

Е.Л. Пестерева, А.Ю. Шатунов, О.Г. Сидорова, Л.В. Готовцева

ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА В РЕСПУБЛИКЕ САХА (ЯКУТИЯ): ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ХРОМОСОМНОЙ ПАТОЛОГИИ

УДК 618.33-007

Цель исследования. Анализ структуры хромосомной патологии в пренатальном периоде по результатам инвазивной цитогенетической диагностики в РС (Я) с 1999 по 2008 г.

Материалы и методы. В работе проведен анализ 72 случаев хромосомной патологии, установленной цитогенетическим методом с помощью инвазивных методов аспирации плодного материала.

Результаты. Выявлен широкий спектр хромосомной патологии у плодов с различным витальным прогнозом.

Заключение. Классический цитогенетический метод позволяет выявить значительную часть хромосомной патологии и является основным методом в дифференциальной диагностике причин врожденных пороков развития. Для диагностики редких и сложных случаев хромосомных aberrаций необходимо использование высокотехнологичных генетических методов исследования.

Ключевые слова: мутации, цитогенетический метод, пренатальная диагностика.

The purpose of research. Analysis of structure of a chromosomal pathology in prenatal period by results of invasive cytogenetic diagnostics in RS (Y) from 1999 to 2008.

Materials and methods. In work the analysis of 72 cases of the chromosomal pathology established by cytogenetic method by means of invasive methods of a fetal material aspiration is lead.

Results. The wide spectrum of a chromosomal pathology in fetuses with various vital forecast is revealed.

The conclusion. Classical cytogenetic method allows to reveal a significant part of a chromosomal pathology and is the basic method in differential diagnostics of the reasons of congenital developmental anomalies. For diagnostics of rare and difficult cases of chromosomal aberrations use of hi-tech genetic methods of research is necessary.

Keywords: mutations, cytogenetic method, prenatal diagnostics.

Введение

Мутации наследственных структур происходят на трех уровнях их организации: геном, хромосомном и геномном. Носительство хромосомных мутаций часто несовместимо с жизнью и приводит к летальности в раннем эмбриогенезе. В редких случаях мутации хромосом приводят к развитию разнообразных форм врожденной мульти-системной патологии – хромосомных болезней.

Нарушения общего генетического баланса на ранних стадиях эмбриогенеза, вызываемые хромосомными аномалиями, обуславливают общность клинической картины разных хромосомных болезней. Главная роль в диагностике хромосомных заболеваний отводится цитогенетическому методу, позволяющему проанализировать весь набор хромосом. Цитогенетические методы также являются ведущими при выяснении причин пороков развития. Удельный вес хромосомной патологии в структуре множественных пороков развития может достигать 51% [2].

С внедрением в практическое здравоохранение новых технологий в области акушерства и медицинской генетики цитогенетические методы

позволяют не только установить точный диагноз хромосомного заболевания на любой стадии эмбрионального развития, определить прогноз здоровья будущего потомства, но и повлиять на дальнейшую тактику ведения беременности.

Цель данного исследования заключалась в анализе структуры хромосомной патологии во внутриутробном периоде развития по результатам пренатальной цитогенетической диагностики в РС (Я) с 1999 по 2008 г.

Материалы и методы

Исследование является частью работы по изучению структуры хромосомной патологии на территории РС (Я) за 1999-2008 гг. В работе проведен анализ 72 случаев выявленной хромосомной патологии у плодов. В диагностике хромосомной патологии был использован стандартный цитогенетический метод.

Результаты и обсуждение

С момента организации инвазивной пренатальной цитогенетической диагнос-

тики в РС (Я) в 1999 г. хромосомные болезни и аномалии были выявлены у 72 (6%) плодов (таблица).

Наибольшее число хромосомной патологии (78%) было установлено по клеткам зародышевых оболочек, получаемых наиболее щадящими инвазивными методами – хорион- и плацентобиопсией. Кариотипирование по истинным клеткам плода, получае-

Спектр хромосомных нарушений у плодов (1999 – 2008 гг.).

Кариотип	Кол-во случаев
47,XY,+21	11
47,XX,+21	10
46,XY,der(13;14)(q10;q10),+21	1
46,XY,der(14;21)(q10;q10)mat,+21	2
46,XY,der(14;21)(q10;q10)de novo,+21	1
mos 47,XY,+21[44] / 46,XY [5] (90%)	1
47,XX,+18	9
47,XY,+18	5
47,XY,+13	1
47,XX,+13	1
45,X	3
mos 45,X [21] / 46,XX [1] (5%)	1
47,XXX	3
47,XXY	2
47,YYY	1
69,XXX	1
mos 92,XXXX [6] / 46,XX [35] (17%)	1
46,XX,t(6;7)(q12;p21)mat	1
46,XY,der(6)t(2;6)(q33;p25)mat	1
45,XX,der(18)(q10;q10)	1
46,XY,t(1;6)(q22;q27)mat	2
46,XY,t(11;17;19)t(11;17)(p10;q10)t(17;19)(p10;p10)pat	1
45,XY,der(13;21)(q10;q10)mat	2
45,XY,der(13;14)(q10;q10)	1
45,XY,der(13;14)(q10;q10)mat, UPD(14) pat?	1
46,XX,del(4)(p16)	1
46,X,mar	2
mos 47,XY,+mar / 46,XY	3
chi 46,XX [20] / 46,XY [11] (64%/36%)	1
46,XY,fem	1

ПЕСТЕРЕВА Елена Львовна – м.н.с. ЯНЦ КМП СО РАМН, врач-лаборант-генетик МГК ПЦ РБ №1-НЦМ, e-mail: pestereval@rambler.ru; **ШАТУНОВ Алексей Юрьевич** – врач-лаборант-генетик МГК ПЦ РБ №1-НЦМ; **СИДОРОВА Оксана Гаврильевна** – н.с. ЯНЦ КМП СО РАМН, врач-генетик МГК ПЦ РБ №1-НЦМ, e-mail: okssi66@mail.ru; **ГОТОВЦЕВА Люция Васильевна** – с.н.с. ЯНЦ КМП СО РАМН, врач-акушер-гинеколог МГК ПЦ РБ №1-НЦМ.

мым методом кордоцентеза, позволило диагностировать сложные случаи структурных aberrаций и мозаичные формы хромосомных аномалий.

Цитогенетические методы исследования кариотипа позволяют определять тип мутации, вовлеченную в процесс хромосому, форму и вид болезни, составляющие основу классификации хромосомной патологии [3].

По этиологическому принципу различают геномные (числовые) и хромосомные (структурные) мутации. Аномалии числа хромосом связаны с нарушением целостности генома и подразделяются на следующие формы: анеуплоидии, связанные с изменением числа отдельных хромосом, и полиплоидии, связанные с изменением числа копий целого хромосомного набора.

Большая часть аномалий кариотипа у исследуемых плодов была связана с нарушением пloidности – 50 (70%), из них на долю анеуплоидии приходится 96%. Числовые нарушения отдельных хромосом связаны с нарушением расхождения хромосом в мейозе или в митозе. Изменение числа аутомсомных хромосом (13-й, 18-й, 21-й) составило 79%, гоносомных (половых хромосом) – 21%.

Несмотря на доминирование в спектре хромосомных нарушений трисомии 21-й хромосомы (36%) в виде различных цитогенетических вариантов, эффективность дородовой диагностики с. Дауна в РС (Я) невысокая – 20%. Полиморфизм мутаций 21-й хромосомы в пренатальном периоде не отличается от таковых в постнатальном периоде и представлен регулярной (81%) и мозаичной (4%) формами трисомии, транслокационными формами различного происхождения (15%).

Другие аутомсомные синдромы были представлены трисомиями 18-й (с. Эдвардса) и 13-й (с. Патау) хромосом – 29%. Высокая частота диагностики этих синдромов во внутриутробном периоде развития обусловлена наличием множественных пороков развития, выявляемых ультразвуковым исследованием. Цитогенетическими методами исследования кариотипа у плодов и новорожденных установлена эффективность пренатальной диагностики самых частых аутомсомных синдромов: с. Эдвардса – 82%, с. Патау – 100%.

Геномные мутации по половым хромосомам были представлены трисомиями X- или Y- хромосом, и моносомией X- хромосомы. Гоносомные синдромы в большинстве случаев не

сопровождаются грубыми пороками развития. Диагностика этих синдромов у больных осуществляется в основном в периоде полового созревания из-за нарушения развития вторичных половых признаков [7]. Тем не менее в практике медико-генетической консультации эти заболевания были диагностированы и у плодов, которые при ультразвуковом исследовании в 70% случаев имели пороки и отклонения во внутриутробном развитии. Остальные оказались случайной находкой при анализе кариотипа в культуре клеток провизорных органов плода у возрастных женщин.

Из зарегистрированных 15 цитогенетических вариантов синдрома Шерешевского-Тернера в наших исследованиях у плодов диагностированы два варианта: регулярная форма моносомии X-хромосомы (75%) и мозаичная форма, установленная по клеткам экстраэмбриональных структур на раннем сроке беременности.

Отклонения в развитии половой системы могут быть обусловлены мутациями не только на хромосомном, но и на геномном уровне. В наших исследованиях у плода с синдромальным диагнозом кампомиелическая дисплазия ультразвуковым исследованием наряду с характерными пороками развития установлено формирование наружных половых органов по женскому типу при мужском кариотипе: 46,XY,fem[5].

Некоторые формы полиплоидии совместимы с внутриутробным развитием. В наших исследованиях триплоидия, чаще связанная с диандрией (оплодотворение яйцеклетки диплоидным сперматозоидом либо двумя сперматозоидами), была представлена в виде 69,XXX. Другой формой полиплоидии у зародышей человека является тетраплоидия, возникающая в результате удвоения диплоидного набора хромосом из-за нарушения кариотомии (деления ядра) или цитотомии (деления клетки). Тетраплоидия встречается в единичных случаях вплоть до стадии бластоцисты и элиминируется уже во время имплантации [2]. Тем не менее мозаичная форма тетраплоидии (mos 92,XXXX/46,XX) была установлена в наших исследованиях при анализе кариотипа истинных плодных клеток. При ультразвуковом исследовании у плода с данной формой полиплоидии был выявлен порок развития центральной нервной системы – экзэнцефалия (отсутствие костей свода черепа и мягких покровов головы, вследствие чего большие полушария располагаются открыто на основании

черепа в виде узлов, покрытых мягкой оболочкой).

Структурные изменения хромосом, возникающие в результате внутри- и межхромосомных перестроек, выявлены у 20 плодов (28%). Преобладают робертсоновские транслокации (40%), сопровождающиеся слиянием длинных плеч акроцентрических хромосом из различных групп (D,G), из них между группами D/G – 63%, D/D – 37%. Удельный вес реципрокных транслокаций, при которых происходит взаимный обмен фрагментами между негомологичными хромосомами без нарушения генного баланса, составил 20%. Среди них зарегистрирована редкая, к тому же и наследуемая перестройка, при которой произошел обмен между целыми плечами 3 хромосом (11, 17, 19-й). Нереципрокные транслокации, при которых отмечается несбалансированный кариотип в виде избытка (частичной трисомии) или недостатка (частичной моносомии) генетического материала, диагностированы в 15% случаев. Наибольший удельный вес составили частичные моносомии (67%). Маркерные хромосомы, не поддающиеся идентификации цитогенетическим методом, выявлены в 25%.

Мутации хромосом, приводящие к регулярным и мозаичным формам хромосомных заболеваний, могут происходить соответственно в половых клетках (гаметах) у родителей или зиготе. В подавляющем большинстве (90%) мутации хромосом возникли в гаметах у родителей. При регулярной форме во всех клетках наблюдается хромосомная аномалия. Небольшая часть (8%) хромосомных болезней явилась результатом нарушения деления зиготы и была представлена мозаичной формой, при которой отмечалось наличие нескольких клонов клеток с разной хромосомной конституцией. Межклеточное различие набора хромосом также может вызывать и химеризм, при котором зародыш развивается после слияния зигот с разным набором гоносом (46,XX/46,XY). В наших исследованиях лишь в единичном случае выявленный химеризм (1%) в лимфоцитах плодной крови явился причиной истинного гермафродитизма у плода.

Также цитогенетический анализ позволяет определить поколение, в котором возникла мутация. Большая часть (86%) мутаций возникла de novo в гаметах здоровых родителей, поэтому вызванные ими хромосомные болезни были представлены спорадическими формами. К их числу относятся

не только геномные мутации и часть структурных aberrаций, но и мозаичные формы анеуплоидий.

Наследуемые формы хромосомной патологии были установлены в 14% случаев и в основном они были связаны с наличием в кариотипе у родителей структурных перестроек хромосом – робертсоновских и реципрокных транслокаций. Носительство хромосомных aberrаций у родителей в 40% случаев было выявлено впервые в ходе проведения инвазивной цитогенетической диагностики.

Пrenатальная диагностика позволяет предоставить семье информацию о хромосомном статусе плода после цитогенетического обследования и существующих на сегодняшний день методов профилактики некорректируемой наследственной патологии. Результат пренатального цитогенетического исследования влияет на решение семей о вынашивании беременности. При наличии в кариотипе у плодов наследуемых сбалансированных перестроек (10%) и малой доли маркерных хромосом (3%) женщины сохранили беременность по рекомендациям врачей-генетиков. Учитывая неблагоприятный витальный прогноз для жизни будущего ребенка с хромосомным заболеванием, сопряженным с инвалидизацией и высокой смертностью, прервано с согласия семьи по медицинским показаниям 87% беременностей.

В зависимости от типа и формы мутаций хромосом, устанавливаемых цитогенетическим методом, определяется генетический груз - вероятность повторного риска рождения больного ребенка с хромосомной аномалией. Предоставление семьям с различными генетическими рисками помощи в принятии решения по планированию дальнейших беременностей является одной из главных задач медико-генетического консультирования. С внедрением пренатальной цитогенетической диагностики в РС (Я) стало возможным проведение инвазивного обследования женщинам, особенно со средним и высоким риском, при каждой беременности на раннем сроке (10 недель) для определения сбалансированности кариотипа будущего ребенка.

В течение 10 лет на пренатальную диагностику обратилось 60 семей с наличием в анамнезе ребенка / плода с хромосомной болезнью или носительства структурных перестроек в кариотипе. Проведена инвазивная цитогенетическая диагностика 48 семей

из различных групп риска. 11 семей (18%) относились к группам со средним и высоким риском повторного хромосомного заболевания у детей, из них 82% прошли инвазивное обследование. 10% женщин с несколькими повторными беременностями воспользовались пренатальной диагностикой, в основном (67%) из группы риска по наследуемым формам хромосомных болезней.

Заключение

При стандартном кариотипировании исключается носительство всех геномных мутаций и многих структурных aberrаций, что позволяет исключить хромосомные болезни с вероятностью более 99%. Но в то же время в практике отдела пренатальной цитогенетической диагностики лаборатории МГК существовали некоторые сложности для пренатального цитогенетического анализа.

Для уточнения происхождения хромосомных aberrаций у плода необходимо обследование кариотипа родителей, имеющее важное значение не только для диагностики при настоящей беременности, но и для прогноза здоровья будущих детей. За 10-летний период проведения инвазивной диагностики в республике не выяснено происхождение сверхчисленных маркерных хромосом и хромосомных перестроек в 7% случаев в результате отказа от цитогенетического обследования одного из родителей.

Определение природы маркерных хромосом представляет значительные трудности в диагностике не только в пренатальном, но и в постнатальном периоде, так как требуется большой арсенал методических приемов: метод Ag – окраски, молекулярно-цитогенетический метод Fish с рДНК-зондами и различными центромероспецифическими ДНК-зондами, различные методы FISH, молекулярно-генетическое тестирование сегментной однородительской дисомии. В пренатальной диагностике идентификация даже семейных форм носительства маркерных хромосом имеет принципиальное значение для тактики дальнейшего ведения беременностей [1,4,7]. В наших исследованиях в 4% случаев требовалась идентификация маркерных хромосом для установления фенотипических корреляций с последующим уточнением или описания новых хромосомных синдромов, в 3% - опре-

деление относительной нейтральности сателлитных маркерных хромосом.

Для диагностики однородительской дисомии (ОРД), возникающей при наследовании двух гомологичных хромосом только от одного родителя, требуется использование дополнительных молекулярно-генетических методов исследования [6]. В практике отдела пренатальной диагностики в установлении ОРД по некоторым хромосомам (7,14,15), содержащим кластеры импринтированных генов, понадобилось 16 беременных женщин (1% от общего числа обследованных). К группам риска по выявлению ОРД у плодов относились женщины, у которых в ходе пренатальной диагностики был установлен ограниченный плацентарный мозаицизм (69%), плоды с носительством наследуемых робертсоновских транслокаций (12%) и сверхчисленных маркерных хромосом (19%).

Таким образом, помимо применения классического цитогенетического метода в пренатальной диагностике хромосомных аномалий возникает необходимость в использовании высокотехнологичных методов генетических исследований для тактики ведения беременностей. В диагностике редких и сложных хромосомных aberrаций большое значение имеет организация этих исследований на уровне Федеральных центров медико-генетической службы РФ, согласно приказу МЗ РФ № 316 от 1993 г.

Литература

1. Айламазян Э.К. Пренатальная диагностика наследственных и врожденных болезней / Айламазян Э.К., Баранов В.С. // -М.: МЕДпресс-информ, 2006. - С.271-276.
2. Баранов В.С. Цитогенетика эмбрионального развития человека / Научно-практические аспекты / Баранов В.С., Кузнецова Т.В. // - СПб: Издательство Н-Л, 2007. - 640 с.
3. Бочков Н.В. Клиническая генетика / Бочков Н.В. // -М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001. -С. 160-163.
4. Ворсанова С.Г. Медицинская цитогенетика / Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Чернышев В.Н. // Мед-практика -М., 2006. - С.211.
5. Козлова С.И. Наследственные синдромы и медико-генетическое консультирование / Козлова С.И., Демикова Н.С. // Товарищество научных изданий КМК, -М, 2007. - С. 106-107.
6. Назаренко С.А. Однородительские дисомии и болезни геномного импринтинга / Назаренко С.А., Саженова Е.А. // Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике. Выпуск 7. - Новосибирск: Альфа Виста, 2005. -С. 119-123.
7. Назаренко С.А. Цитогенетика человека и хромосомные болезни / Назаренко С.А., Яковлева Ю.С. // Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике. Выпуск 7. - Новосибирск: Альфа Виста, 2005. -С. 42-48.
8. Прозорова М.В. Хромосомные болезни / Прозорова М.В. // СПбМАПО, 1997. -С. 18.