

Случай генетического дисбаланса по коротким плечам хромосом 8 и 18 у пациентки без выраженных аномалий физического и умственного развития

Пендина А.А.^{1,2,3}, Ефимова О.А.^{1,2}, Чиряева О.Г.¹, Малышева О.В.^{1,4}, Дудкина В.С.¹, Петрова Л.И.¹, Павлова П.А.², Тихонов А.В.^{1,2,3}, Крапивин М.И.^{1,2}, Кольцова А.С.^{1,2}, Парфеньев С.Е.², Серебрякова Е.А.^{1,2}, Шабанова Е.С.^{1,4}

¹ НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта; 190034 Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д.3, тел./факс 8 (812)3280262, e-mail: pendina@mail.ru

² Санкт-Петербургский государственный университет, 190034 Санкт-Петербург, Университетская наб. 7/9

³ Диагностический центр (медико-генетический), 194044 Санкт-Петербург, ул. Тобольская, д.5

⁴ Северо-Западный Государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д.41

Представлен редкий случай генетического дисбаланса — терминальных делеций, сочетанных с микродупликациями в коротких плечах хромосом 8 и 18 — при кариотипе 45,XX,der(8)t(8;18)(p23;p11.3),-18dn у пациентки 28 лет без выраженных аномалий физического и умственного развития.

Ключевые слова: хромосомные аномалии, генетический дисбаланс, терминальная делеция, микродупликация.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (грант № 16-04-01438_a, руководитель В.С.Баранов). О.А.Ефимова и А.В.Тихонов являются получателями стипендии Президента РФ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

A case of 8p and 18p genetic imbalance in a female patient without pronounced physical and mental abnormalities

Pendina A.A.^{1,2,3}, Efimova O.A.^{1,2}, Chiryaeva O.G.¹, Malysheva O.V.^{1,4}, Dudkina V.S.¹, Petrova L.I.¹, Pavlova P.A.², Tikhonov A.V.^{1,2,3}, Krapivin M.I.^{1,2}, Koltsova A.S.^{1,2}, Parfenyev S.E.², Serebryakova E.A.^{1,2}, Shabanova E.S.^{1,4}

¹ D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Mendeleevskaya line, 3, 190034, St. Petersburg, Russia, e-mail: pendina@mail.ru

² St. Petersburg State University, Universitetskaya nab.7/9, 190034, St. Petersburg, Russia

³ Center for Medical Genetics, Tobolskaya ul., 5, 194044, St. Petersburg, Russia

⁴ North-Western State Medical University named after I.I.Mechnikov, 191015, St. Petersburg, Kirochnaya ul, 41

We report on a rare case of genetic imbalance — 8p and 18p terminal deletions combined with microduplications in karyotype 45,XX,der(8)t(8;18)(p23;p11.3),-18dn of a 28-year old female patient with no pronounced physical and mental abnormalities.

Key words: chromosomal abnormality, genetic imbalance, terminal deletion, microduplication.

Введение

Среди несбалансированных aberrаций кариотипа, выявляемых постнатально, часто встречаются истинные концевые делеции. В большинстве случаев эта патология сопровождается аномалиями физического и умственного развития. Делеции концевых участков описаны для всех хромосом, как аутосом, так и половых хромосом. Наиболее часто истинные концевые делеции затрагивают короткие и длинные плечи хромосом: 1p36, 4p-, 5p-, 8p-, 11q-, 18p-, 18q- [1]. В отдельных крайне редких случаях потеря концевых участков двух хромосом приводит к их слиянию с образованием одной структурно перестроенной псевдодисцентрической хромосомы. Возникающие при этом двойные частичные моносомии, как правило, являются причиной ярко выраженных фенотипических проявлений.

В настоящей работе мы описываем случай носительства двойной частичной моносомии по коротким плечам хромосом 8 и 18 у пациентки 28 лет без выраженных аномалий физического и умственного развития.

Описание случая

Женщина 28 лет обратилась за консультацией к врачу-генетику по поводу aberrантного кариотипа 45,XX,der(8)t(8;18)(p23;p11.3),-18 в клетках хориона при неразвивающейся беременности раннего срока. Пациентка и ее супруг направлены врачом-генетиком на кариотипирование, в результате которого у супруга установлен нормальный мужской кариотип 46,XY, а у пациентки — несбалансированный женский кариотип 45,XX,der(8)t(8;18)(p23;p11.3),-18dn. У обоих родителей пациентки установлен нормальный кариотип.

В результате сбора клиничко-анамнестических данных установлено, что пациентка родилась от молодых здоровых родителей, второй беременностью, первых срочных родов. Первая беременность у матери была внематочная. Родители в кровном родстве не состоят. В момент наступления беременности родители проживали на территории Анголы, во втором триместре вернулись в Россию. Роды срочные через естественные родовые пути, ножное предлежание, с асфиксией плода. Масса тела новорожденной 3200 г, длина 49 см.

Первый год жизни пациентка находилась под наблюдением невролога по причине гипотонии, получала витаминотерапию и курсы массажа. В детском и подростковом возрасте состояла на учете у эндокринолога в связи с избыточной массой тела. Обучалась в общей школе, имеет среднее специальное и высшее образование.

Менархе с 11 лет, цикл регулярный, 21 день, менструации по 4—5 дней. Трудностей с наступлением беременности не отмечено. Первая беременность закончилась выкидышем на сроке 5/6 недель. Кариотипирование абортного материала не проводилось. Вторая беременность закончилась остановкой развития плода на сроке 5/6 недель. В результате кариотипирования клеток цитотрофобласта ворсинчатого хориона установлен кариотип 45,XX,der(8)t(8;18)(p23;p11.3),-18mat.

На момент осмотра рост пациентки 158 см (рост матери 160 см, отца 168 см), вес 78 кг — ожирение I степени. При осмотре у пациентки выявлены малые аномалии развития лица и черепа: сглаженные надбровные дуги, узкие глазные щели, нависшее веко, широкая спинка носа с мясистым кончиком (рис. 1). Отмечено некоторое укорочение длины рук, неярко выраженная вальгусная деформация нижних конечностей, непропорционально крупные стопы. Внешне пациентка похожа на мать.

Методы и результаты исследования

Кариотипирование пациентки, ее родителей и супруга проведено с использованием ФГА-стимулированных лимфоцитов периферической крови по стандартной методике с использованием GTG и QFH/AcD методов дифференциального окрашивания [2]. У супруга пациентки, ее матери и отца установлен нормальный кариотип. В кариотипе пациентки выявлено 45 хромосом. Аберрантная хромосома представлена хромосомой, образованной при слиянии хромосом 8 и 18, установлен кариотип 45,XX,der(8)(8qter→8p23::18p11.3→18qter),-18 (рис. 2). Кариотипирование клеток цитотрофобласта хориона при неразвивающейся беременности проведено на препаратах метафазных хромосом, полученных «прямым» методом согласно используемому в лаборатории протоколу [3—5] с применением QFH/AcD окрашивания. В клетках цитотрофобласта установлен кариотип 45,XX,der(8)(8qter→8p23::18p11.3→18qter),-18mat (рис. 3).



Рис. 1. Пациентка 28 лет с кариотипом 45,XX,der(8)t(8;18)(p23;p11.3),-18dn.



Рис. 2. Метафазная пластинка и кариограмма из ФГА-стимулированной культуры лимфоцитов пациентки: кариотип 45,XX,der(8)(8qter→8p23::18p11.3→18qter),-18dn. QFH/AcD дифференциальное окрашивание.

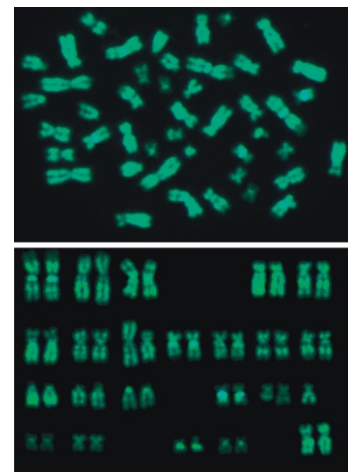


Рис. 3. Метафазная пластинка и кариограмма из клетки ворсинчатого хориона при замершей беременности раннего срока у пациентки: кариотип 45,XX,der(8)(8qter→8p23::18p11.3→18qter),-18mat. QFH/AcD дифференциальное окрашивание.

Для уточнения структуры aberrантной хромосомы проведена флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) согласно рекомендуемому фирмой-производителем протоколу с собственными модификациями [6]. Были использованы следующие ДНК-зонды: к субтеломерной области короткого плеча 8p23 хромосомы 8 (D8S504) (Abbott Labs), к субтеломерной области короткого плеча 18p11.3 хромосомы 18 (D18S552) (Abbott Labs), к центромерному району 8p11.1-q11.1 хромосомы 8 (D8Z2) (Abbott Labs) к центромерному району 18p11.1-q11.1 хромосомы 18 (D18Z1) (Abbott Labs), полнохромосомный зонд к хромосоме 8 (WCP 8) (ASI, США), полнохромосомный зонд к хромосоме 18 (WCP 18) (ASI, США). Препараты были проанализированы с использованием микроскопа Leica DM 2500, осна-

щенного черно-белой камерой Leica DFC345 FX, набором светофильтров и программным обеспечением для получения и обработки цифровых фотоизображений Leica Application Suite V.3.8.0 software.

В результате молекулярно-цитогенетического исследования было установлено, что псевдодидцентрическая хромосома образована в результате слияния хромосом 8 и 18 с точками разрыва в участке p23 короткого плеча хромосомы 8 и в участке p11.3 короткого плеча хромосомы 18 (рис. 4, 5). В aberrантной хромосоме визуализировалась одна перетяжка в центромерном районе хромосомы 8 (рис. 2, 4), при этом в центромерной области хромосомы 18 таковая не визуализировалась (рис. 6). Таким образом, в псевдодидцентрической хромосоме была одна активная центромера, соответствующая центромере хромосомы 8. Установлено, что псевдодидцентрическая хромосома не содержит субтеломерной области короткого плеча хромосомы 8 и субтеломерной области короткого плеча хромосомы 18 (рис. 6, 7). Таким образом, выявлена двойная частичная моносомия — по субтеломерной области короткого плеча хромосомы 8 и короткого плеча хромосомы 18.

Для уточнения размеров делеций проведена сравнительная геномная гибридизация на микроматрицах (aCGH) (CGXv1.1 8x60K, PerkinElmer) согласно протоколу, рекомендуемому фирмой-производителем. В качестве материала была использована ДНК из лимфоцитов периферической крови. В результате проведенного исследования выявлена делеция размером 6,718 млн п.н. участка p23.1-p23.3 короткого плеча хромосомы 8 (del(8)(p23.1p23.3)), дупликация размером 4,937 млн п.н. участка p22 короткого плеча хромосомы 8 (dup(8)(p22p22)), делеция размером 3,693 млн п.н. участка p11.31-p11.32 короткого плеча хромосомы 18 (del(18)(p11.31p11.32)) и дупликация размером 0,060 млн п.н. участка q23 хромосомы 18 (dup(18)(q23q23)), классифицируемая, как вариация числа копий (copy number variation, CNV) (рис. 8). Таким образом, установлены множественные изменения копийности отдельных участков генома:

- arr[hg19] 8p23.1p23.3(202133_6920415)x1
- arr[hg19] 8p22(12582909_17519858)x3
- arr[hg19] 18p11.31p11.32(146484_3839773)x1
- arr[hg19] 18q23(77954106_78013620)x3.

В участках генома с измененной копийностью локализовано 44 аннотированных в OMIM гена: в делетированном участке на коротком плече хромосомы 8 — 16 генов, в дуплицированном участке — 12 генов; в делетированном участке на коротком плече хромосомы 18 — 15 генов, в дуплицированном участке — 1 ген.

Обсуждение

Проблема взаимосвязи определенного генетического дефекта со специфическими фенотипическими проявлениями высоко значима для медико-генетического консультирования. Известны случаи, когда один и тот же генетический дефект приводит к многообразным фенотипиче-

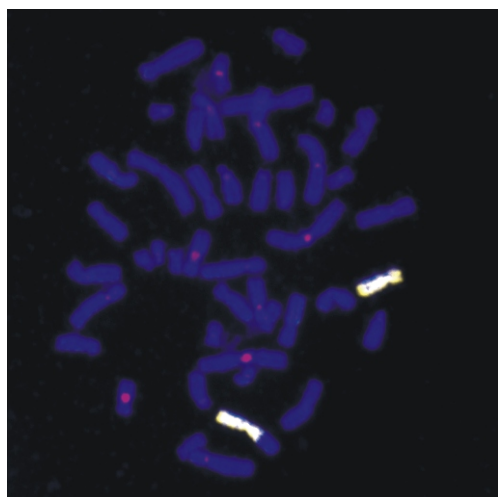


Рис. 4. Метафазная пластинка из ФГА-стимулированной культуры лимфоцитов пациентки с кариотипом 45,XX,der(8)t(8;18)(p23;p11.3),-18dn после флуоресцентной гибридизации *in situ* с полнохромосомным зондом к хромосоме 8.

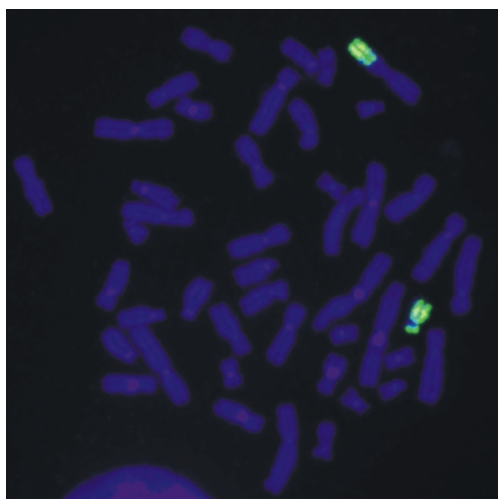


Рис. 5. Метафазная пластинка из ФГА-стимулированной культуры лимфоцитов пациентки с кариотипом 45,XX,der(8)t(8;18)(p23;p11.3),-18dn после флуоресцентной гибридизации *in situ* с полнохромосомным зондом к хромосоме 18.

ским проявлениям: от вариантов нормы до тяжелой патологии. У пациентов с делециями концевой участка короткого плеча хромосомы 8 клинические проявления варьируют в широких пределах. По степени выраженности симптомов пациентов с этой аномалией кариотипа можно условно разделить на три группы. К пациентам первой группы, наиболее многочисленной, относятся дети, прокаротипированные в первый год жизни по причине врожденных пороков развития, лицевых дисморфий и неврологической симптоматики (судорог). Часто у таких детей встречаются пороки сердца [7, 8]. Также описаны пороки мочеполовой и центральной нервной систем. У пациентов отмечают умственную отсталость, выраженную от легкой до умеренной степени. К пациентам второй группы относятся индивиды, обратившиеся за консультацией в детском возрасте по причине гиперактивности и задержки психомоторного развития. Описаны случаи, когда поведенческие особенности и снижение интеллекта таких пациентов были схожи с клиническими проявлениями синдрома ломкой хромосомы X [8]. К третьей группе, самой малочисленной, относятся пациенты, обратившиеся за медико-генетическим консультированием уже взрослыми в связи с нарушениями репродукции. Эти пациенты имеют нормальный интеллект и не имеют пороков развития и дисморфий [9, 10]. Таким образом, пациенты с истинной концевой делецией короткого плеча хромосомы 8 не имеют общих специфических поведенческих и фенотипических изменений, позволяющих предположить у них один и тот же генетический дефект и классифицировать его, как отдельный синдром.

Делеция короткого плеча хромосомы 18, напротив, классифицируется как синдром 18p- (OMIM #146390). Клиническая картина у пациентов с делецией практически всего короткого плеча сочетает такие характерные особенности как низкий рост, микроцефалия, дисморфии, круглое лицо, умственная отсталость разной степени выраженности (от легкой до умеренной), поведенческие особенности [11]. Однако, если размер делеции затрагива-

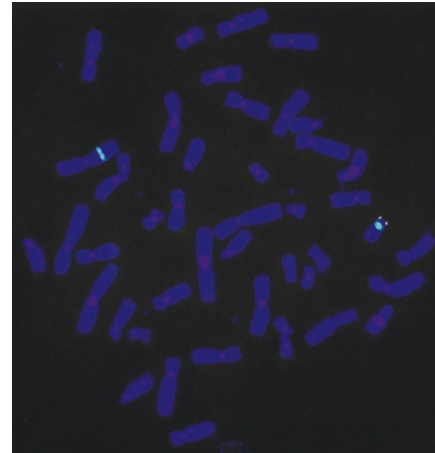


Рис. 6. Метафазная пластинка из ФГА-стимулированной культуры лимфоцитов пациентки с кариотипом 45,XX,der(8)t(8;18)(p23;p11.3),-18dp после флуоресцентной гибридизации *in situ* с ДНК-зондами, специфичными к центромерному району хромосомы 18 (голубой) и к субтеломерной области короткого плеча хромосомы 18 (зеленый + оранжевый).

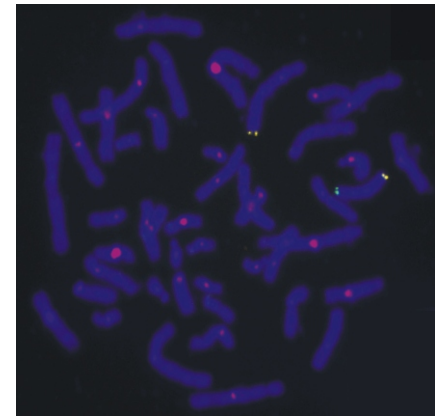


Рис. 7. Метафазная пластинка из ФГА-стимулированной культуры лимфоцитов пациентки с кариотипом 45,XX,der(8)t(8;18)(p23;p11.3),-18dp после флуоресцентной гибридизации *in situ* с ДНК-зондами, специфичными к субтеломерным областям короткого (зеленый) и длинного (оранжевый) плеча хромосомы 8.

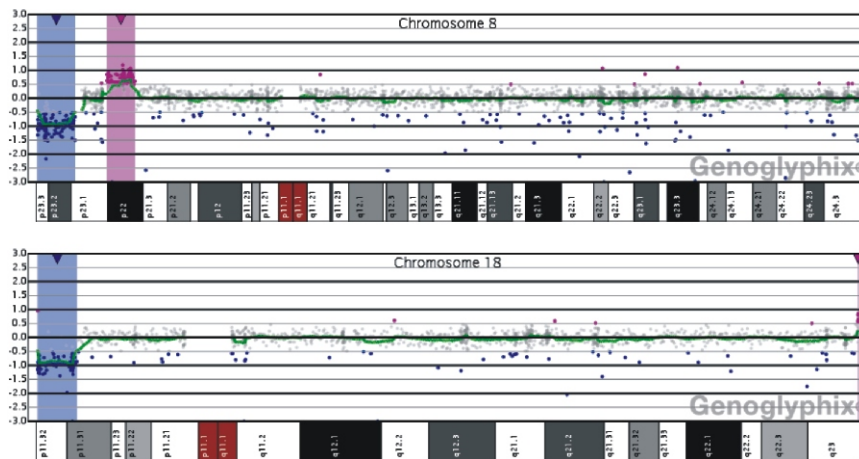


Рис. 8. Результаты сравнительной геномной гибридизации пациентки с кариотипом 45,XX,der(8)t(8;18)(p23;p11.3),-18dp. Синим выделены области делеции на хромосоме 8 и хромосоме 18, красным — области дупликации.

ет не целое плечо, а лишь его часть, клиническая картина менее выражена и может не включать все перечисленные выше аномалии, вплоть до полного их отсутствия.

Фенотип индивидов, у которых выявлена дупликация в коротком плече хромосомы 8, варьирует в широких пределах: от бессимптомного носительства до умеренно тяжелых форм сочетанных аномалий. Так, описаны 4 случая, когда дупликация, унаследованная от фенотипически нормальных родителей, у потомков проявлялась целым комплексом аномалий: малыми аномалиями лица, в том числе широкой спинкой носа, умеренной умственной отсталостью, аутистическим поведением [12]. В двух случаях описано возникновение дупликации *de novo* в сочетании с делецией в хромосомах 15 и 19, клиническая картина при этом характеризовалась внутриутробной задержкой развития, аномальной формой лица, гипотонией, аномалиями желчевыводящих путей, аплазией/гипоплазией поджелудочной железы, гипотелоризмом, вальгусной деформацией стоп [12].

У пациентки, описанной в настоящем исследовании, отсутствуют аномалии физического и умственного развития, число дисморфий находится в пределах физиологической нормы. Из всех клинико-фенотипических проявлений, характерных для носителей дисбаланса концевых участков короткого плеча хромосомы 8 или 18, у нее отмечены только сглаженные надбровные дуги и широкая спинка носа с мясистым кончиком. Неожиданным оказалось, что обнаруженный в настоящем исследовании генетический дисбаланс привел лишь к минимальным фенотипическим проявлениям. Объяснение этого феномена представляется затруднительным. Можно лишь предполагать, что функциональное состояние гомологичных генов на недеLETED хромосоме оказалось достаточным для формирования условно нормального фенотипа. Вопрос о гипотонии при рождении и в первый год жизни остается спорным, так как она может быть следствием как осложненных родов (ножного предлежания и асфиксии плода в родах), так и аномалий кариотипа.

С учетом того, что пациентка фертильна, беременности наступают без затруднений и естественным путем, сложным является её медико-генетическое консультирование. В случае выявления у потомства такого же кариотипа, как у матери, невозможно с уверенностью предсказать будут ли у него аномалии фенотипа и умственная отсталость и в какой степени они будут выражены. В литературе описан случай, когда у брата и сестры, унаследовавших от отца частичную делецию короткого плеча хромосомы 8 (8p23), были разные клинические проявления. У мальчика был снижен интеллект, отмечены поведенческие проблемы, судороги, гидроцефалия. У его сестры не было снижения интеллекта, но была отмечена гиперактивность [9]. В другом исследовании 6-месячная девочка, унаследовавшая делецию короткого плеча хромосомы 8 (8p23.1–23.2) от отца — бессимптомного носителя, также не имела клинических проявлений [10].

Открытым остается вопрос о причинах остановки развития беременности у пациентки. Абортированный

плод женского пола унаследовал структурно-перестроенную хромосому и имел такой же кариотип, как сама пациентка. Можно предполагать как акушерско-гинекологические, так и генетические причины, вызвавшие остановку развития беременности. Нельзя исключить, что имеет значение родительское происхождение структурно-перестроенной хромосомы, а также влияние нового генетического фона на фенотипические проявления гемизиготного состояния генов, локализованных в делетированных участках.

Принимая во внимание приведенные выше факты и отягощенный акушерско-гинекологический анамнез пациентки, рассматривается вопрос о проведении экстракорпорального оплодотворения с предимплантационной генетической диагностикой для селекции и переноса генетически сбалансированных эмбрионов.

Список литературы

1. Gardner R, Sutherland GR, Shaffer LG. Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling. 4th ed. Oxford, UK: Oxford University Press. 2011.
2. Кузнецова ТВ, Логинова ЮА, Чиряева ОГ и др. Цитогенетические методы. В: «Медицинские лабораторные технологии: руководство по клинической лабораторной диагностике» в 2 т. 3-е изд. перераб. и доп, ред. А.И.Карпищенко. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2013; 2: 623–657
3. Baranov VS, Lebedev VM, Poleev AV et al. Fast direct method of obtaining metaphase and prometaphase chromosomes from chorion biopsy cells and human embryos during the 1st trimester of pregnancy. *Biull Eksp Biol Med.* 1990; 110(8): 196–198.
4. Чиряева ОГ, Пендина АА, Тихонов АВ и др. Сравнительный анализ аномалий кариотипа при неразвивающейся беременности, наступившей естественным путем и с применением вспомогательных репродуктивных технологий. *Журнал акушерства и женских болезней.* 2012; 61(3): 132–140.
5. Pendina AA, Efimova OA, Chiryayeva OG et al. A comparative cytogenetic study of miscarriages after IVF and natural conception in women aged under and over 35 years. *J Assist Reprod Genet.* 2014; 31(2): 149–155.
6. Pendina AA, Efimova OA, Tikhonov AV et al. Immunofluorescent staining for cytosine modifications like 5-methylcytosine and its oxidative derivatives and FISH. In: «Fluorescence In Situ Hybridization (FISH): Application Guide». 2nd ed., ed. by T. Liehr. Heidelberg, Berlin: Springer-Verlag. 2017: 337–346.
7. Hutchinson R, Wilson M, Voullaire L. Distal 8p deletion (8p23.1----8pter): a common deletion? *J Med Genet.* 1992; 29(6): 407–411.
8. Wu BL, Schneider GH, Sabatino DE et al. Distal 8p deletion (8)(p23.1): an easily missed chromosomal abnormality that may be associated with congenital heart defect and mental retardation. *Am J Med Genet.* 1996; 62(1): 77–83.
9. Pettenati MJ, Rao N, Johnson C et al. Molecular cytogenetic analysis of a familial 8p23.1 deletion associated with minimal dysmorphic features, seizures, and mild mental retardation. *Hum Genet.* 1992; 89(6): 602–606.
10. Reddy KS. A paternally inherited terminal deletion, del(8)(p23.1)pat, detected prenatally in an amniotic fluid sample: a review of deletion 8p23.1 cases. *Prenat Diagn.* 1999; 19(9): 868–872.
11. de Grouchy J, Turlau C. *Clinical Atlas of Human Chromosomes.* 2nd ed. New York: John Wiley. 1984: 308–313.
12. DECIPHER v9.14 Released <https://decipher.sanger.ac.uk/>