

<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2022.11.52-55>

Анализ сегрегации хромосом у носителей реципрокных транслокаций в зависимости от характеристик профазного квадриллента

Тонян З.Н.^{1,2}, Пуппо И.Л.^{1,2,3}, Сайфитдинова А.Ф.^{3,4}, Кинунен А.А.^{3,5}, Бичева Н.К.³, Беспалова О.Н.¹, Глотов А.С.¹

1 – ФГБНУ «Институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им.Д.О. Отта»
199034, г. Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д.3

2 – ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
197341, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д.2

3 – АО «Международный центр репродуктивной медицины»
197350, г. Санкт-Петербург, пр. Комендантский, д. 53, корп. 1, лит. А, пом. 19 Н

4 – ФГБОУ ВО «Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена»
191186, г. Санкт-Петербург, набережная реки Мойки, д.48

5 – СПб ГКУЗ Диагностический центр (медико-генетический)
194044, г. Санкт-Петербург, Тобольская ул., д.5

Введение. Преимущественное образование несбалансированных гамет вследствие нарушения мейотической сегрегации хромосом у носителей аутомомных реципрокных транслокаций (АРТ) может зависеть от степени асимметрии мейотического квадриллента и наличия терминальных точек разрывов. Комплексная оценка этих факторов на доимплантационном этапе позволит оценить весь спектр паттернов сегрегации для последующей оценки риска образования несбалансированных эмбрионов.

Цель: оценить влияние степени асимметрии квадриллента и наличия терминальных точек разрывов на тип сегрегации хромосом у носителей АРТ.

Методы. Кариотипирование супружеской пары, преимплантационное генетическое тестирование (ПГТ-СП) методом флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) 271 бластомера эмбрионов, полученных в циклах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) у 26 пар-носителей АРТ. Определение паттернов сегрегации хромосом, степени асимметрии квадриллента и наличия терминальных точек разрывов.

Результаты. Асимметрия квадриллента и терминальные точки разрыва не влияют на частоту образования эмбрионов со сбалансированным набором хромосом вследствие альтернативного типа сегрегации хромосом. Для носителей АРТ с сильной асимметрией квадриллента и терминальными точками разрывов более характерна сегрегация по типу 3:1 и 4:0, приводящая к хромосомному дисбалансу, в подавляющем большинстве случаев несовместимому с дальнейшим развитием эмбриона. Полученные данные могут быть использованы при медико-генетическом консультировании носителей АРТ.

Ключевые слова: аутомомные реципрокные транслокации, преимплантационное генетическое тестирование, флуоресцентная *in situ* гибридизация.

Для цитирования: Тонян З.Н., Пуппо И.Л., Сайфитдинова А.Ф., Кинунен А.А., Бичева Н.К., Беспалова О.Н., Глотов А.С. Анализ сегрегации хромосом у носителей реципрокных транслокаций в зависимости от характеристик профазного квадриллента. *Медицинская генетика* 2022; 21(11): 52-55.

Автор для корреспонденции: Тонян З.Н.; e-mail: ziravard@yandex.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках темы фундаментальных научных исследований №1021062512052-5-3.2.2

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.10.2022

Analysis of chromosome segregation in reciprocal translocation carriers depending on prophase quadrivalent features

Tonyan Z.N.^{1,2}, Puppo I.L.^{1,2,3}, Saifitdinova A.F.^{3,4}, Kinunen A.A.^{3,5}, Bichevaya N.K.³, Baspalova O.N.¹, Glotov A.S.¹

1 – D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology
3, Mendeleevskaya line, Saint Petersburg, 199034, Russian Federation

2 – Almazov National Medical Research Centre
2, Akkuratova str., St. Petersburg, 197341, Russian Federation

3 – International Centre for Reproductive Medicine
Room 19H, 53, Building 1, Litera A, Komendantsky Prospect, Saint Petersburg, 197350, Russian Federation

4 – The Herzen State Pedagogical University of Russia
48, Moika Embankment, St. Petersburg, 191186, Russian Federation

5 – Saint Petersburg Centre for Medical Genetics
5, Tobolskaya str., St-Petersburg, 194044, Russian Federation

Background. Meiotic quadrivalent asymmetry degree or the presence of terminal breakpoints may affect the risk of unbalanced gametes' formation due to pathological chromosome segregation in autosomal reciprocal translocations (ART) carriers during meiosis. A comprehensive analysis of these factors in preimplantation embryos allows evaluating the entire spectrum of segregation patterns in ART carriers for subsequent risk assessment.

Aim: the purpose of the study was to assess the influence quadrivalent asymmetry degree and the presence of terminal breakpoints on the segregation type in ART carriers.

Methods. Karyotyping for ART confirmation, preimplantation genetic testing (PGT-SP) using fluorescent *in situ* hybridization (FISH) on 271 embryos obtained in assisted reproductive technology (ART) cycles in 26 couples of ART carriers. The chromosome segregation patterns, the quadrivalents' asymmetry degree, and the presence of terminal breakpoints were determined.

Results. An alternative segregation type, leading to the formation of balanced gametes, was observed with the same frequency in ART carriers with and without terminal breakpoints, as well as in carriers with different quadrivalent asymmetry degrees. The 4:0 and 3:1 patterns were more common in ART carriers with severe quadrivalent asymmetry and terminal breakpoints and could result in large-scale chromosomal imbalance. The data obtained can be used in genetic counseling of ART carriers.

Keywords: autosomal reciprocal translocations, preimplantation genetic testing, fluorescent *in situ* hybridization.

For citation: Tonyan Z.N., Puppo I.L., Saifitdinova A.F., Kinunen A.A., Bichevaya N.K., Baspalova O.N., Glotov A.S. Analysis of chromosome segregation in reciprocal translocation carriers depending on prophase quadrivalent features. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]* 2022; 21(11): 52-55. (In Russ.)

Corresponding author: Tonyan Z.N.; e-mail: ziravard@yandex.ru

Funding. The work was carried out according to the project of fundamental scientific research No. 1021062512052-5-3.2.2

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Accepted: 20.10.2022

Введение

Носительство аутомных реципрокных транслокаций (АРТ) может приводить к репродуктивным проблемам вследствие образования несбалансированных гамет [1]. В профазе первого деления мейоза вовлеченные в транслокацию хромосомы формируют структуры, называемые квадривалентами. Различают несколько паттернов сегрегации хромосом квадривалента: альтернативный, совместный-1 и -2, 3:1, 4:0. Только сегрегация по альтернативному типу приводит к образованию сбалансированных гамет. Известно, что преимущественный вариант сегрегации каждой транслокации зависит от уникальных характеристик квадривалента, обусловленных расположением точек разрывов на вовлеченных аутозомах. Частота образования сбалансированных гамет ниже у носителей АРТ

с сильной асимметрией квадривалента или наличием терминальных точек разрывов на хромосомах согласно проведенным ранее исследованиям [2–4].

Цель: оценка комплексного влияния степени асимметрии квадривалента и наличия терминальных точек разрывов на тип сегрегации хромосом по данным преимплантационного генетического тестирования (ПГТ-СП) у носителей АРТ.

Методы

Проанализирован 271 бластомер эмбрионов 3 дня развития, полученных в циклах ВРТ с ПГТ-СП в период с 2014 по 2018г. у 26 пар, в которых один из супругов является носителем АРТ по результату карио-

типирования. ПГТ-СП выполнялось методом FISH. Оценка паттернов сегрегации хромосом производилась по комбинации сигналов зондов, специфичных для центрических (ЦС) и транслоцируемых (ТС) сегментов хромосом [5]. Длины ТС и ЦС оценивались с использованием геномного браузера USCS в млн п.н. Квадривалент считался сильно асимметричным, если отношение длинного ТС к короткому ТС и отношение длинного ЦС к короткому ЦС было больше двух [3]. Терминальные точки разрыва присутствовали при отношении ТС к длине целого плеча меньше 0,2 у одной или обеих вовлеченных в перестройку хромосом [2]. Для статистической оценки использовался точный критерий Фишера.

Результаты

Анализ длин ТС и ЦС и их соотношения показал, что терминальные точки разрыва присутствуют у 4 из 26 АРТ, сильная асимметрия квадриллента — у 8 из 26 АРТ; сочетание этих факторов было характерно для 2, а отсутствие — для 16 носителей. В таблице пред-

ставлена частота эмбрионов, являющихся продуктами различных типов сегрегации у носителей АРТ с разной степенью асимметрии квадриллента и наличием/отсутствием терминальных точек разрывов. В целом, сбалансированный набор хромосом вследствие альтернативного типа сегрегации наблюдался с одинаковой частотой у носителей АРТ с терминальными точками разрывов и без них, а также у носителей с разной степенью асимметрии квадриллентов, как при изолированном анализе этих факторов, так и при их сочетании. У носителей АРТ с сильной асимметрией квадриллента сегрегация по типу 3:1 и 4:0 наблюдалась чаще, чем при умеренной асимметрии, различия оказались статистически значимы только для сегрегации по типу 4:0 ($p=0,03$). При АРТ с умеренно асимметричными квадриллентами наблюдалась тенденция к большей частоте совместного-1 паттерна в проанализированных эмбрионах. Наиболее частым типом сегрегации для квадриллентов с терминальными точками разрыва оказался паттерн 3:1 ($p=0,005$), в то время как типы совместный-1 и -2 были менее характерны. При рассмотрении сочетанного влияния анализируемых фак-

Распределение по типам сегрегации хромосом эмбрионов, полученных у носителей АРТ

Distribution of embryos obtained from ART carriers by types of chromosome segregation

Тип сегрегации	Сильная асимметрия (в %)	Умеренная асимметрия (в %)	p-value
Альтернативный	31	31	1
Совместный-1	15	26	0,14
Совместный-2	11	14	0,65
3:1	37	28	0,24
4:0	6	1	0,03
	Терминальные точки разрывов присутствуют (в %)	Терминальные точки разрывов отсутствуют (в %)	p-value
Альтернативный	20	33	0,2
Совместный-1	17	24	0,48
Совместный-2	7	15	0,39
3:1	53	27	0,005
4:0	3	1	0,4
	Сильная асимметрия и терминальные точки разрывов	Умеренная асимметрия без терминальных точек разрывов	p-value
Альтернативный	27	33	1
Совместный-1	18	27	0,7
Совместный-2	9	15	1
3:1	46	25	0,15
4:0	0	0	-

торов тенденция к преобладанию паттерна сегрегации 3:1 в сильно асимметричных квадривалентах с терминальными точками разрывов сохранялась, в то время как умеренная степень асимметрии и отсутствие терминальных точек разрывов предрасполагали к сегрегации по типам совместный-1 и -2.

Заключение

Результаты ПГТ-СП эмбрионов 3 дня развития позволяют проанализировать весь спектр паттернов сегрегации аутосом у носителей АРТ во взаимосвязи с факторами, влияющими на процесс расхождения хромосом, благодаря анализу доимплантационных эмбрионов с различным размером геномного дисбаланса, в том числе и несовместимым с дальнейшим развитием на преимплантационном и/или раннем постимплантационном этапах (например, сегрегация по типу 4:0 и частично по типу 3:1 недоступна для анализа на пренатальном этапе). Проведенная совместная оценка степени асимметрии квадривалента и наличия терминальных точек разрывов на доимплантационных эмбрионах 3 дня развития показала, что указанные факторы в меньшей степени влияют на частоту образования эмбрионов со сбалансированным кариотипом вследствие альтернативного типа сегрегации хромосом. В то же время рассмотренные факторы влияют на преимущественный патологический тип сегрегации, предрасполагая к расхождению хромосом по типам 3:1 и 4:0. При отсутствии этих факторов преимущественным патологическим вариантом сегрегации аутосом в квадривалентах является расхождение по совместному типу. Результаты работы могут использоваться в практике персонализированного медико-генетического консультирования для оценки вероятного пато-

логического паттерна сегрегации хромосом и связанного с ним генетического дисбаланса у носителей АРТ.

Литература

1. Gardner R. J. M., Amor D. J. Chromosome abnormalities and genetic counseling. 2018;134-211.
2. Ye Y., Qian Y., Xu C., Jin F. Meiotic segregation analysis of embryos from reciprocal translocation carriers in PGD cycles. *Reprod Biomed Online*. 2012;24(1):83-90.
3. Zhang Y., Zhu S., Wu J., Liu S., Sun X. Quadrivalent asymmetry in reciprocal translocation carriers predicts meiotic segregation patterns in cleavage stage embryos. *Reprod BioMed Online*. 2014;29(4):490-498.
4. Шилова Н. В. Совершенствование подходов к диагностике хромосомных аномалий в рамках персонализированной медицины. Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук. 2016;1-291.
5. Scriven P. N., Ogilvie C.M. Fluorescence in situ hybridization on single cells. Sex determination and chromosome rearrangements. *Methods Mol. Med*. 2007;(132):19-30.

References

1. Gardner R. J. M., Amor D. J. Chromosome abnormalities and genetic counseling. 2018;134-211.
2. Ye Y., Qian Y., Xu C., Jin F. Meiotic segregation analysis of embryos from reciprocal translocation carriers in PGD cycles. *Reprod Biomed Online*. 2012;24(1):83-90.
3. Zhang Y., Zhu S., Wu J., Liu S., Sun X. Quadrivalent asymmetry in reciprocal translocation carriers predicts meiotic segregation patterns in cleavage stage embryos. *Reprod BioMed Online*. 2014;29(4):490-498.
4. Shilova N.V. Sovershenstvovaniye podkhodov k diagnostike khromosomnykh anomalii v ramkakh personalizirovannoy meditsiny. *Dissertatsiya na soiskaniye uchenoy stepeni doktora meditsinskikh nauk* [Improving approaches to the diagnosis of chromosomal abnormalities in the framework of personalized medicine. Dissertation for the degree of Doctor of Medical Sciences]. 2016;1-291. (In Russ.)
5. Scriven P. N., Ogilvie C.M. Fluorescence in situ hybridization on single cells. Sex determination and chromosome rearrangements. *Methods Mol. Med*. 2007;(132):19-30.