

О. Б. Полодієнко

ОСОБЛИВОСТІ КАРІОТИПУ ПОДРУЖНІХ ПАР З РЕПРОДУКТИВНИМИ РОЗЛАДАМИ

Міська дитяча лікарня № 1 ім. акад. Б. Я. Резніка, Одеса

Світлій пам'яті чудового лікаря, який стояв біля витоків медико-генетичної служби в Одесі та області, **Зінаїді Миколаївні Живац** присвячується.

Вступ

Останні роки характеризуються зростанням частоти неплідних шлюбів, збільшенням кількості подружніх пар, в анамнезі яких були факти невиношування вагітності. Етіологія звичного невиношування вагітності різноманітна. Його причинами можуть бути соматичні та гінекологічні порушення у матерів, екстрагенітальна патологія, штучні аборти, генетичні фактори [1]. Результати обстежень подружніх пар з репродуктивними розладами свідчать, що частота хромосомних аномалій у них може коливатися від 4,3 до 9,6 % [2]. Під час генетичного консультування подружніх пар з порушенням репродуктивної функції (ПРФ) при з'ясуванні причин виникнення мимовільних абортів, народження дітей із множинними природженими вадами розвитку (МПВР) і/або мікроаномаліями розвитку (МАР), а також при визначенні повторного ризику даних негативних подій у родині, тактики проведення пренатальної діагностики провідна роль належить цитогенетичним дослідженням [3]. Відомо, що кожна восьма пара з репродуктивними проблемами потребує цитогенетичного дослідження, тому що фенотипово здорові індивідууми можуть бути носіями хромосомної перебудови. Причинами репродуктивних втрат можуть бути: носійство хромосомної перебудови в батьків, «прихований» бать-

ківський мозаїцизм, наявність додаткової маркерної хромосоми (mar), а також, за припущенням деяких дослідників, генетично зумовлена тенденція до нерозходження хромосом [3–5].

Мета даної роботи — цитогенетичне обстеження подружніх пар із ПРФ.

Матеріали та методи дослідження

Цитогенетичне обстеження кожної подружньої пари здійснювали за показниками, прийнятими у клінічній генетиці: наявність в анамнезі дитини з хромосомними аномаліями, МПВР і/або МАР; спонтанні аборти на різних термінах вагітності; мертвонароджуваність і безплідність [3].

Цитогенетичну діагностику проводили на препаратах метафазних хромосом, отриманих за стандартними методиками [6]. Ідентифікацію хромосом виконували відповідно до ISCN (2005) [7] після диференційного забарвлення хромосом GTG-і C-методами. З допомогою метафазного аналізу досліджували 29 метафаз кожного з подружжя, у разі «прихованого» мозаїцизму або наявності додаткової mar-хромосоми — не менше 100.

Результати дослідження та їх обговорення

Відомо, що наявність у одного із подружжя збалансованої транслокації (t) підвищує ризик народження дитини з хромосомною патологією або може бути

причиною звичного невиношування [8]. Частота носійства хромосомних перебудов, що не позначалася на фенотипі індивідуумів з невиношуванням вагітності, становить 2,3 %, що приблизно у 10 разів вище, ніж у загальній популяції (0,19 %) [9].

На цитогенетичну діагностику була направлена подружня пара Я. зі звичним невиношуванням вагітності. У результаті дослідження встановлено, що дружина Я. є носієм збалансованої реципрокної транслокації короткого плеча хромосоми 2 на коротке плече хромосоми 1 і довгого плеча хромосоми 2 на довге плече хромосоми 1 (рис. 1, а). Каріотип пробанда Я. — 46,XX,t(1;2)(1pter -> 1p10::2p10 -> 2pter;1qter -> 1q10::2q10 -> 2qter). Хромосомний набір чоловіка Я. у нормі — 46,XY. При родинному носійстві хромосомних перебудов ризик народження дитини з МПВР варіює від 0 до 50 % і залежить від довжини транслокованих ділянок, що визначає життєздатність плодів з незбалансованим каріотипом. У пробанда Я., найімовірніше, зиготи з аномальним набором хромосом, через присутність потрібної дози генів довгого плеча хромосоми 1 (або 2) (рис. 2, а (5; 6)), або з трисомією за коротким плечем хромосоми 1 (або 2) (рис. 2, а (3; 4)) нежиттєздатні й елімуються на ранніх термінах розвитку. Переривання вагітності при хромосомній аномалії у зародка запобігає народженню дитини з тяжкими ва-



дами розвитку і свідчить про біологічну доцільність мимовільного аборту. На жаль, патогенез переривання вагітності при хромосомній патології залишається невідомим [10].

Додатковою демонстрацією, коли обтяжений акушерський анамнез зумовлений збалансованою перебудовою в одного з подружжя, є подружжя пара Т. При цитогенетичному обстеженні у чоловіка (пробанд Т.) ідентифікована транслокація термінальної частини довгого плеча (qter->q32) хромосоми 13 на коротке плече хромосоми 8 (рис. 2, б). Каріотип пробанда Т. — 46,XY,der(8) t(8;13)(p23,2;q32). Така перебудова може обумовлювати народження в дружини Т. як здорових дітей (без або з транслокацією, аналогічно батьківській (рис. 2, б (1; 2)), так і дітей із хромосомною патологією (частковою трисомією або частковою моносомією за термінальною ділянкою (qter->q32) хромосоми 13 (рис. 2, б (3; 4)). Родина Т. звернулася в медико-генетичну консультацію з приводу невиношування вагітності (4 мимовільних викидні). Ймовірно, у жінки елімінувалися ембріони (плоди) із хромосомним дисбалансом. Звичайно, здоровий жіночий організм абортуює ембріони (плоди) з аномаліями розвитку, такий природний добір, що може відбуватися також на стадіях зиготи та ранньої бластоцисти і клінічно не діагностується, зменшує ймовірність народження дитини з ПВР, у тому числі хромосомного генезу. Однак він цілком не виключає зачаття і народження дитини з хромосомною аномалією. У зв'язку з ризиком народження дитини з хромосомною патологією дружині Т., у разі наступної вагітності, показана інвазивна діагностика. Сучасний рівень пренатальної діагностики дозволяє визначити каріотип плода з 9-го тижня вагітності, тобто існує ефективний спосіб допомогти таким родинам уникнути народження хворої дитини.

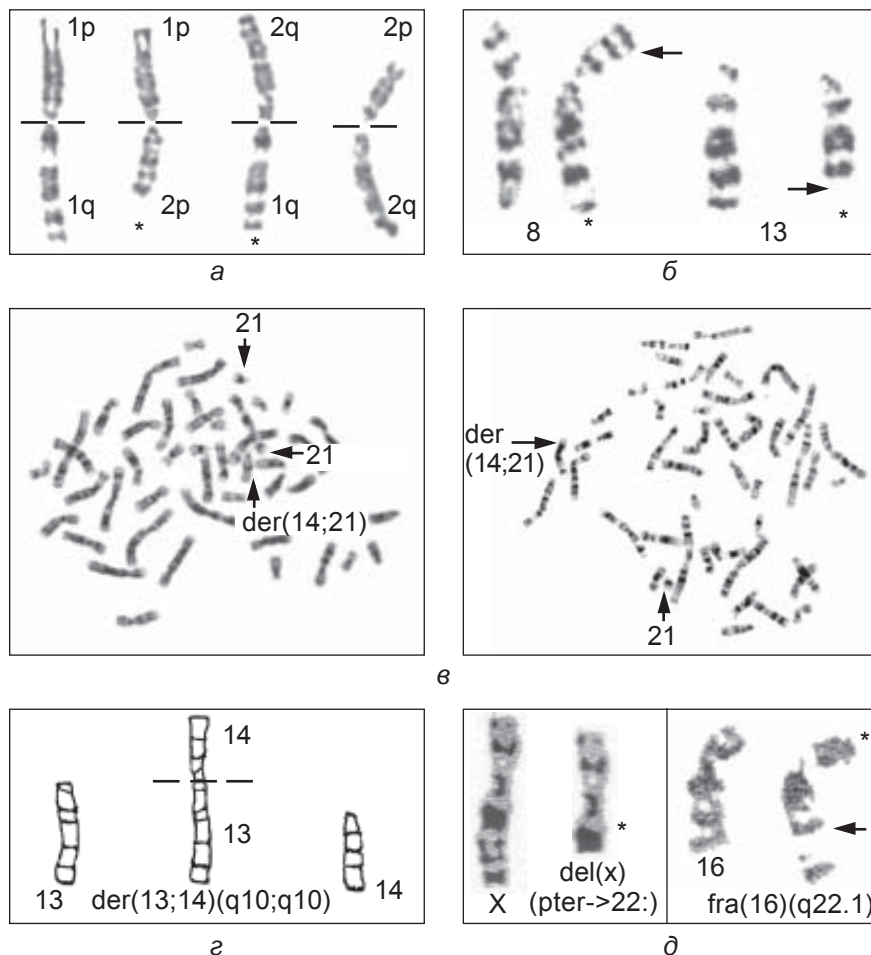


Рис. 1. Нормальні та утворені в результаті збалансованої структурної перебудови (*) хромосоми: а — збалансована реципрокна транслокація 1р на 2р (1pter->1p10::2p10->2pter) та 1q на 2q (1qter->1q10::2q10->2qter) (пробанд Я.); б — збалансована транслокація термінальної ділянки (qter->q32) 13 хромосоми на 8р (der(8)t(8;13)(p23,2;q32->qter)) (пробанд Т.); в — метафазні пластинки з Робертсонівською транслокацією (der(14;21)) пробанда Л. (46,XX,der(14;21)(q10;q10),+21mat) і її матері (45,XX,der(14;21)(q10;q10)); г — der(14;21)(q10;q10) (пробанд Н.); д — делетована X-хромосома (*) та фрагільна (*) 16-та хромосома (пробанд К.). Мікрофотографії, ок. 10 × про. 100

Однією з причин народження хворої дитини або звичного невиношування є наявність в одного з батьків Робертсонівської транслокації (rob). Rob — особливий тип хромосомних перебудов із залученням акроцентричних хромосом 13, 14, 15, 21 і 22. Утворення rob відбувається за рахунок злиття довгих плечей акроцентричних хромосом з одночасною втраченою обох коротких плечей. Цей тип перебудов є однією з найчастіших структурних аномалій хромосом, частота rob становить 1 на 1000 індивідуумів [11]. Rob із залученням гомологічних хромосом дорівнюють не біль-

ше 10 %, тимчасом як із залученням негомологічних хромосом — близько 90 %. Серед цих аномалій найбільш частими є rob(13q;14q) і rob(14q;21q) — 76 і 10 % відповідно. Загальна частота інших rob оцінюється як 15 % і нижче. Зазначені хромосомні перебудови не пов'язані з аномальними фенотиповими проявами. Це пояснюється тим, що короткі плечі усіх акроцентричних хромосом містять не кодуєчі сателітні ДНК і гени рибосомальної РНК (18S і 28S), втрата яких суттєво не позначається на фенотипі. Однак індивідууми з rob входять у групу ризику наро-



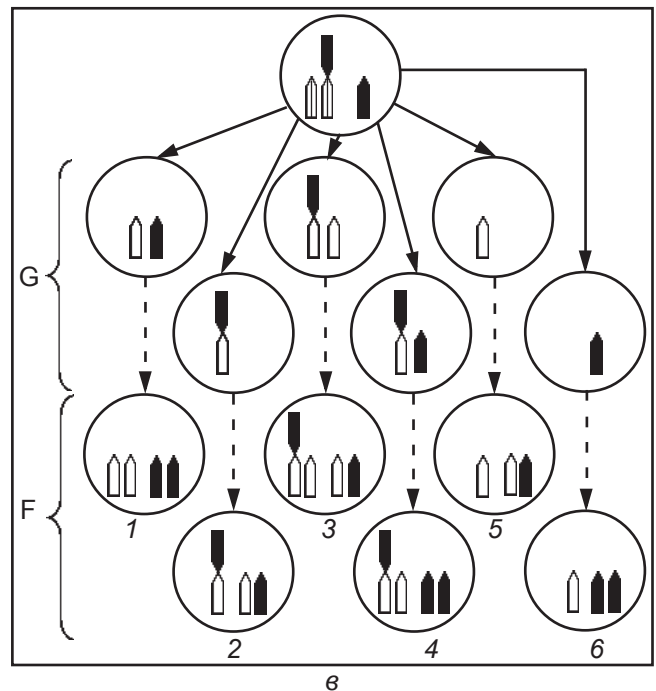
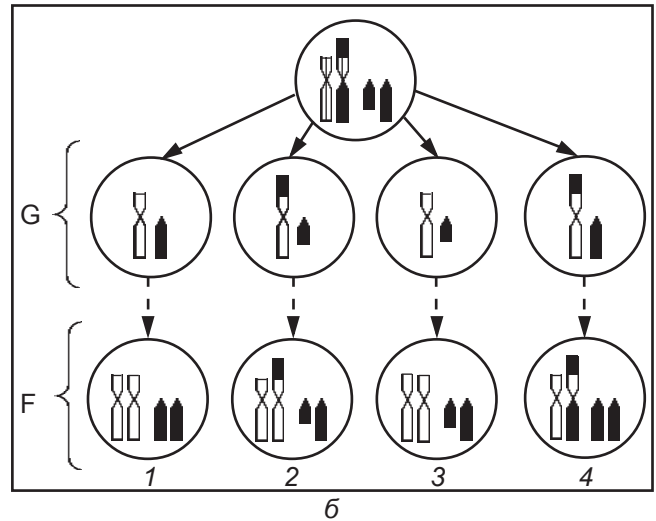
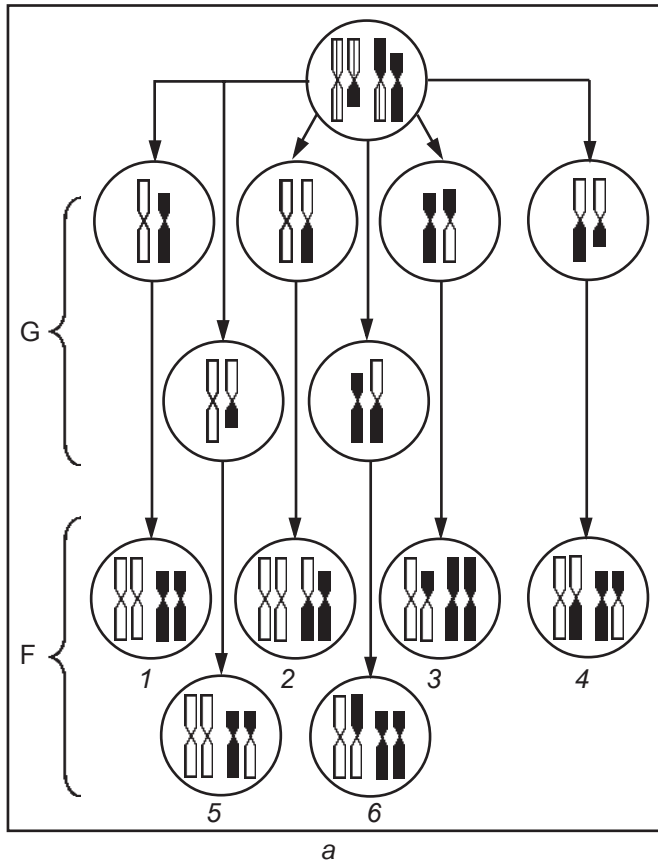


Рис. 2. Схематичне зображення формування гамет (G) і зигот (F) у носіїв зі структурною перебудовою хромосом: 1, 2 — зиготи з нормальним набором хромосом (без або зі збалансованою структурною перебудовою, аналогічною батьківській); 3–6 — зиготи з хромосомною патологією; а — пробанд Я.; б — пробанд Т.; в — пробанд Л.

дження дітей з численними хромосомними аномаліями й уніпарентною дисомією, а також за мимовільними викиднями.

Відомо, що наявність в одного з батьків *rob* із залученням хромосоми 21 може призводити до народження дитини з трисомією за хромосомою 21. Приблизно у 5% дітей з синдромом Дауна виявляється *rob* із залученням хромосоми 21. Так, при цитогенетичному обстеженні подружжя Л., у яких від першої вагітності народилася дівчинка із синдромом Дауна (каріотип 46,XX,der(14;21)(q10;q10),+21mat (рис. 1, в)), було встановлено, що мати дитини є носієм *rob* — каріотип 45,XX,der(14;21)(q10;q10)

(рис. 1, в). У даному випадку, та у двох інших, де один з подружжя був носієм *rob* хромосоми 13 на 14 (родина Н.) (рис. 1, г) і хромосоми 14 на 15 (сім'я П.), тільки інвазивна діагностика допоможе уникнути народження хворої дитини (рис. 2, в (3–6)) і народити здорове дитя (рис. 2, в (1, 2)).

Серйозну проблему в родинах із ПРФ становить мозаїцизм, у тому числі «прихований», за гоносомами або автосомами, оскільки, як правило, у їхніх носіїв збережена здатність відтворити потомство [3; 5]. Хромосомний мозаїцизм зумовлений порушеннями на постзиготній стадії ембріогенезу. Організм у

цьому разі сформований двома або більше клонами клітин із різною хромосомною конституцією, що закріпилися в онтогенезі клітинною селекцією. Співвідношення клітинних клонів залежить від стадії розвитку зиготи, на якій відбулося мутаційне порушення. Так, у результаті порушення в одній (або декількох) клітинах на пізніх стадіях дроблення зиготи утворюється індивідуум, більша частина клітин якого має нормальний хромосомний набір, а незначна — аномальний («прихований» мозаїцизм).

У пробанда Р., дружина якого двічі переривала вагітність за медичними показниками, був



виявлений «прихований» аномальний клон клітин з додатковою хромосомою 21 у мінімальному відсотку — 4,6 % (рис. 3, а). Каріотип пробанда Р. — $47,XY,+21$ [6] / $46,XY$ [131]. Каріотип дружини Р. у нормі — $46,XX$. Наявність такого мозаїцизму в одного з подружжя може бути причиною народження дитини з додатковою 21-ю хромосомою батьківського походження. У літературі висловлюється припущення розглядати «прихований» мозаїцизм як деяку хромосомну нестабільність, яка виникла спонтанно в 1–2 клітинах, тому таких пацієнтів слід, імовірно, зарахувати до групи ризику щодо утворення гамет з анеуплоїдним каріотипом.

Наступний клінічний випадок становить інтерес щодо наявності при мозаїчному каріотипі двох аномальних клітинних ліній: одна — з моносомією за Х-хромосомою; друга — з наявністю двох Х-хромосом, одна із яких делетована за термінальною ділянкою ($qter \rightarrow q22$) довгого плеча (рис. 1, д). Співвідношення клітинних клонів — 1,4 : 1. Каріотип пробанда К. — $45,X$ [59] / $46X,del(X)(pter \rightarrow q22:)$ [41]. Відомо, що для диференціювання і нормального функціонування яєчників і, головне, для дозрівання ооцитів необхідна наявність подвійної дози деяких генів, локалізованих на обох плечах Х-хромосоми. Зокрема, хромосомні ділянки $Xp11.2-p22.1$, $Xq13-q21$ і $Xq26-q28$ відповідальні за розвиток фертильних гонад. Вважається, що гени, необхідні для підтримки функціональної здатності ооцитів, локалізовані між $Xp21$ і центромерою [11].

Заслуговує на увагу наявність у пробанда К. в обох клітинних лініях клонів клітин з фрагільною хромосомою $16(fra(16)(q22.1))$ (див. рис. 1, д) — що є варіантом норми відповідно до ISCN [7]. Однак відомо, що наявність ламкого сайту може призводити до хромосомних аномалій: делецій, ацентричних фрагментів, ба-

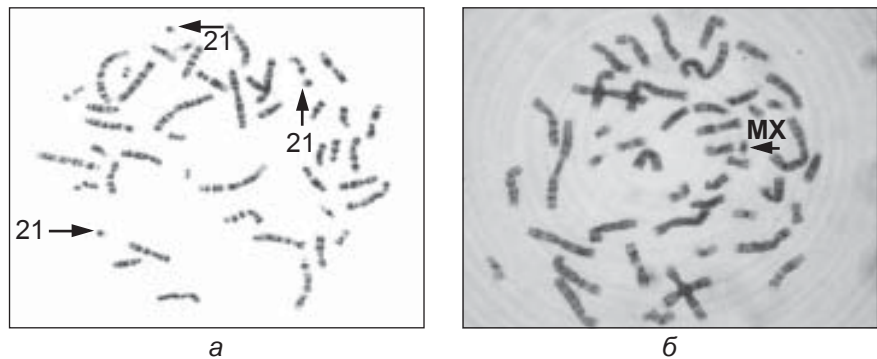


Рис. 3. Мікрофотографії метафазних пластин: а — з додатковою 21-ю хромосомою («прихований» мозаїцизм — пробанд Р.); б — з МХ хромосомою ($47,XX,+mar$ — пробанд М.). Ок. $10 \times$ про. 100

гаторадіальних фігур. Тому даний факт потрібно також взяти до уваги при медико-генетичному консультуванні подружжя. При УЗД пробанда К. виявлена гіпоплазія матки 1-го ступеня (її розмір $40-33-38$ мм) і гіпогонадізм (розміри яєчників: лівого — $19-18-18$ мм, правого — $17-16-18$ мм). У даному разі, з огляду на особливості каріотипу пробанда К., вирішення питання про зачаття і народження здорової дитини можливе тільки із застосуванням допоміжних репродуктивних технологій. Ці технології надають жінкам, які бажають стати матерями, і раніше були приречені на безплідність та втрату дітей, певний і чималий шанс завагітніти й народити не тільки живих, але і здорових дітей.

Особливе місце серед причин ПРФ і хромосомної патології людини посідають невеликі надчисленні маркерні хромосоми (МХ). Частота їх зустрічальності коливається між 0,65 і 1,5 на 1000 чоловік, причому 40 % випадків — родинні [12–15]. Маркерні хромосоми — це додатковий хромосомний матеріал у вигляді:

1. Маркерні хромосоми, які не містять еухроматинові сегменти хромосом, — можлива присутність районів ядерцеутворення (ЯУ).
2. Маркерні хромосоми, що містять еухроматинові сегменти хромосом.
3. Маркерні хромосоми з «неоцентричними».

4. Маркерні хромосоми, що містять матеріал двох або більше хромосом [16].

Маркерні хромосоми першого типу не чинять помітного впливу на фенотип носія. Відсутність клінічних проявів подібних МХ здається цілком логічним, тому що вони не містять еухроматинових сегментів і функціонально активних генів. Однак формування цих МХ може вказувати на підвищену хромосомну нестабільність і на необхідність проведення більш ретельного цитогенетичного аналізу. Клінічно здорові носії МХ входять у групу ризику народження дітей із хромосомними аномаліями й уніпарентною дисомією, а також за мимовільними викиднями. Однак виявлення у плода (при інвазивній діагностиці) МХ із молекулярним складом, аналогічним хромосомі фенотипово здорової матері, дає підставу для збереження вагітності [17].

На цитогенетичну діагностику була направлена подружня пара М. із ПРФ. У результаті проведених досліджень каріотипи дружини і чоловіка ідентифіковані відповідно: $47,XX,+mar$ і $46,XY$. В усіх 100 проаналізованих клітинах дружини виявлена надчисленна МХ (mar). Додаткова хромосома мала вигляд ізохромосоми зі супутниковими нитками і супутниками (рис. 3, б). Особливості структури виявленої МХ дозволяють припустити, що вона є похідною однієї з акроцентричних хро-



мосом. Відомо, що близько 80 % МХ є ізохромосомами за короткими плечами акроцентричних і деяких двоплечових хромосом [18]. Однак точне визначення походження і складу виявленої надчисленної хромосоми методами класичної цитогенетики вкрай проблематичне і знаходиться за межами її роздільної здатності. Визначити хромосомну належність МХ дозволяють методи молекулярно-цитогенетичного аналізу. Для проведення такої діагностики, а також для обґрунтування, розробки і виконання передімплантаційної діагностики з метою народження здорової дитини пробанду М. було рекомендовано продовжити обстеження у клініці «ИСИДА-IVF» (Київ). Таким чином, жінкам, вагітність і пологи в яких належать до категорії високого ризику, необхідна високоспеціалізована медична допомога, що забезпечує контроль за розвитком ембріона і плода. Сучасний набір засобів пренатальної діагностики надає широкі можливості для активної профілактики ПВР, що дозволяють знизити кількість народження дітей з аномаліями розвитку на 30 % [19].

Отже, цитогенетичне обстеження подружніх пар дозволило встановити, що ПРФ у них обумовлено генетичними факторами, на підставі отриманих даних лікарем-генетиком розраховано ризик народження хворої дитини і ризик спонтанного переривання вагітності та вибрана подальша тактика ведення таких родин. Подружжям до планованої вагітності рекомендована комплексна програма подальшого обстеження та проведення прекоцепційного лікування і профілактики, що гарантує найбільш сприятливі фізіологічні умови на період зачаття [1]. При настанні вагітності обов'язкове проведення інвазивної діагностики і спостереження за вагітністю. Наведені приклади є переконливим доказом необхідності медико-генетичного консультуван-

ня подружніх пар із ПРФ і обов'язковим каріотипуванням обох майбутніх батьків.

Висновки

1. Цитогенетичне обстеження родини є обов'язковим для визначення причин неплідності, розрахунку повторного ризику народження хворої дитини або спонтанного викидня, а також необхідне з метою вибору подальшої тактики планування та спостереження при вагітності.

2. Носії хромосомних аномалій мають підвищений ризик народження дитини з хромосомною патологією або несприятливого результату вагітності.

ЛІТЕРАТУРА

1. Богатирьова Р. В. Генетика репродуктивних втрат / Р. В. Богатирьова, О. Я. Гречанина. — К., 2003. — 206 с.

2. *Результаты молекулярно-цитогенетической диагностики супружеских пар с нарушением репродуктивной функции при медико-генетическом консультировании* / С. Г. Ворсанова, П. З. Казанцева, А. К. Берешева [и др.] // Молекулярная диагностика наследственных болезней и медико-генетическое консультирование : республ. сб. науч. тр. — М., 1995. — С. 124-131.

3. *Молекулярно-цитогенетическая диагностика хромосомных аномалий у супружеских пар с нарушением репродуктивной функции* / С. Г. Ворсанова, А. К. Берешева, Л. З. Казанцева [и др.] // Проблемы репродукции. — 1998. — № 4. — С. 41-46.

4. Гинзбург Б. Г. Цитогенетические аспекты невынашивания беременности в системе медико-генетического консультирования / Б. Г. Гинзбург // Проблемы репродукции. — 2000. — № 1. — С. 57-59.

5. Бужиевская Т. И. Анеуплоидия у человека / Т. И. Бужиевская, Т. В. Выгорская // Цитология и генетика. — 1990. — Т. 24, № 3. — С. 66-72.

6. Зерова-Любимова Т. Е. Цитогенетичні методи дослідження хромосом людини : (методичні рекомендації) / Т. Е. Зерова-Любимова, Н. Г. Горovenko. — К., 2003. — 23 с.

7. *ISCN. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature* / ed. F. Mitelman. — Basel : S. Karger, 2005. — 115 p.

8. Підгорна О. В. Особливості каріотипу подружніх пар з репродуктивними розладами різного походження :

автореф. дис. ... канд. біол. наук / О. В. Підгорна. — К., 2004. — 21 с.

9. Evans H. S. Chromosome anomalies among livebirths / H. S. Evans // J. Med. Genet. — 1997. — Vol. 14. — P. 309-312.

10. *Морфология ворсинчатого хориона при спонтанных абортах с хромосомными аномалиями* / И. Н. Волощук, Ю. В. Горбачева, Н. М. Дышева [и др.] // Медицинская генетика. — 2002. — Т. 1, № 1. — С. 38-41.

11. Kim S.-R. Robertsonian translocations: mechanisms of formation, aneuploidy, and uniparental disomy and diagnostic considerations / S.-R. Kim, L. G. Shaffer // Genet. Testing. — 2002. — Vol. 6. — P. 163-168.

12. Соколова Т. А. Фертильность у женщин с синдромом Шерешевского — Тернера / Т. А. Соколова, Г. Г. Шупта, М. П. Корф // Проблемы репродукции. — 2000. — № 2. — С. 26-29.

13. *Обратная in situ гибридизация ДНК-зондов аномальных хромосом в диагностике хромосомных патологий* / Н. Б. Рубцов, Т. В. Карамышева, В. Г. Матвеева [и др.] // Генетика. — 2001. — Т. 37, № 11. — С. 1545-1552.

14. *Small familial supernumerary ring chromosome 2: FISH characterization and genotype-phenotype correlation* / D. Giardino, P. Finelli, S. Russo [et al.] // Am. J. Med. Genet. — 2002. — Vol. 111, N 3. — P. 319-323.

15. Graf M. D. Molekular approaches for delineating marker chromosomes / M. D. Graf, S. Schwartz // Methods Mol. Biol. — 2002. — Vol. 204. — P. 211-218.

16. *Identification of de novo chromosomal markers and derivatives by spectral karyotyping* / B. R. Haddad, E. Schroeck, J. Merc [et al.] // Hum. Genet. — 1998. — Vol. 103, N 5. — P. 619-625.

17. *Современные методы молекулярной цитогенетики в пре- и постнатальной диагностике хромосомной патологии* / С. Г. Ворсанова, Ю. Б. Юров, И. В. Соловьев [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. — 2000. — № 8. — С. 36-39.

18. *Swedish survey on extra structurally abnormal chromosomes in 39 105 consecutive prenatal diagnoses prevalence and characterization by fluorescence in situ hybridization* / E. Blenow, T. H. Bui, U. Kristoffersson [et al.] // Prenat. Diagn. — 1994. — Vol. 14, N 11. — P. 1019-1028.

19. Барашнев Ю. И. Новые технологии в репродуктивной и перинатальной медицине: потребность, эффективность, риск, этика и право / Ю. И. Барашнев // Российский вестник перинатологии и педиатрии. — 2001. — № 1. — С. 6-11.

