Sdano MR et al. Mosaic deletion of 20pter due to rescue by somatic recombination. *Am J Med Genet Part A*. 2016;170(1):243-248. doi:10.1002/ajmg.a.37407.
- Homsy J, Zaidi S, Shen Y et al. De novo mutations in congenital heart disease with neurodevelopmental and other congenital anomalies. *Science* (80-). 2015;350(6265):1262-1266. doi:10.1126/science.aac9396.
- O'Byrne ML, Yang W, Mercer-Rosa L et al. 22q11.2 Deletion syndrome is associated with increased perioperative events and more complicated postoperative course in infants undergoing infant operative correction of truncus arteriosus communis or interrupted aortic arch. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2014;148(4):1597-1605. doi:10.1016/j.jtcvs.2014.02.011.
- Landis BJ, Cooper DS, Hinton RB. CHD associated with syndromic diagnoses: peri-operative risk factors and early outcomes. *Cardiol Young*. 2016;26(1):30-52. doi:10.1017/S1047951115001389.
- Трунина ИИ. Факторы риска хирургического лечения врожденных пороков сердца в группе новорожденных: авт.-реф. на соискание учёной степени докт. мед. наук 14.01.05. М.; 2012.
- Токмакова КА. Экстракардиальная патология, как фактор, определяющий прогноз хирургической коррекции при врожденном пороке сердца у детей раннего возраста: авт.-реф. на соискание учёной степени канд. мед. наук 14.01.05. М.; 2013.
- Vangkilde A, Olsen L, Hoeffding LK et al. Schizophrenia Spectrum Disorders in a Danish 22q11.2 Deletion Syndrome Cohort Compared to the Total Danish Population — A Nationwide Register Study. *Schizophr Bull*. 2016;42(3):824-831. doi:10.1093/schbul/sbv195.
- Van L, Boot E, Bassett AS. Update on the 22q11.2 deletion syndrome and its relevance to schizophrenia. *Curr Opin Psychiatry*. 2017;1. doi:10.1097/YCO.0000000000000324.