
Пренатальная цитогенетическая диагностика хромосомных болезней в медико-генетическом центре (генетической клинике) НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ: опыт, итоги*

Яковлева Ю.С.^{1,2}, Вовк С.Л.¹, Суханова Н.Н.¹, Торхова Н.Б.¹, Черемных А.Д.¹

- 1 — Научно-исследовательский институт медицинской генетики, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», Россия, 634050, г. Томск, Набережная реки Ушайки, 10
2 — ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации 634050, г. Томск, ул. Московский тракт, дом 2

Пренатальная диагностика хромосомных болезней в Томске и Томской области является неотъемлемой частью оказания медико-генетической помощи населению. В НИИ медицинской генетики внедрены эффективные методы хромосомного анализа практически на любом сроке беременности. За последние пять лет в клинко-диагностической лаборатории проведено 3503 пренатальных цитогенетических исследования, хромосомная патология выявлена в 300 случаях (8,5%). Наибольший процент хромосомной патологии отмечен в группе беременных после прохождения биохимического скрининга 1 триместра — 11,5%. При стандартном цитогенетическом исследовании исключается носительство анеуплоидий и полиплоидий, аномалий структуры хромосом, однако микроструктурные перестройки хромосом часто остаются не выявленными. Только применение комплексного молекулярно-цитогенетического обследования позволяет исключить хромосомную патологию с максимальной вероятностью.

Ключевые слова: пренатальная диагностика; стандартное цитогенетическое исследование; хромосомные аномалии.

Для цитирования: Яковлева Ю.С., Вовк С.Л., Суханова Н.Н., Торхова Н.Б., Черемных А.Д. Пренатальная цитогенетическая диагностика хромосомных болезней в медико-генетическом центре (генетической клинике) НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ: опыт, итоги. *Медицинская генетика* 2019; 18(3): 62-68.

DOI: 10.25557/2073-7998.2019.03.62-68

Автор для корреспонденции: Яковлева Юлия Сергеевна; e-mail: jul25@mail.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России.

Конфликт интересов. Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.02.2019

Prenatal cytogenetic diagnostics of chromosomal diseases in genetic clinic of Research institute of Medical Genetics of Tomsk National Research Medical Center: our experience and results

Yakovleva Y.S.^{1,2}, Vovk S.L.¹, Sukhanova N.N.¹, Torkhova N.B.¹, Cheremnykh A.D.¹

- 1 — Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Naberejnaya Ushaiki st., 10, Tomsk 634050, Russia
2 — Siberian State Medical University, Moskovsky tract, 2, Tomsk, 634050 Russia

Prenatal diagnosis of chromosomal diseases in Tomsk and the Tomsk region is an integral part of the medical care. In the Research Institute of Medical Genetics of Tomsk National Research Medical Center effective methods for chromosomal analysis at almost any gestational age are widely used. In the past five years, 3503 prenatal cytogenetic studies have been carried out and 300 cases (8,5%) of chromosomal abnormalities were detected. The highest percentage of chromosomal pathology (11,5%) was found in pregnant women within first trimester biochemical screening. A standard cytogenetic studying allows eliminates aneuploidy and polyploidy, structural anomalies, especially if they disrupt the morphology of chromosomes, but submicroscopic chromosomal abnormalities often remains not identified. Using of complex molecular cytogenetic technologies allows to exclude chromosomal pathology with the maximum probability.

Keywords: prenatal diagnostics; conventional cytogenetic analysis; chromosomal aberrations.

*Статья подготовлена по материалам доклада на научно-практической конференции «Новые аспекты пренатальной и преимплантационной генетической диагностики» (22 октября 2018 г., г. Томск).

For citation: Yakovleva Y.S., Vovk S.L., Sukhanova N.N., Torkhova N.B., Cheremnykh A.D. Prenatal cytogenetic diagnostics of chromosomal diseases in genetic clinic of Research institute of Medical Genetics of Tomsk National Research Medical Center: our experience and results. *Medicinskaya genetika* [Medical genetics] 2019; 18(3): 62-68 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2019.03. 62-68

Corresponding author: Yakovleva Yulia; e-mail: jul25@mail.ru

Funding. The research was carried out within the state assignment of Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

Accepted: 20.02.2019

Пренатальная диагностика (ПД) хромосомных болезней — важный раздел медико-генетической помощи населению. Согласно статистике, в России на каждую тысячу ежегодно рождается 40—50 детей с наследственными болезнями, при этом хромосомные синдромы занимают около 1% [1]. Именно поэтому ПД направлена на предупреждение рождения детей с тяжелой хромосомной и моногенной патологией.

В Томске цитогенетическая ПД берет свое начало с 1987 г., когда в клинко-диагностическом отделении НИИ медицинской генетики был внедрён метод получения хромосомных препаратов из клеток цитотрофобласта ворсин хориона, а в 1988 г. впервые пренатально был диагностирован синдром Патау. С ноября 2010 г. клинко-диагностическая лаборатория НИИ медицинской генетики одной из первых в России стала участником пилотного проекта по ПД хромосомных болезней плода, согласно постановлению Правительства Российской Федерации № 1159 от 31 декабря 2009 г.

Клинко-диагностическая лаборатория оснащена современным оборудованием, включающим установки для автоматического кариотипирования «Metafer» («MetaSystems», Германия) на базе микроскопов «Carl Zeiss» (Германия), совмещенные с компьютерами со специализированным программным обеспечением для метафазного анализа; автоматическую установку «HANABI-PI EU» — сборщик клеток в состоянии метафазы («ADSTEC Corporation», Япония); стереоскопический микроскоп «Stemi 200C» («Carl Zeiss», Германия) для отбора и фиксации ворсин хориона и плаценты; инвертированный микроскоп «AxioVert.A1» («Carl Zeiss», Германия).

В НИИ медицинской генетики внедрены эффективные методы хромосомного анализа клеток практически на любом сроке беременности. В зависимости от срока беременности и показаний к обследованию, материалом для анализа могут быть клетки ворсин хориона, плаценты, амниотической жидкости и лимфоциты пуповинной крови плода, полученные тем или иным инвазивным методом. Эффективность цитогенетической ПД зависит от срока беременности и от по-

казаний для ПД. Отмечено, что эффективность цитогенетической ПД значительно выше в 1 триместре [2].

К группам высокого риска хромосомных болезней у плода относят беременных, имеющих хромосомные перестройки в своем кариотипе или кариотипе супруга, женщин в возрасте 35 лет и старше, а также женщин, имеющих в анамнезе детей с множественными врожденными пороками развития (МВПР) или хромосомной болезнью. В последние годы в отдельные группы выделены беременные с ультразвуковыми маркерами хромосомной патологии у плода и имеющие отклонения сывороточных маркеров крови от нормы по результатам биохимического скрининга 1 и 2 триместров [3].

За период с 2013 по 2017 гг. в клинко-диагностической лаборатории НИИ медицинской генетики было проведено 3503 пренатальных цитогенетических исследования (табл. 1). Хромосомная патология была выявлена у 300 плодов из 3503, что составило 8,5%. Все обследованные были разделены на группы, согласно показаниям к ПД (табл. 2). Наиболее многочисленной была группа беременных, направленных на инвазивную ПД по результатам биохимического скрининга первого триместра — 1488 женщин. При высоком индивидуальном риске каждой беременной из этой группы проводится консультации врача-генетика, на которой ей разъясняются полученные результаты и предлагается инвазивная ПД. Патология была диагностирована в 171 случае (11,5%), что свидетельствует об эффективности ПД по данному показанию. В этой группе было выявлено 98 плодов с синдромом Дауна, что является самым высоким показателем из всех обследованных групп. В группу «прочие» вошли беременные женщины, которые обследовались исключительно по собственному желанию, и поэтому не были причислены к вышеупомянутым группам. За пять лет таких пациенток было 188, патология выявлена в 7% случаев.

Было установлено, что с 2016 г. в группе пациентов, обследованных только по возрастному показателю — 589 женщин, аномалии плода составили 4,9%, а в группе, сформированной на основании выявлен-

ных УЗ маркеров – 5,3% из 1106 женщин. Интересно, что за последние пять лет, в группе беременных, ранее имевших детей с ВПР, хромосомная патология плода не была выявлена. Высокий процент аномалий кариотипа отмечен в группе носителей хромосомных перестроек: из 35 обследованных патология диагностирована у 9 плодов, что составило 25,7%.

Следует более подробно остановиться на спектре пренатально выявленной хромосомной патологии (рис. 1).

За пять лет в Генетической клинике г. Томска пренатально было выявлено 152 плода с синдромом Дауна. Наибольшее число плодов с данной патологией было выявлено в 2016 г. (39 трисомий по 21 хромосоме). Популяционная частота синдрома в Томске и области в 2016 г. составила 1 на 400 новорожденных. По каким причинам возник такой всплеск данной патологии – не известно. За анализируемый период было отмечено 10 случаев с дополнительной маркерной хромосомой и 4 триплоидных кариотипа у плода (столбец дру-

гие). Следует отметить, что только две беременные женщины пролонгировали беременности с маркерной хромосомой у плода. Данные семьи были обследованы на предмет носительства дополнительного хромосомного материала, наследственный характер данной патологии был подтвержден.

Интересным представляется случай наследственной формы робертсоновской транслокации 21-й хромосомы.

Клинический случай: В клинко-диагностическое отделение НИИ медицинской генетики была направлена беременная женщина в возрасте 34 лет с целью прогноза здоровья будущего ребенка. Русская, срок беременности 22 недели, в анамнезе две беременности, окончившиеся гибелью плода. Женщине была предложена инвазивная пренатальная диагностика – кордоцентез (взятие пуповинной крови). Цитогенетический анализ показал наличие транслокационного варианта синдрома Дауна. При обследовании родителей выяснилось, что отец ребенка является носителем ро-

Таблица 1

Пренатальная цитогенетическая диагностика в Генетической клинике НИИ медицинской генетики в период с 2013 по 2017 гг.

Год	2013	2014	2015	2016	2017
Всего исследований	765	634	744	649	711
% патологии	8,6%	7%	9%	9,3%	8%

Таблица 2

Хромосомная патология, выявленная в группах беременных с различными показаниями к ПД

№	Группы	2013	2014	2015	2016	2017	Всего
1.	Возрастная группа: 35 лет и старше	133	44	61	138	213	589
	Хромосомная патология	9 (6,7%)	0	2 (4%)	5 (3,6%)	13 (6%)	29 (4,9%)
2.	Массовый биохимический скрининг в 1 триместре беременности	234	328	381	277	268	1488
	Хромосомная патология	42 (18%)	40 (12%)	38 (11%)	33 (12%)	18 (6,7%)	171 (11,5%)
3.	Ультразвуковые маркеры хромосомной патологии плода	306	177	254	209	160	1106
	Хромосомная патология	13 (4,2%)	2 (1,1%)	27 (10%)	17 (8,2%)	18 (11%)	77 (5,3%)
4.	В анамнезе рождение детей с ВПР	54	0	13	13	17	97
	Хромосомная патология	0	0	0	0	0	0
5.	Родители, носители аномального кариотипа	6	18	4	4	3	35
	Хромосомная патология	2 (33%)	2 (11%)	1 (30%)	4 (100%)	0	9 (25,7%)
6.	Прочие	32	67	31	8	50	188
	Хромосомная патология	2(6%)	5(7,4%)	2(6%)	1(12%)	4(8%)	14(7%)

бертсоновской транслокации 21/21, что не дает ему возможности иметь здоровое потомство. На **рис. 2 и 3** представлены кариограммы плода и его отца. Мать имеет нормальный хромосомный набор.

Несмотря на то, что стандартный цитогенетический анализ позволяет выявить более 90% хромосом-

ных аномалий, разрешающая способность данного метода имеет ограничения. Микроструктурные аномалии хромосом размером менее 5–10 млн п.н. не будут диагностированы [2]. Требуют дальнейшей уточняющей диагностики случаи, когда у плода имеются ультразвуковые и биохимические маркеры хромосомной

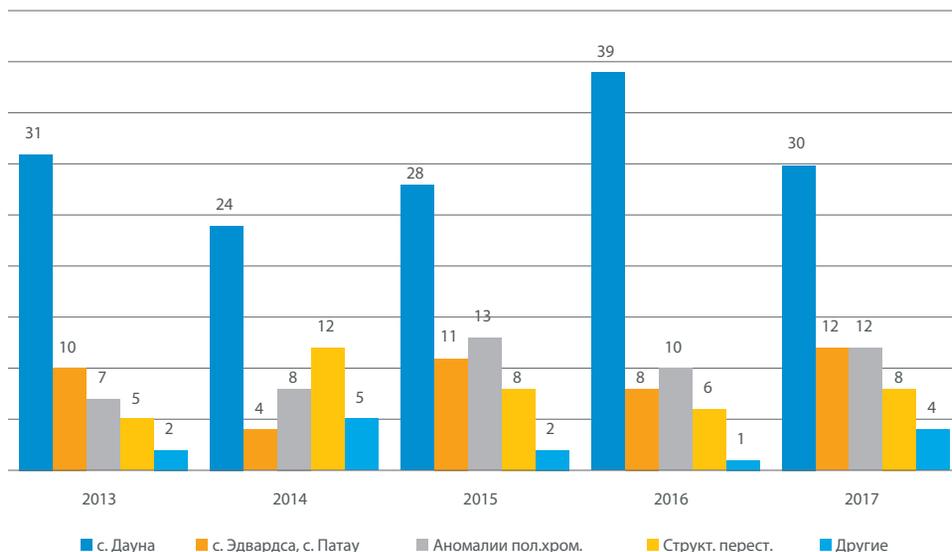


Рис. 1. Спектр выявленной хромосомной патологии (абсолютные значения).

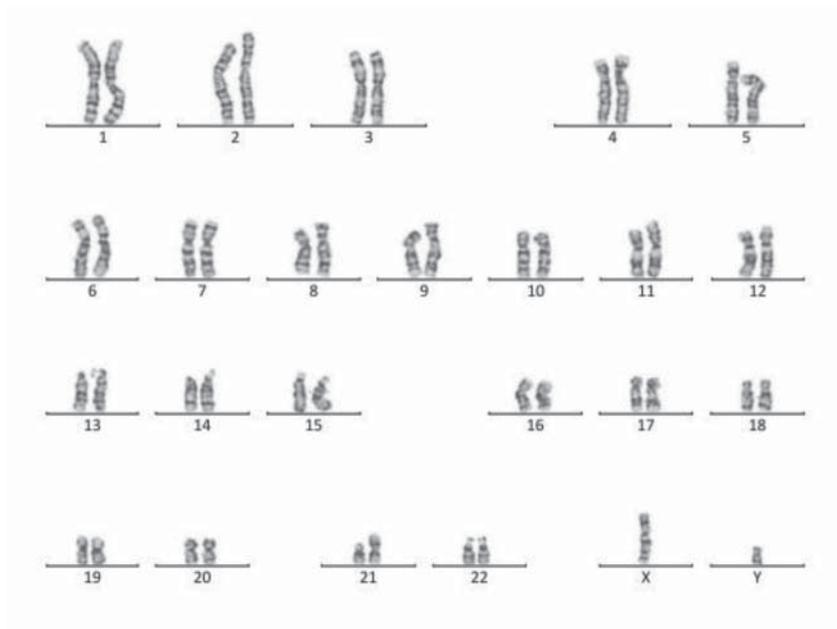


Рис. 2. Транслокационный вариант синдрома Дауна у плода.

патологии, фенотипические аномалии, а кариотип по результатам стандартного цитогенетического исследования нормальный.

С 2011 г. в клиничко-диагностической лаборатории начала применяться молекулярно-цитогенетическая диагностика (FISH, aCGH) (табл. 3).

Первоначально это были единичные случаи уточнения диагноза. В 2013 г. таких пренатальных обследований было всего 29, а в 2017 г. уже 120. За пять лет выполнено 343 исследования. Процент патологии варьирует от 3 до 6. Наиболее часто диагностируются числовые нарушения хромосом. На сегодняшний день данные исследования приоритетно проводятся с целью выявления микроструктурных аномалий хромосом (микроделеции), ассоциированных с такими хромосомными заболеваниями как синдромы Вильямса, ДиДжорджи, Корнелии де Ланге, ретинобластома и

ряд других. С 2017 г. при обнаружении у плода при проведении скрининга второго триместра симптомо-комплекса микроделеционных синдромов Вильямса-Бойрена (делеция 7q11.23), Ди Джорджи, велокардиофациального (делеция 22q11.2) рекомендуется ПД с использованием как цитогенетического, так и FISH методов [4]. Комплексный подход позволяет выявлять хромосомную патологию у плода достаточно эффективно.

Клинический случай: В клиничко-диагностическое отделение НИИ медицинской генетики была направлена беременная женщина в возрасте 30 лет для прохождения скрининга 2 триместра. Русская, срок беременности 20 недель. При ультразвуковом обследовании плода были выявлены маркеры хромосомной патологии у плода (нарушения деятельности сердечно-сосудистой системы). Женщине был рекомендован

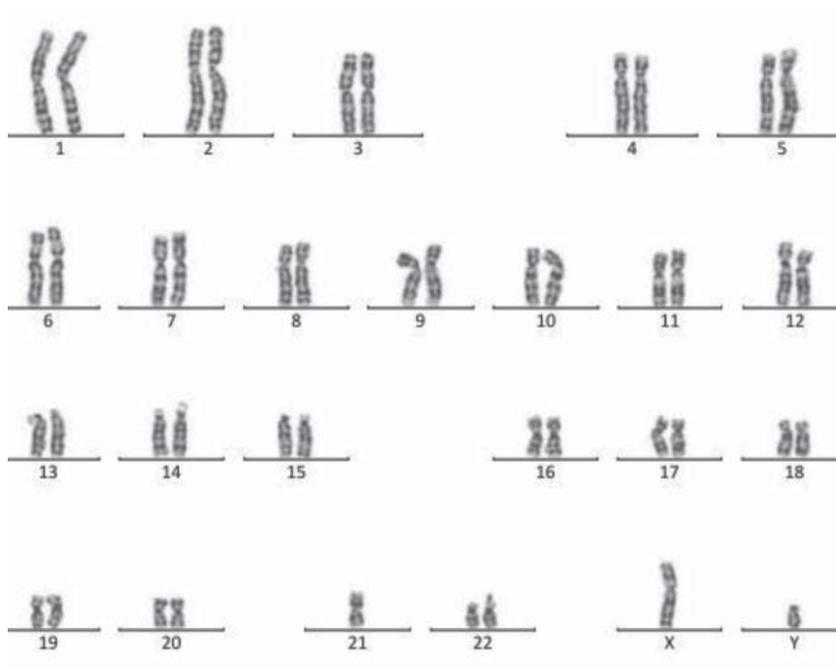


Рис. 3. Робертсоновская транслокация 21/21 у отца.

Таблица 3

Молекулярно-цитогенетическая диагностика в Генетической клинике НИИ медицинской генетики в период с 2013 по 2017 гг.

Год	2013	2014	2015	2016	2017
Всего исследований	29	31	81	82	120
% патологии	3,4	6	6	3,6	4

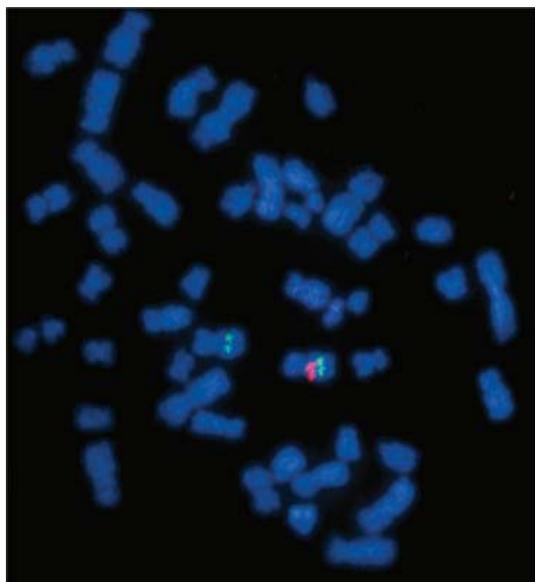
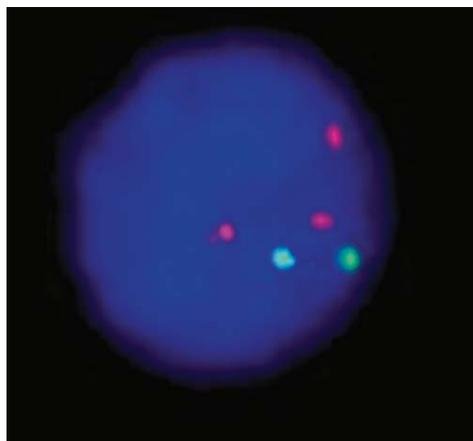


Рис. 4. Результат FISH клеток пуповинной крови плода. Кариотип: 46,XY. ish del(7)(q11.23q11.23)(ELN-). Синдром Вильямса-Бойрена [5].

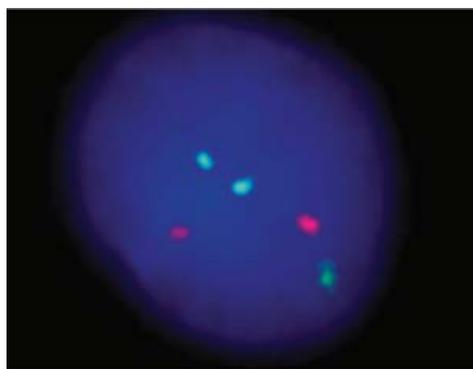
кордоцентез. Цитогенетический анализ показал наличие нормального хромосомного набора, при FISH выявлен синдром Вильямса-Бойрена (**рис. 4**).

Для проведения FISH используются ДНК-пробы «PrenatScreen(13/21;X/Y/18)» [6], (Kreatech-Leica, Германия), имеющие регистрационные удостоверения Минздрава РФ. На **рис. 5** представлен результат FISH-анализа на амниоцитах.

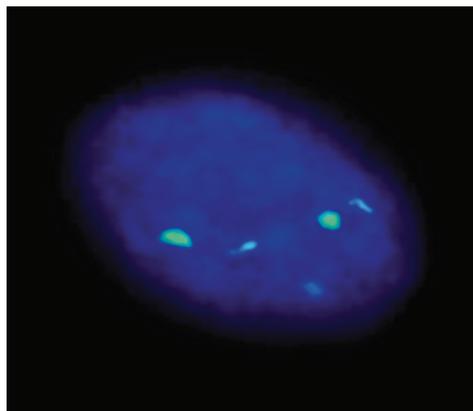
В заключение следует сказать, что при стандартном цитогенетическом исследовании исключаются носительство анеуплоидий и полиплоидий, аномалий структуры, особенно если они нарушают морфологию хромосом. Идентифицировать микроструктурные аномалии хромосом и многие мозаичные варианты хромосомной патологии часто не представляется возможным [7]. Поэтому необходимо учитывать, что стандартное кариотипирование позволяет исключить хромосомную патологию с вероятностью 99%. Таким образом, для эффективной работы всей службы ПД необходимо четкое взаимодействие врача-генетика, врача ультразвуковой диагностики, цитогенетика и молекулярного генетика. Большое значение имеют хорошая материально-техническая база учреждения и информирование населения, результатом которого может стать охват всех беременных необходимыми обследованиями.



а



б



в

Рис. 5. Результаты пренатальной диагностики наиболее частых трисомий человека, полученные методом FISH на клетках амниотической жидкости.

- а) nuc ish 13q14(RB1x2),21q22(RCAN1x3). Синдром Дауна;
 б) nuc ish 13q14(RB1x3),21q22(RCAN1x2). Синдром Патау;
 в) nuc ish (DXZ1x2,DYZ3x0,D18Z1x3). Синдром Эдвардса. [5]

Список литературы

1. Баранов В.С., Кузнецова Т.В., Кашеева Т.К., Ивашенко Т.Э. Пренатальная диагностика наследственных болезней. Состояние и перспективы. СПб:Эко-Вектор: 2017:459.
2. Баранов В.С., Кашеева Т.К., Кузнецова Т.В. Достижения, сенсации и трудности пренатальной молекулярно-генетической диагностики. *Журнал акушерства и женских болезней* 2016; (2): 70-80.
3. Баранов В.С., Кузнецова Т.В., Ивашенко Т.Э., Кашеева Т.К. с соавт. Пренатальная диагностика. Медицинская лабораторная диагностика: программы и алгоритмы: руководство для врачей. М.: ГЭОТАР, 2014. С. 308-346.
4. Gersen S.L., Keagle M. B. The Principles of Clinical Cytogenetics, Springer, 2013. 569 p.
5. ISCN 2016: An International System for Human Cytogenomic Nomenclature (2016) Reprint of: Cytogenetic and Genome Research. J. McGowan-Jordan (Ed.), A.Simons (Ed.), M.Schmid (Ed.). 2016. P. 107.
6. Botta A., Novelli G., Mari A., Novelli A., Sabani M., Korenberg J., Osborne L.R., Digilio M.C., Giannotti A., Dallapiccola B. Detection of an atypical 7q11.23 deletion in Williams syndrome patients which does not include the STX1A and FZD3 genes. *Journal of Medical Genetics* 1999; 36: 478–480.
7. Жученко Л.А., Андреева Е.Н., Лагкуева Ф.К., Отарян К.К., Одегова Н.О., Степнова С.В., Юдина Е.В., Калашникова Е.А. Основные итоги и современное состояние программы комбинированного пренатального скрининга I триместра беременности в Российской Федерации. *Журнал акушерства и женских болезней* 2013; (3): 20-25.

References

1. Baranov V.S., Kuznetsova T.V., Kashcheeva T.K., Ivashchenko T.E. Prenatal diagnosis of hereditary diseases. State and prospects. SPb: Eco-Vector: 2017: 459. (In Rus.).
2. Baranov V.S., Kashcheeva T.K., Kuznetsova T.V. Achievements, sensations and difficulties of prenatal molecular genetic diagnosis. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney [Journal of Obstetrics and Women's Diseases]* 2016; (2): 70-80. (In Rus)
3. Baranov V.S., Kuznetsova T.V., Ivashchenko T.E., Kashcheeva T.K. et al. Prenatal diagnostics. Medical laboratory diagnostics: programs and algorithms: a guide for doctors. Moscow: GEOTAR, 2014. P. 308-346. (In Rus.).
4. Gersen S.L., Keagle M. B. The Principles of Clinical Cytogenetics, Springer, 2013. 569 p.
5. ISCN 2016: An International System for Human Cytogenomic Nomenclature (2016) Reprint of: Cytogenetic and Genome Research. J.McGowan-Jordan (Ed.), A.Simons (Ed.), M.Schmid (Ed.). 2016. P. 107.
6. Botta A., Novelli G., Mari A., Novelli A., Sabani M., Korenberg J., Osborne L.R., Digilio M.C., Giannotti A., Dallapiccola B. Detection of an atypical 7q11.23 deletion in Williams syndrome patients which does not include the STX1A and FZD3 genes. *Journal of Medical Genetics* 1999; 36: 478–480.
7. Zhuchenko L.A., Andreeva E.N., Lagkueva F.K., Otaryan K.K., Odegova N.O., Stepnova S.V., Yudina E.V., Kalashnikova E.A. The main results and the current state of the program of combined prenatal screening for the first trimester of pregnancy in the Russian Federation. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney. [Journal of Obstetrics and Women's Diseases]* 2013; (3): 20-25. (In Rus)