

Редкий хромосомный дисбаланс у плода: опыт применения метода чиповой сравнительной геномной гибридизации (aCGH) (клиническое наблюдение)*

Каретникова Н.А.¹, Екимов А.Н.¹, Баранова Е.Е.², Бахарев В.А.¹, Трофимов Д.Ю.¹, Гус А.И.¹

¹ — ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 117997, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4

² — ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125993, Москва, ул. Баррикадная, д.2/1; E-mail: n_karetnikova@oparina4.ru

Представлен редкий синдром микроделеции 13q в сочетании с дупликацией 10q, детектированные методом чиповой сравнительной геномной гибридизации (aCGH) у плода с увеличенной толщиной воротникового пространства (ТВП) и нормальным результатом кариотипирования ворсин хориона. С учетом сочетанной патологии был проведен анализ кариотипа родителей и у отца был выявлен кариотип 46, XY,t (10;13)(q26.1;q31.3), что позволило оценить прогноз и предложить пренатальную диагностику при последующих беременностях в этой паре. Обсуждается значение современного метода aCGH в пренатальной диагностике микрохромосомных аномалий.

Ключевые слова: беременные женщины, УЗИ, увеличение размера воротниковой области плода, чиповая сравнительная геномная гибридизация (aCGH), вариации числа копий ДНК (copy number variation) — CNV

Введение

Основным маркером хромосомных аномалий (ХА) плода является увеличение ТВП, по данным УЗИ [4, 13]. Однако увеличение ТВП, по данным ряда авторов, является предиктором неблагоприятного исхода и при нормальном кариотипе плода [1]. Использование стандартного кариотипирования (400—800 полос или бэндов) позволяет выявлять численные изменения в кариотипе и грубые структурные нарушения: потерю (делеция) или добавление (дупликация) генетического материала размером 5—10 млн п.н. или более [14], поэтому многие хромосомные нарушения меньшего размера при стандартном кариотипировании оставались нераспознанными. В настоящее время в мире стандартом технологии, позволяющей выявлять хромосомные аномалии меньшего размера, является метод aCGH, позволяющий повысить разрешение кариотипирования примерно в 20 раз и выявлять потери или удвоения генетического материала размером ≥ 400 т.п.н. [2]. Показано, что при использовании только стандартного кариотипирования у плода/новорожденного с пороками развития пропускается до 60% микрохромосомных аномалий, которые можно выявить современными молекулярно-генетическими методами [5], а обнаружение патогенных микрохромосомных аномалий у плодов с увеличением ТВП >99 перцентилиа и нормальным кариотипом в сроки 11—14 недель составляет от 1 до 5% [10, 11]. Благодаря столь высокой чувствительности метода aCGH в обнаружении микрохромосомного дисбаланса, это исследование в ряде стран рекомендуется как тест первой линии для выявления причин пороков развития у плода / новорожденного [3, 15]. Необходимость применения данного метода в группе беременных с увеличением ТВП у плодов может быть проиллюстрировано следующим клиническим наблюдением.

Клиническое наблюдение

Пациентка 34 лет обратилась в научно-поликлиническое отделение Центра за медико-генетическим консультированием. Соматически здорова, менструальный цикл без особенностей, гинекологической патологии не выявлено. Брак I не родственник. Наследственность не отягощена. Профессиональные вредности у супругов отсутствуют. В анамнезе одна нормально протекавшая беременность, завершившаяся рождением здоровой дочери. Течение беременности без осложнений. Срок беременности 13—14 недель. Причиной консультации стали результаты УЗИ, при котором у плода обнаружено: толщина воротниковой области 2,9 мм, 2-й контур головки, отек подкожно-жировой клетчатки в области шеи, сглаженный профиль; реверсный кровоток в венозном протоке. На основании результатов УЗИ и уровня β -ХГ и РАРР-А в крови женщины, с помощью компьютерного анализа установлен риск трисомии 21-й хромосомы 1:65.

* Авторы об отсутствии конфликта интересов.

С учетом вышеизложенного было решено определить кариотип плода. Произведен трансабдоминальный хориоцентез по стандартной методике. После внутриматочного вмешательства беременность протекала без осложнений. Ткань хориона направлена на цитогенетический анализ и в криобанк. В клетках хориона установлен нормальный кариотип, соответствующий женскому полу: 46,XX. Рекомендовано пролонгирование беременности под наблюдением акушера-гинеколога с проведением эхографии. Однако в 21-ю неделю при УЗИ отмечена плацентомегалия, а у плода — алобарная голопрозэнцефалия, микроцефалия, гипертелоризм, выраженный гидроторакс, асцит, отек мягких тканей головки и туловища, гипоплазия легких. Беременность прервали.

В последующем было решено провести молекулярно-генетическое исследование материала, сохранившегося в криобанке методом aCGH. Выделение ДНК из полученного материала проведено с использованием набора InvitrogenPureLink® Genomic DNA MiniKit (США). Полногеномная гибридизация образцов ДНК проводилась на микрочипах SurePrint G3 Human CGH MicroarrayKit, 8x60K, (Agilent, США). Результаты обрабатывались программой Cytogenomics (Agilent, США), далее проводили биоинформатический анализ с использованием Database of Genomic Variants BioXRT [<http://projects.tcag.ca/variation/>], UCSC database NCBI37/hg19 (<http://www.genome.ucsc.edu>), DECIPHER database (<https://decipher.sanger.ac.uk/>) и ISCA (<https://isacconsortium.org/>). Клиническая значимость оценивалась с учетом рекомендаций Американского колледжа медицинской генетики [8], согласно которым обнаруженные вариации числа копий ДНК (copy number variation — CNV) могут быть интерпретированы как патогенные, с неопределенной клинической значимостью и доброкачественные.

При молекулярно-генетическом исследовании у плода обнаружен редкий хромосомный дисбаланс: дупликация участка длинного плеча 10-й хромосомы — вероятно патогенный вариант (рис. 1). Однако дупликация 10q дистальнее региона q25 не связана с пороками развития головного мозга и обычно имеет мягкие клинические проявления [6]. Помимо дупликации выявлена частичная моносомия участка длинного плеча 13-й хромосомы — редкий микроделеционный синдром 13q — патогенный вариант (рис. 2). Описана связь делеции в области 13q32 с тяжелыми пороками развития головного мозга, такими, как менингоцеле, мозговая грыжа, анэнцефалия, мальформация Денди—Уокера, аплазия мозолистого тела и голопрозэнцефалия, а также с черепно-лицевыми аномалиями: микроцефалия, брахицефалия, тригоноцефалия, гипертелоризм, микрофтальмия, широкая переносица, микрогнатия, расщелина лица — и с гипоплазией легких [2].

Учитывая сочетанный характер патологии, супругам было предложено сдать кровь для анализа кариотипа.

У супруги был определен нормальный женский кариотип — 46,XX, а у супруга был выявлен кариотип 46, XY,t(10;13)(q26.1;q31.3) (рис. 3).

Таким образом, было установлено, что у плода имелся редкий синдром делеции 13q в сочетании с дупликацией 10q, а у отца имело место носительство сбалансированной хромосомной транслокации между хромосомами 10 и 13. По данным литературы, риск выкидыша в данной паре приближается к 50%, а риск рождения детей с пороками развития — к 20% [7], однако следует подчеркнуть, что каждый случай носительства хромосомных перестроек должен рассматриваться отдельно и требует индивидуального подхода при медико-генетической консультации в связи с уникальностью каждого такого случая [9].

Благодаря установленному генетическому диагнозу у семьи имеется возможность пренатальной диагностики при следующей беременности с 10 недель путем био-

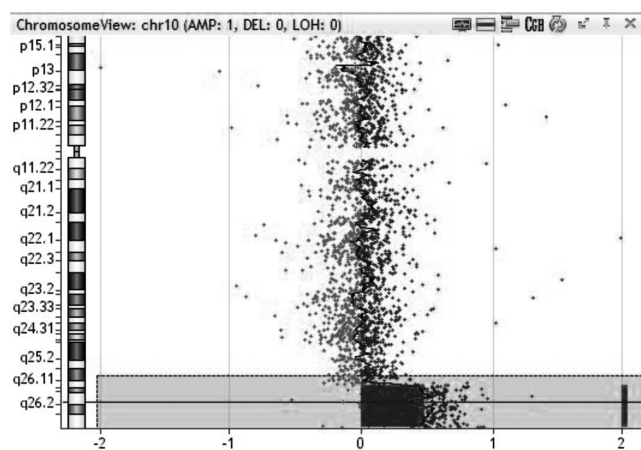


Рис. 1. Дупликация 10q26.11q26.3(120 678 170–135 404 523)х3 у плода женщины 34 лет в программе AgilentCytoGenomicsEdition 2.7.22.0.

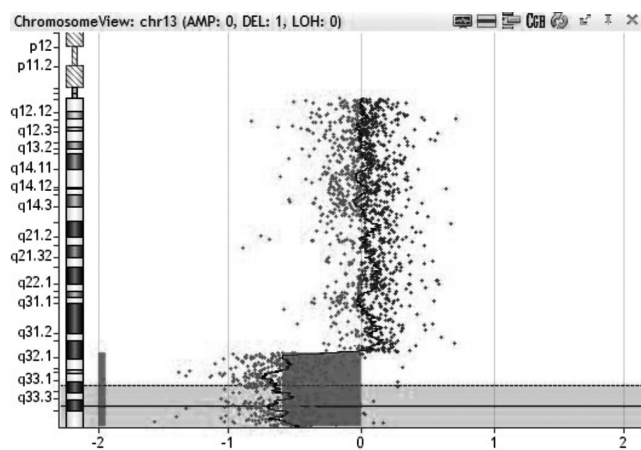


Рис. 2. Делеция 13q31.3q34(93 390 362–115 059 020)х1 у плода женщины 34 лет в программе AgilentCytoGenomicsEdition 2.7.22.0.

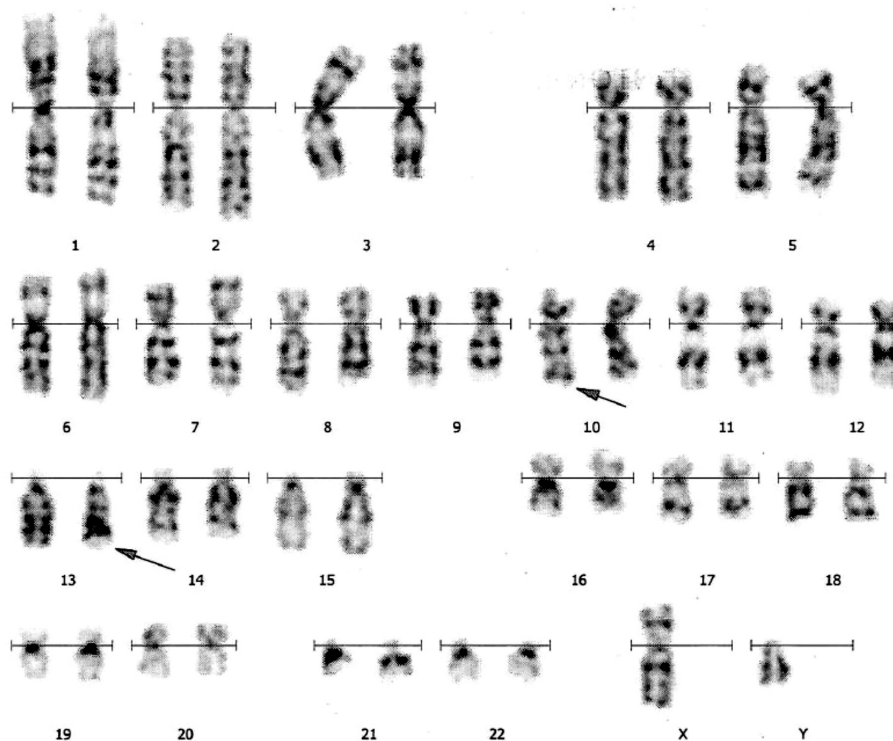


Рис. 3. Сбалансированная транслокация между 10 и 13 хромосомами у мужчины 46, XY,t(10;13)(q26.1;q31.3).

псии хориона. Семье также можно рекомендовать вспомогательные репродуктивные технологии с предимплантационной диагностикой или донацией половых клеток. Кроме того, рекомендовано обследовать здоровую дочь супругов при ее вступлении в брак для исключения носительства сбалансированной хромосомной перестройки, унаследованной от отца.

Список литературы

1. Медведев М.В., Алтынник Н.А. Основы ультразвукового скрининга в 11–14 недель беременности: Практическое пособие для врачей. — 2009. 2-е изд., доп. — М.: Реал Тайм: р. — 96 с.: ил.
2. Alesi V. et al. A previously undescribed de novo 4p15 deletion in a patient with apparently isolated metopic craniosynostosis // *Am. J. Med. Genet. A.* — 155A(10). — P. 2543–2551.
3. Battaglia A. et al. Confirmation of chromosomal microarray as a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental delay, intellectual disability, autism spectrum disorders and dysmorphic features // *Eur. J. Paediatr. Neurol.* — 17(6). — P. 589–599.
4. Chanprapaph P., Dulyakasem C., Phattanchindakun B. Sensitivity of multiple first trimester sonomarkers in fetal aneuploidy detection // *J. Perinat. Med.* — 2015. — 1. — 43(3). — P. 359–365.
5. Cheung S.W. et al. Development and validation of a CGH microarray for clinical cytogenetic diagnosis // *Genet. Med.* — 2005. — 7(6). — P. 422–432.
6. Committee Opinion No. 581: the use of chromosomal microarray analysis in prenatal diagnosis // *Obstet. Gynecol.* — 122(6). — P. 1374–1377.
7. Gorski J.L. et al. Reproductive risks for carriers of complex chromosome rearrangements: analysis of 25 families // *Am. J. Med. Genet.* — 1988. — 29(2). — P. 247–261.
8. Kearney H.M. et al. American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants // *Genet. Med.* — 2011. — 13(7). — P. 680–685.
9. Lazarczyk E. et al. Complex balanced chromosomal translocation t(2;5;13) (p21;p15;q22) in a woman with four reproductive failures // *Mol. Cytogenet.* — 7(1). — P. 83.
10. Leung T.Y. et al. Identification of submicroscopic chromosomal aberrations in fetuses with increased nuchal translucency and apparently normal karyotype // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* — 38(3). — P. 314–319.
11. Lichtenbelt K.D., Knoers N.V., Schuring-Blom G.H. From karyotyping to array-CGH in prenatal diagnosis // *Cytogenet. Genome Res.* — 135(3–4). — P. 241–250.
12. Munne S. Preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy and translocations using array comparative genomic hybridization // *Curr. Genomics.* — 13(6). — P. 463–470.
13. Nicolaidis K.H. et al. Fetal nuchal translucency: ultrasound screening for chromosomal defects in first trimester of pregnancy // *BMJ.* — 1992. — 304(6831). — P. 867–869.
14. Trask B.J., Human cytogenetics: 46 chromosomes, 46 years and counting // *Nat. Rev. Genet.* — 2002. — 3(10). — P. 769–778.
15. Zilina O. et al. Chromosomal microarray analysis as a first-tier clinical diagnostic test: Estonian experience // *Mol. Genet. Genomic Med.* — 2(2). — P. 166–175.

Rare chromosomal imbalance in the fetus: the experience of the application of array comparative genomic hybridization (aCGH) (clinical case)

Karetnikova N.A.¹, Ekimov A.N.¹, Baranova E.E.², Bakharev V.A.¹, Trofimov D.Yu.¹, Gus A.I.¹

¹ — Federal State Budget Institution «Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology», Ministry of Health.
Address: Oparin street, 4, Moscow, Russian Federation, 117997

² — Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Ministry of Health. Address: Moscow, st. Barricade, 2/1, 125993
E-mail: n_karetnikova@oparina4.ru

The article presents a rare microdeletion syndrome 13q combined with duplication 10q, detected by array comparative genomic hybridization (aCGH) in a fetus with increased nuchal translucency and normal karyotyping result of chorionic villi. We also identified the father's karyotype 46, XY, t(10; 13)(q26.1; q31.3). It is allowed us to estimate the prognosis and to offer prenatal diagnosis in following pregnancies. CGH method can be essential complement to standard cytogenetic methods and should be done in the all cases of fetuses with increased nuchal translucency.

Keywords: pregnant women, ultrasound examination, increased nuchal translucency, array comparative genomic hybridization (aCGH), copy number variation (CNV)