

Реципрокная транслокация между хромосомами 1 и 2: современные методы диагностики

Козлова Ю.О., Канивец И.В., Мусатова Е.В., Шилова Н.В.

Федеральное Государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр».
E-mail: kozlova.julie@gmail.com

Представлен случай семейной реципрокной транслокации между хромосомами 1 и 2. Обсуждаются принципы медико-генетического консультирования и особенности применения современных и классических методов диагностики структурных хромосомных aberrаций у пациентов.

Ключевые слова: реципрокная транслокация, пороки развития плода, хромосомный микроматричный анализ, FISH

Введение

Реципрокные транслокации являются самой частой структурной хромосомной перестройкой и выявляются у 1 из 500 чел. [1]. Носительство реципрокных транслокаций не сопровождается клиническими и фенотипическими проявлениями и выявляется, как правило, случайно, либо по поводу рождения ребенка с множественными врожденными пороками развития (МВПР) и/или аномалиями развития, либо при обследовании супружеских пар с репродуктивными проблемами [2]. Большинство сбалансированных перестроек, а также несбалансированных вариантов в результате различных типов мейотической сегрегации у жизнеспособных эмбрионов является следствием родительских реципрокных транслокаций. Обычно такие транслокации затрагивают концевые (терминальные) районы двух, реже трех, хромосом и визуализируются при стандартном цитогенетическом исследовании. В случаях, когда размер транслоцированных сегментов составляет менее 10 млн п.н., что находится вне разрешающей способности световой микроскопии, особое значение приобретают молекулярно-цитогенетические исследования. При наличии субмикроскопического хромосомного дисбаланса вследствие патологической мейотической сегрегации родительских реципрокных транслокаций широко применяется метод хромосомного микроматричного анализа (ХМА), позволяющий выявлять геномный дисбаланс размером от 100 т.п.н. [3]. Однако существенным недостатком метода является невозможность выявления сбалансированных транслокаций.

Медико-генетическое консультирование пациентов с геномным дисбалансом и их семей в связи с широким внедрением в лабораторную практику методов молекулярной и молекулярно-цитогенетической диагностики в последнее время приобретает свои особенности. В данном исследовании представлен результат комплексного подхода к диагностике транслокации между хромосомами 1 и 2.

Материалы и методы

Цитогенетическое исследование проводили на препаратах ФГА-стимулированной культуры лимфоцитов периферической крови, приготовленных стандартным методом. Для ХМА использовали образцы ДНК пациентов. В качестве платформы для проведения ХМА применяли олигонуклеотидные микроматрицы высокой плотности Cytoscan™ HD (Affymetrix®, США), содержащие 2 696 550 маркеров (1953246 непалиморфных маркеров и 749157 SNPs), в соответствии с протоколом производителя.

Флуоресцентную in situ гибридизацию (метод FISH) проводили с использованием ДНК-зондов на субтеломерные участки хромосом 1 и 2: TelVysion 1p, TelVysion 1q, TelVysion 2p, TelVysion 2q (Abbott Molecular). Денатурация, гибридизация с использованием системы ThermoBrite StatSpine (Abbott Molecular) и постгибридизационная отмывка проводились по протоколу фирмы-производителя. FISH-анализ осуществляли на люминисцентном микроскопе AxioImager.M1 (ZEISS) с использованием программы цифрового анализа изображения Isis (MetaSystems, Germany).

Результаты и обсуждение

Супружеская пара повторно обратилась за медико-генетической помощью в связи с неблагоприятным репродуктивным анамнезом: повторными случаями беременности плодами с МВПР и рождением детей с аномальным фенотипом.

Из анамнеза семьи известно, что первая беременность закончилась антенатальной гибелью плода мужского пола, при этом у него были диагностированы задержка внутриутробного развития и гидроцефалия. Девочка, рожденная в результате второй беременности, скончалась в неонатальном периоде, у нее наблюдали те же аномалии, что и у первого плода, а также тетраду Фалло; кариотип определен как нормальный женский. Третья беременность закончилась рождением девочки с аномальным фенотипом, по поводу чего было прове-

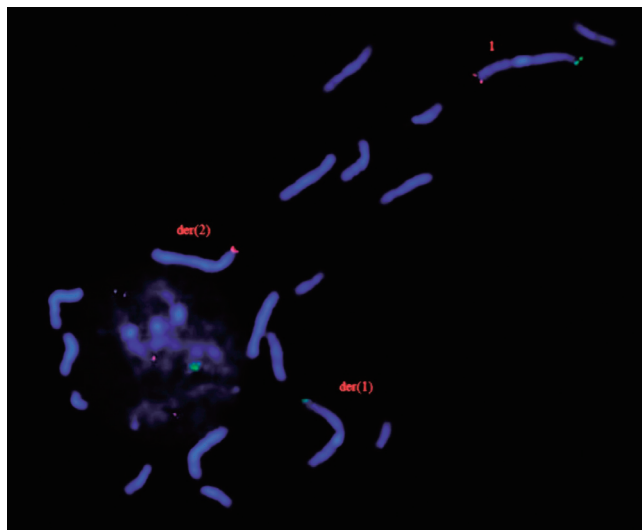


Рис. 1. Результат гибридизации с ДНК-зондом на субтеломерные районы хромосомы 1: фрагмент метафазной пластинки.

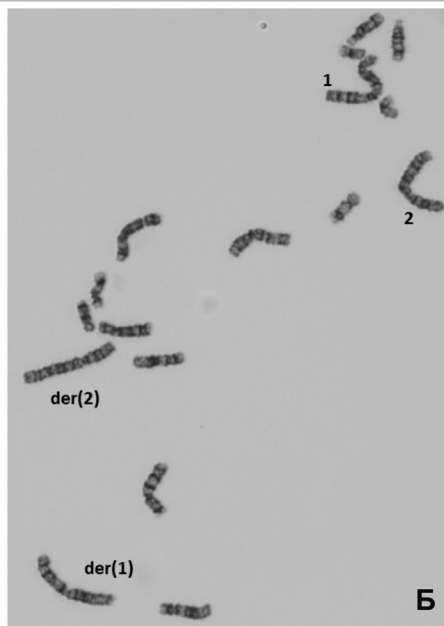
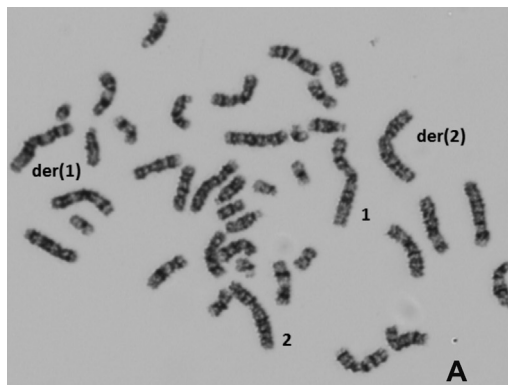


Рис. 2. А, Б. Фрагменты метафазных пластинок с дериватными хромосомами 1 и 2 в результате $t(1;2)(q42.3;q37.3)$.

дено молекулярно-цитогенетическое исследование с использованием сравнительной геномной гибридизации и выявлена делеция длинного плеча хромосомы 2: $ish\ cgh\ dim(2)(q37.3qter)$.

Со слов пациентов, обоим было проведено стандартное цитогенетическое исследование, которое не выявило аномалий кариотипа ни у одного из супругов. С учетом семейного анамнеза пары при медико-генетическом консультировании было рекомендовано при всех последующих наступивших беременностях на ранних сроках исследовать генотип плода.

При очередной беременности на сроке 12 недель выполнена пренатальная диагностика методом ХМА, при этом у плода отсутствовали эхографические маркеры хромосомных аномалий. Молекулярное кариотипирование позволило выявить дупликацию длинного плеча хромосомы 1 ($1q42.3-q44$) размером 13,7 млн п.н. и делецию длинного плеча хромосомы 2 размером 3,3 млн п.н. ($2q37.3$): агг $1q42.3q44x3,2q37.3x1$. Беременность была прервана.

Исходя из результатов ХМА плода проведено молекулярно-цитогенетическое исследование родителей методом FISH с ДНК-зондами на субтеломерные районы хромосом 1 и 2, при котором была выявлена реципрокная транслокация с вовлечением длинных плеч хромосом 1 и 2 у матери (рис. 1).

Ревизия кариотипа с разрешением 550 бэндов у пациентки подтвердила реципрокную транслокацию: $46,XX,t(1;2)(q42.3;q37.3)$ (рис. 2 А,Б).

Реципрокные перестройки, затрагивающие терминальные участки хромосом, являются самыми частыми структурными хромосомными aberrациями. В некоторых случаях, при вовлечении транслоцированных сегментов размером менее 10 млн п.н. при стандартном цитогенетическом исследовании кариотип определяется как нормальный. Таким образом, часть пациентов остается недоисследованной и повторно попадает в поле зрения врачей-генетиков при неразвивающейся беременности или ее спонтанном прерывании, а также беременности и рождении детей с МВПР.

В представленном случае один из транслоцированных сегментов ($2q37.3$) действительно был субмикроскопическим, 3,3 млн п.н., и мог не визуализироваться при стандартном цитогенетическом исследовании, особенно при высокой степени спирализации метафазных хромосом (300—400 бэндов). Однако размер 13,7 млн п.н. и локализация второго транслоцированного сегмента ($1q42.3-q44$) определяют изменение морфологии дериватных хромосом при данной перестройке, которые могут быть выявлены при стандартном цитогенетическом исследовании на уровне 550 бэндов. По-видимому, цитогенетические исследования, проведенные ранее супружеской паре и одному из рожденных детей, выполнялись с недостаточным разрешением, что не позволило определить наличие хромосомной аномалии.

Удивительно, что при исследовании генотипа другого рожденного ребенка методом сравнительной геномной гибридизации была диагностирована только делеция участка длинного плеча хромосомы 2. Данный паттерн сегрегации характерен только для патологической сегрегации сбалансированных инсерций, либо такой дисбаланс возник вследствие *de novo* мутации [4]. Такой результат мог привести к ошибочному заключению о происхождении данной хромосомной перестройки и неправильному определению повторного риска при медико-генетическом консультировании семьи.

Высокоразрешающий метод ХМА позволил не только выявить хромосомный дисбаланс у одного из плодов, но и дал основание для проведения таргетной FISH и диагностики семейного носительства реципрокной транслокации.

Данную родительскую транслокацию, а также ее несбалансированные варианты, можно было диагностировать при проведении стандартного цитогенетического исследования, особенно учитываяотягощенный семейный анамнез. Повторные беременности и рождение детей с аналогичными МВПР, должны настораживать специалистов и побуждать их проводить цитогенетический анализ с высоким разрешением, а также к проведению ХМА у плодов с эхографическими маркерами хромосомных аномалий, детей с МВПР и/или аномалиями развития. Выявление хромосомного дисбаланса методом ХМА позволяет определить дизайн молекулярно-цитогенетического исследования для выявления сбалансированных транслокаций у родителей [5].

Если по каким-либо причинам проведение ХМА невозможно, следует рекомендовать применение скрининговых молекулярно-цитогенетических методов исследования супружеским парам с отягощенным семейным анамнезом, таких, как многоцветная FISH

(mFISH) и/или анализ субтеломерных участков всех хромосом.

Безусловно, каждый случай обнаружения в семье хромосомных aberrаций требует медико-генетического консультирования, особенно при желании пациентов иметь здоровое потомство. Поэтому неблагоприятный репродуктивный анамнез пациентов должен служить поводом к более пристальному исследованию кариотипа и к рекомендации использовать современные методы детекции геномного дисбаланса и сбалансированных транслокаций.

Таким образом, современные лабораторные методы позволяют выявлять значительную долю хромосомных aberrаций у пациентов с МВПР и/или аномалиями фенотипа, а также в группе пациентов со сбалансированными перестройками без каких-либо клинических проявлений, в основном имеющих отягощенный репродуктивный анамнез.

Список литературы

1. Jacobs PA, Browne C, Gregson N, Joyce C, White H. Estimates of the frequency of chromosome abnormalities detectable in unselected newborns using moderate levels of banding. *J Med Genet* 29: 103-108, 1992.
2. Gardner RJ, Sutherland GR, Shaffer LG. Chromosome abnormalities and genetic counseling. Oxford University Press, 2012.
3. Miller DT, Adam MP, Aradhya S et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet* 86: 749-764, 2010.
4. Melotte C, Debrock S, D'Hooghe T, Fryns JP, Vermeesch JR. Preimplantation genetic diagnosis for an insertional translocation carrier. *Hum Reprod* 19: 2777-2783, 2004.
5. Золотухина ТВ, Канивец ИВ, Коростелев СА, Шилова НВ и др. Опыт использования комплекса современных методов исследования в конституциональной цитогенетике. *Мед Генетика* 12(150): 22-28, 2014.

Familial (1;2) reciprocal translocation: present-day diagnostic tools

Kozlova Y.O., Kanivets I.V., Musatova E.V., Shilova N.V.

Federal State Budgetary Institution «Research Centre for Medical Genetics», Moscow, Russia. E-mail: kozlova.julie@gmail.com

The case of familial (1;2) reciprocal translocation is discussed in order to illustrate major principles of genetic counseling and up-to-date diagnostic approaches used for such patients.

Key words: chromosomal Translocation, Fetal Growth Retardation, Comparative Genomic Hybridization, FISH Technic