

IX СЪЕЗД РОССИЙСКОГО ОБЩЕСТВА МЕДИЦИНСКИХ ГЕНЕТИКОВ



МАТЕРИАЛЫ СЪЕЗДА

МОСКВА,
УЛ. НОВЫЙ АРБАТ, 36
30 ИЮНЯ, 1–2 ИЮЛЯ 2021 ГОДА

РОССИЙСКОЕ ОБЩЕСТВО
МЕДИЦИНСКИХ ГЕНЕТИКОВ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ИМЕНИ АКАДЕМИКА Н.П. БОЧКОВА»

МАТЕРИАЛЫ СЪЕЗДА*

IX СЪЕЗД РОССИЙСКОГО ОБЩЕСТВА
МЕДИЦИНСКИХ ГЕНЕТИКОВ

Москва, 2021

* Материалы съезда опубликованы в журнале «Медицинская генетика». Воспроизводятся с разрешения редакции журнала.



СОДЕРЖАНИЕ

Прямая и обратная онтогенетика хромосомных болезней	8
Генетический репродуктивный риск у носителей перицентрических инверсий	10
Транскриптомное профилирование нейронов, дифференцированных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток пациентов с реципрокными моногенными CNV в субсегменте 3p26.3	13
Моделирование динамического мозаицизма по кольцевым хромосомам в фибробластах и ИПСК человека	15
Мейотическая коориентация негомологичных хромосом у человека	18
Анализ сегрегации хромосом у носителей реципрокных транслокаций	20
X-сцепленные CNV и асимметричная инактивация X-хромосомы	23
Качество цитогенетических исследований: проблемы и пути улучшения	26
Алгоритм интерпретации клинической значимости хромосомных микродупликаций при недифференцированных формах интеллектуальных расстройств	30
Алгоритм молекулярно-цитогенетической диагностики при обследовании пациентов с кольцевой хромосомой	33
Случай интерстициальной делеции короткого плеча хромосомы 9, ассоциированной с нарушением формирования пола	35
Наследственные формы микроструктурных перестроек хромосом	38
Клиническая и молекулярно-генетическая диагностика случая микроделеции Xp11.4	41
Перицентрическая инверсия inv(9)(p24q32): собственные наблюдения и сравнительный анализ с данными литературы	43
Интерхромосомная инсерция ins(5;4)(q31;q23q31): сегрегация и исходы репродукции у носителя	45
Клиническая и молекулярно-цитогенетическая характеристика двух случаев инвертированной дупликации со смежной терминальной делецией 8p	48
Синдром Клайнфельтера: низкоуровневый и тканевой мозаицизм	50
Использование хромосомного микроматричного анализа в постнатальной диагностике: ретроспективный анализ	52
Дискордантность кариотипов в клетках ворсин хориона по анеуплоидиям аутосом	54
Коррекция эмбрионального кариотипа на преимплантационном этапе развития человека	56
Хромосомные аномалии при кистозных образованиях брюшной полости у плода в первом триместре беременности	59



Клинический случай пренатального выявления трисомии 2	61
Пренатальная диагностика оро-фацио-дигитального синдрома I типа у плода с частичной моносомией Хр22.2	63
Медико-генетическое консультирование пациентов с абберациями половых хромосом у плода	66
Опыт применения сравнительной геномной гибридизации в пренатальной диагностике	69
Изучение хромосомных аномалий у плодов с УЗ-маркерами и пороками развития	71
Хромосомный микроматричный анализ абортивного материала	73
Применение неинвазивного пренатального ДНК-скрининга анеуплоидий при оказании акушерско-гинекологической помощи	75
Неинвазивный пренатальный ДНК-скрининг – возможности и перспективы полногеномного подхода	79
Опыт применения ngs секвенирования для проведения НИПТ на базе ФГНУ «НИИ АГир им. Д.О. Отта»	81
Результаты опроса беременных об их предпочтениях пренатальных тестов с разными характеристиками	84
Тенденции раннего пренатального скрининга хромосомных аномалий и врожденных пороков развития плода в России в 2018 г.	86
Анализ показателя риска трисомии 21 при раннем пренатальном скрининге	90
Программное обеспечение раннего пренатального скрининга врожденных пороков развития у детей	92
Возможности генетической диагностики нарушений репродукции у супружеской пары	94
Современные возможности и подходы к диагностике генетических нарушений фертильности у мужчин	96
Влияние робертсоновских транслокаций на сперматологические показатели	99
Частота анеуплоидии в сперматозоидах у мужчин с нарушением фертильности	101
Частота анеуплоидии в сперматозоидах при нормозооспермии и при бесплодии, связанном с патозооспермией	104
Сравнение вариантов гена CFTR и генотипов у российских пациентов с различными формами патозооспермии и с синдромом CBAVD	106
Прогностические факторы получения сперматозоидов при биопсии тестикулярной ткани у мужчин с тяжелыми формами патозооспермии	110
Комплексное клиническое и генетическое обследование пациентов с транссексуализмом	113

ВЫ МОЖЕТЕ ИЗМЕНИТЬ ЖИЗНЬ ВАШИХ ПАЦИЕНТОВ С ПРЕПАРАТОМ ИЛАРИС®2-7

Иларис® – первый биологический препарат, одобренный в России для лечения болезни Стилла¹

Иларис® применяется в виде подкожных инъекций с удобным режимом дозирования¹

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ¹:

- **Болезнь Стилла (СИЮА и БСВ)**
- **Аутовоспалительные синдромы (FMF, CAPS, TRAPS, HIDS/MKD)**
- **Острый подагрический артрит**

ИЛАРИС®
Ингибитор интерлейкина 1-β (канакинумаб 150 мг)

КРАТКАЯ ИНСТРУКЦИЯ ПО МЕДИЦИНСКОМУ ПРИМЕНЕНИЮ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА ИЛАРИС®

Канакинумаб, лиофилизат для приготовления раствора для подкожного введения, 150 мг, РУ: ЛП-001414. **Примечание:** Перед назначением ознакомьтесь с инструкцией по медицинскому применению препарата, включая инструкцию по приготовлению раствора.

Показания к применению Аутовоспалительные синдромы периодической лихорадки у взрослых и детей в возрасте 2 лет и старше: *крипторин-ассоциированный периодический синдром (CAPS), включая: - семейный холодовой аутовоспалительный синдром (FCAS)/семейная холодовая крапивница (FCU); - синдром Мак-Уэльса (MWS); - младенческое мультисистемное воспалительное заболевание (NMID) хронический младенческий неврологический кожно-артикулярный синдром (CINCA), *Периодический синдром, ассоциированный с рецепторами к фактору некроза опухоли (TRAPS); *Гипер-IgD-синдром/синдром дефицита мевалонат-киназы (HIDS/MKD); *семейная средиземноморская лихорадка (FMF) в монотерапии при наличии противопоказаний к/непереносимости терапии колхицином или в комбинации с колхицином при отсутствии адекватного терапевтического ответа на монотерапию максимально переносимой дозой колхицина. Активная фаза болезни Стилла, в том числе болезни Стилла взрослых (БСВ) и системного ювенильного идиопатического артрита (сЮИА) у пациентов от 2 лет и старше при неадекватном ответе на терапию нестероидными противовоспалительными препаратами (НПВП) с системными кортикостероидными препаратами. Препарат Иларис® можно применять в монотерапии и в комбинации с метотрексатом. Острый подагрический артрит с целью лечения частых острых приступов подагрического артрита и предупреждения развития новых приступов при неэффективности, непереносимости или при наличии противопоказаний к применению нестероидных противовоспалительных препаратов и/или колхицина и при невозможности проведения терапии повторными курсами глюкокортикостероидов. **Способ применения и дозы** • CAPS: 150 мг для пациентов ≥4 лет с массой тела более 40 кг; 2 мг/кг для пациентов <4 лет с массой тела от 15 кг до 40 кг; 4 мг/кг для пациентов с массой тела ≥7,5 кг. Если при стартовой дозе 150 мг или 2 мг/кг не получен удовлетворительный клинический ответ в течение 7 дней, возможно проведение второй инъекции препарата в дозе 150 мг (при массе тела >40 кг) и 2 мг/кг (при массе тела ≥15 кг и <40 кг). В последующем данным пациентам рекомендовано проводить поддерживающую терапию в дозе 300 мг (при массе тела >40 кг) или 4 мг/кг с интервалом 8 недель (при массе тела ≥15 кг и <40 кг). Если удовлетворительный клинический эффект не наблюдается в течение 7 дней после повышения дозы, возможно проведение третьей инъекции препарата Иларис® в дозе 300 мг (при массе тела >40 кг) или 4 мг/кг (при массе тела ≥15 кг и <40 кг). В последующем данным пациентам рекомендовано проводить поддерживающую терапию в дозе 600 мг (при массе тела >40 кг) или 8 мг/кг (при массе тела ≥15 кг и <40 кг) с интервалом 8 недель. Если при стартовой дозе 4 мг/кг удовлетворительный клинический эффект не наблюдается в течение 7 дней после первой инъекции, возможно проведение второй инъекции препарата Иларис® в дозе 4 мг/кг. При достижении в последующем полного клинического ответа данным пациентам рекомендуется поддерживающая терапия препаратом в дозе 8 мг/кг 1 инъекция с интервалом 8 недель. • TRAPS, HIDS/MKD, FMF: 150 мг у пациентов с массой тела <40 кг; 2 мг/кг у пациентов с массой тела ≥40 кг в виде п/к инъекции каждые 4 недели. При отсутствии удовлетворительного клинического ответа в течение 7 дней возможно проведение второй инъекции препарата в дозе 150 мг (при массе тела >40 кг) или 2 мг/кг (при массе тела <40 кг). В последующем данным пациентам рекомендовано проводить поддерживающую терапию в дозе 300 мг или 4 мг/кг каждые 4 недели в виде п/к инъекции. • БСВ и сЮИА: рекомендованная доза у пациентов с массой тела ≥7,5 кг составляет 4 мг/кг (с увеличением до 300 мг) каждые 4 недели в виде п/к инъекции. • Подагрический артрит - рекомендованная доза препарата у взрослых составляет 150 мг, препарат вводят п/к однократно во время обострения. Для достижения максимальной эффективности препарат необходимо вводить как можно раньше после начала приступа подагрического артрита. Пациентам с отсутствием терапевтического ответа на первую инъекцию не следует вводить препарат повторно. У пациентов с положительным ответом на терапию препаратом при необходимости продолжения лечения повторное введение препарата возможно не ранее чем через 12 недель после предыдущей инъекции. **Противопоказания:** • Подтвержденная повышенная чувствительность к действующему веществу или другим компонентам препарата в анамнезе. • Острые тяжелые инфекционные заболевания. • Дети младше 2 лет (безопасность и эффективность для указанной категории пациентов изучены недостаточно). **Особые указания** • Инфекции. С осторожностью применять у пациентов с тяжелыми инфекциями, хроническими инфекциями, рецидивирующими инфекциями в анамнезе или состояниями, предрасполагающими к развитию инфекции. Лечение подагрического артрита, а также пациентов с CAPS, TRAPS, HIDS/FMF, БСВ и сЮИА не следует начинать и продолжать у пациентов с инфекционными заболеваниями в активной фазе. Препарат не рекомендуется применять одновременно с ингибиторами ФНО в связи с увеличением риска развития тяжелых инфекций. • Туберкулез и оппортунистические инфекции: может увеличивать риск реактивации туберкулеза или других оппортунистических инфекций; до, во время и после лечения следует наблюдать пациента с целью выявления активной или латентной туберкулезной инфекции. В связи с возможностью ложноположительного результата кожной туберкулиновой пробы следует рассмотреть возможность проведения альтернативного метода диагностики туберкулезной инфекции у пациентов с положительным результатом кожной туберкулиновой пробы. При выявлении туберкулезной инфекции лечение препаратом Иларис® не следует начинать или продолжать. • Злокачественные новообразования: риск возникновения злокачественных новообразований на фоне применения анти-интерлейкина (ИЛ)-1 неизвестен. • Аллергические реакции: как и другие белки, применяемые в форме инъекций, канакинумаб может вызывать реакции гиперчувствительности, об анафилактических реакциях не сообщалось. • Вакцинация: не следует применять одновременно с живыми вакцинами. • Нейтропения: у пациентов с нейтропенией лечение канакинумабом начинать не следует. Перед применением следует определить число нейтрофилов. • Синдром активации макрофагов у пациентов с БСВ и сЮИА. Синдром активации макрофагов - известное жизнеугрожающее состояние, которое может развиваться у пациентов с ревматическими заболеваниями, в частности у пациентов с болезнью Стилла и требует интенсивной терапии. Врачу следует внимательно относиться к симптомам инфекции или ухудшению состояния пациента, известными как пусковой механизм для синдрома активации макрофагов. По данным клинических исследований препарат, не увеличивает риск развития синдрома активации макрофагов у пациентов с сЮИА, однако сделать окончательные выводы не представляется возможным. Беременность, период грудного вскармливания, пациенты и пациенты с сокращенным репродуктивным потенциалом: применение препарата у беременных пациенток или у пациенток, планирующих беременность, возможно только после тщательной оценки отношения польза-риск. Не рекомендовано применение живых вакцин у новорожденного, подвергнутого действию канакинумаба в итоге, в течение 16 недель после получения матерью последней дозы канакинумаба до родов. Решение о грудном вскармливании на фоне терапии препаратом следует принимать только после тщательной оценки отношения польза-риск. **Побочное действие** Очень часто: инфекции (например, назофарингит, синусит, инфекции верхних дыхательных путей, тонзиллит, ринит, бронхит, инфекции мочевыводящих путей, инфекционные заболевания уха, гастроэнтерит, фарингит, пневмония, кандидозный вульвовагинит, вирусная инфекция, грипп), головокружение/вертиго, боль в верхней части живота, реакции в месте введения препарата. С полным перечнем нежелательных реакций можно ознакомиться в инструкции по медицинскому применению. **Взаимодействия** Субстраты изоферментов CYP450 с узким терапевтическим индексом. Необходим терапевтический контроль эффективности или концентрации действующего вещества при инициировании терапии препаратом Иларис® и при необходимости проводить индивидуальную коррекцию дозы.

*Перед назначением препарата, пожелав, ознакомьтесь с полной инструкцией.

Ссылки: 1. Иларис® (канакинумаб). Инструкция по применению лекарственного препарата Иларис® ЛП-005320-051119 М3 России. Инструкция по применению лекарственного препарата Иларис® ЛП-001414-111119 М3 России. Полная версия инструкции к препарату на сайте Государственного реестра лекарственных средств <https://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx>. Актуально на 15.08.2020; 2. Laskari K, et al. J Rheumatol 2017; 44(1):102-109; 3. Kone-Paut I, et al. Pediatric Rheumatology 2017; 15(Suppl 2):P176; 4. Ozdogan H & Ugurlu S. Expert Rev Clin Immunol 2017; 13(5):393-404; 5. Ruperio N, et al. NEJM 2012; 367(25):2396-2406; 6. Horneff G, et al. PReS 2017; P307; 7. Feist E, et al. Clin Exp Rheumatol. 2018; 36(4):668-675; 8. Shenoi S, et al. Clin Exp Rheumatol 2018; 36(5): 920-928.

Использованные изображения не являются изображениями реальных пациентов. Только для медицинских и фармацевтических работников. Для распространения в местах проведения медицинских или фармацевтических выставок, семинаров, конференций и иных подобных мероприятий. 1363193.ИЛА/ИИ/08/20

2-ая

наиболее частая причина низкого зрения у детей – НЗС¹

1 из 3000

людей живет с НЗС²

>270

генов, ответственных за развитие НЗС, уже выявлено³

90%

пациентов с НЗС предпочли бы сделать генетический анализ^{*,4}

В течение многих лет диагноз НЗС ставился только на основании клинической картины заболевания. Сейчас, благодаря развитию генетики, клинический диагноз – только первый этап на пути постановки окончательного **клинико-генетического диагноза**⁵

Зачем проводить генетический анализ?

- Подтвердить клинический диагноз⁵
- Уточнить прогноз заболевания и спланировать дальнейшую жизнь пациента⁶
- Провести тестирование членов семьи и определить риск наследования⁷
- Принять участие в клинических исследованиях (при соответствии критериям включения)^{1,8}
- Быть готовым к выходу генотерапии^{1,8}
- Получить помощь и поддержку в специализированных пациентских сообществах⁶
- Снять беспокойство и стресс, вызванные неизвестностью⁹

Причинные мутации могут быть выявлены у 60-80% пациентов с НЗС⁵

ГЕНОМ ВИДНЕЕ

Генетическая диагностика Наследственных Заболеваний Сетчатки

Лица на изображении не являются реальными пациентами.

На всей территории РФ компанией ООО «Медконнект» при поддержке ООО «Новartis Фарма» проводится бесплатная **Программа по генетической диагностике пациентов с аутосомно-рецессивным изолированным пигментным ретинитом или врожденным амаврозом Лебера, предположительно вызванными биаллельными мутациями в гене RPE65, и их родственников, и предоставлении информации о заболевании и образе жизни**

1
ЭТАП

Генетический анализ методом NGS (не менее 100 генов, ответственных за развитие НЗС, в т.ч. ген *RPE65*)

2
ЭТАП

Анализ по Сэнгеру для подтверждения найденных на этапе №1 биаллельных мутаций в гене *RPE65*. Только при участии биологических родителей пациента. Возможно участие братьев / сестер пациента



Подробнее:

www.retinagene.ru
retinagene@mdconnect.ru

Горячая линия работает в будние дни
с 10:00 – 19:00 по московскому времени,
звонок бесплатный для всех регионов РФ

☎ 8-800-301-04-65



Участие в программе
предусмотрено только
для врачей. Врач:

- отбирает пациентов
- подает заявку
- направляет биоматериал

НЗС – наследственные заболевания сетчатки. NGS – секвенирование нового поколения

*исследование проведено в Великобритании. **Использованные изображения не являются изображениями реальных пациентов

1. Haddad MA, et al. J Pediatr Ophthalmol Strabismus. 2007;44:232-40. 2. Sahel et al. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2015. 3. RetNet. Summaries of Genes and Loci Causing Retinal Diseases. [Электронный ресурс] <https://sph.uth.edu/retnet/sum-dis.htm#D-graph>. Дата доступа 21.01.2021 4. Willis et al. Br J Ophthalmol 2013;97:1148–1154. 5. Eyenet. Brave New world: Gene therapy for inherited retinal disease. [Электронный ресурс] <https://www.aao.org/Assets/bebfbaef-a092-45b0-9883-c563331546ae/638649294795430000/july-2018-eyenet-supplement-pdf?inline=1>. Дата доступа 10.02.2021. 6. Rare Disease UK. The Rare Reality – an insight into the patient and family experience of rare disease. [Электронный ресурс] <https://www.rare-disease.org.uk/media/2361/patient-experiences-2015.pdf>. [Дата доступа 10.02.2021] 7. Combs et al. European Journal of Human Genetics 2013; 1209-1213. 8. Chung D, et al. Am J Ophthalmol. 2019; 199: 58-70. 9. Nunn. Orphanet Journal of Rare Diseases 2017;12:29

Только для медицинских и фармацевтических работников. Для распространения в местах проведения медицинских или фармацевтических выставок, семинаров, конференций и иных подобных мероприятий. Генетическое тестирование осуществляется лицензированными лабораториями.

228186/Ret/All/05.21/0

ООО «Новartis Фарма», 125315, Москва, Ленинградский пр., д.70.
Тел.: 8 (495) 967 12 70, факс: 8 (495) 969 21 60, www.novartis.ru

NOVARTIS



Прямая и обратная онтогенетика хромосомных болезней

Лебедев И.Н.

Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН 634050, г. Томск, Набережная реки Ушайки, 10

Представлен анализ современных тенденций исследований на стыке молекулярной цитогенетики, вспомогательных репродуктивных технологий и клеточного репрограммирования, направленных на моделирование патогенеза хромосомных заболеваний в динамике индивидуального развития.

Ключевые слова: патогенетика, онтогенетика, хромосомные болезни, клеточное репрограммирование, CNV.

Для цитирования: Лебедев И.Н. Прямая и обратная онтогенетика хромосомных болезней. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 5-6.
DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.5-6

Автор для корреспонденции: Лебедев Игорь Николаевич, **e-mail:** igor.lebedev@medgenetics.ru

Финансирование. Исследования выполнены при поддержке грантов РФФИ (№ 14-15-00772, 16-15-130231), РФФИ (18-015-00437)

Конфликт интересов. Автор декларирует отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Direct and reverse ontogenetics of chromosomal diseases

Lebedev I.N.

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center RAS
Naberejnaya Ushaiki st., 10, Tomsk, 634050, Russia

Current trends in molecular cytogenetics, assisted reproductive technologies and cell reprogramming for the revelation of chromosomal diseases pathogenesis are reviewed.

Key words: pathogenetics, ontogenetics, chromosomal diseases, cell reprogramming, CNV

For citation: Lebedev I.N. Direct and reverse ontogenetics of chromosomal diseases. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 5-6 (In Rus)
DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.5-6

Corresponding author. Lebedev Igor Nikolaevich; **e-mail:** igor.lebedev@medgenetics.ru

Funding. The studies were supported by the Russian Science Foundation (# 14-15-00772, 16-15-130231) and the Russian Foundation for Basic Research (#18-015-00437).

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

Accepted: 12.05.2020

На фоне прогресса в молекулярно-цитогенетической диагностике хромосомных заболеваний, идентификации широкого спектра вариаций числа копий ДНК (CNV) и описания новых хромосомных синдромов, достижений пренатальной и преимплантационной генетической диагностики, вопросы, касающиеся интерпретации клинических эффектов хромосомных aberrаций, во многом остаются дискуссионными. Их решение преимущественно опирается на поиск и сопоставление информации в редких публикациях и специализированных базах данных (DGV, DECIPHER, ECARUCA, ISCA, OMIM) аналогичных клинических наблюдений, использование биоинформационных ресурсов, либо на сведения, полученные в результате исследований модельных организмов. Вместе с тем, остро ощущается отсутствие единой теории, объясняющей закономерности формирования комплексных и плейотропных эффектов хромосомно-

го дисбаланса, проявляющегося нарушениями или задержкой физического и психического развития, интеллектуальными отклонениями, множественными врожденными пороками развития [1].

Традиционно, формирование клинической картины хромосомного заболевания связывают с дисбалансом одновременно по большому числу генов с разнообразными функциями, возникающим вследствие протяженных хромосомных перестроек или анеуплоидий. Однако ситуация не упрощается, когда при перестройке обнаруживается дисбаланс одного гена или даже его отдельного региона. Подобные «моногенные CNV» стирают условные физические границы между хромосомными и генными мутациями, демонстрируя при этом сложные комплексные фенотипы. Вероятно, индукция множественных аномалий развития происходит на самых начальных этапах онтогенеза вследствие нарушений программы индивидуального развития при



наличии хромосомной мутации уже на стадии зиготы, либо немного позднее, при возникновении постзиготических мозаичных *de novo* хромосомных мутаций.

Проверка высказанной гипотезы ограничена у пациентов с хромосомными заболеваниями в силу необратимости онтогенетических процессов. Однако теоретически она становится реализуемой, по крайней мере, в рамках двух стратегий. Первая стратегия или «прямая онтогенетика» может основываться на исследовании морфогенетических процессов в эмбрионах человека с хромосомными аномалиями в рамках циклов искусственного оплодотворения и преимплантационного генетического тестирования. Существующее ограничение, не касаясь этических вопросов, на исследование постимплантационного развития эмбрионов в условиях *in vitro* до этапа гастрюляции и обособления трех зародышевых листков становится возможным преодолеть при использовании новой технологии, моделирующей *in vitro* имплантацию бластоцист человека и развитие в искусственных условиях до 14 дня [2]. Число клеток в составе бластоцисты к этому периоду составляет порядка 1000 и потенциально может быть достаточным, например, для идентификации дифференциально экспрессирующихся генов в полногеномном формате существующими методами «single-cell» анализа. Однако потенциал реализации стратегии «прямой онтогенетики» в настоящее время ограничен исследованиями эффектов только хромосомных анеуплоидий, либо крупных сегментных анеуплоидий. Это определяется разрешающими возможностями (не менее 10 млн п.н.) существующих методов преимплантационного генетического тестирования эмбрионов на анеуплоидии (aCGH или MPS), не дающих возможности тестирования возникающих *de novo* CNV и стоящих за ними микроделеционных и микродупликационных синдромов. Вместе с тем, для унаследованных хромосомных микроделений с низкой пенетрантностью, например, для X-сцепленных CNV при асимметричной X-инактивации у матери, такое тестирование, согласно нашему опыту, на основе комбинаций STR-гаплотипирования и aCGH, становится возможным.

Альтернативная стратегия, «обратная онтогенетика», базируется на клеточном репрограммировании и получении линий индуцированных плюрипотентных

стволовых клеток (ИПСК) от пациентов с хромосомными перестройками, включая «моноклоновые CNV». Несмотря на известные ограничения модели ИПСК (степень и полнота репрограммирования, индукция геномной нестабильности и эпигенетических модификаций при длительном культивировании клеток), именно она в настоящее время становится доминирующей технологией в изучении эффектов генетических изменений на клеточном уровне, или на уровне 3D-органоеидов. Стратегия «обратной онтогенетики» получила в сентябре 2019 г. мощную поддержку в виде публикации протокола дифференцировки бластоцист мыши из плюрипотентных стволовых клеток [3]. Неоспоримым преимуществом ИПСК является возможность получения из них эмбрионидных теллец, содержащих производные трех зародышевых листков, позволяющих изучать развертывание генетической программы онтогенеза в клетках, дифференцирующихся в собственно эмбриональные структуры. Такие исследования уже проведены в линиях ИПСК с трисомией 21 и другими хромосомными перестройками [4,5]. Наконец, стимуляция неограниченной клеточной пролиферации при получении ИПСК открывает перспективы и в ранее недоступном моделировании хромосомной нестабильности, возникающей вследствие присутствия в кариотипе нестабильных хромосомных перестроек (в частности, кольцевых хромосом), или моделирования механизмов возникновения тканеспецифичного хромосомного мозаицизма.

Литература/ References

1. Li Y.R., Glessner J.T., Coe B.P. et al. Rare copy number variants in over 100,000 European ancestry subjects reveal multiple disease associations. *Nat Commun.* 2020; 14(1): 255.
2. Deglincerti A., Croft G.F., Pietila L.N. et al. Self-organization of the *in vitro* attached human embryo. *Nature.* 2016; 533(7602): 251–254.
3. Kime C., Kiyonari H., Ohtsuka S. et al. Induced 2C expression and implantation-competent blastocysts-like cysts from primed pluripotent stem cells. *Stem Cell Reports.* 2019; 13(3): 485–498.
4. Adamo A., Atashpaz S., Germain P-L. et al. 7q11.23 dosage-dependent dysregulation in human pluripotent stem cells affects transcriptional programs in disease-relevant lineages. *Nat Genet.* 2015; 47(2): 132–141.
5. Gonzales P.K., Roberts C.M., Fonte V. et al. Transcriptome analysis of genetically matched human induced pluripotent stem cells disomic or trisomic for chromosome 21. *PLoS One.* 2018; 13(3): e0194581.

Генетический репродуктивный риск у носителей перичентрических инверсий

Шилова Н.В., Тарлычева А.А., Маркова Ж.Г., Миньженкова М.Е., Лепешинская А.О., Магомедова Х.Д.

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова»,
115522, Россия, Москва, ул. Москворечье, д.1

Перичентрические инверсии (ПИ) – это сбалансированные структурные хромосомные перестройки, частота которых в популяции варьирует от 0,12% до 0,7% [1]. Особенностью синапсиса и рекомбинации ПИ в мейозе является формирование инверсионной петли, единичный кроссинговер в которой может приводить к образованию рекомбинантных хромосом с дупликацией/делецией дистального по отношению к инверсии сегмента короткого плеча и делецией/дупликацией дистального сегмента длинного плеча соответственно. Клиническая значимость ПИ определяется риском формирования у носителя гамет (зигот) с хромосомным дисбалансом (ХД), приводящим к раннему спонтанному прерыванию беременности, мертворождению или рождению детей с пороками и/или аномалиями развития. Проведена оценка эмпирической частоты формирования сперматозоидов с рекомбинантными хромосомами, а также риска формирования гамет и выживаемости потенциальных зигот с ХД у четырех мужчин-носителей ПИ.

Ключевые слова: перичентрическая инверсия, рекомбинантные хромосомы, мейотическая сегрегация, FISH сперматозоидов.

Для цитирования: Шилова Н.В., Тарлычева А.А., Маркова Ж.Г., Миньженкова М.Е., Лепешинская А.О., Магомедова Х.Д. Генетический репродуктивный риск у носителей перичентрических инверсий. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 7-9

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.7-9

Автор для корреспонденции: Шилова Надежда Владимировна; **e-mail:** nvsh05@mail.ru

Финансирование: Исследование проведено в рамках темы НИР № 115013070082 «Структурная организация генома при редких хромосомных аномалиях»

Конфликт интересов: Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов

Поступила: 20.05.2020

Genetic reproductive risk in pericentric inversion carriers

Shilova N.V., Tarlycheva A.A., Markova Zh.G., Minzhenkova M.E., Lepeshinskaya A.O., Magomedova H.D.

Research Centre for Medical Genetics
Moskvorechie str., 1, Moscow, 115522, Russia

Pericentric inversion are intrachromosomal balanced structural abnormalities. The frequency in the general population is ranged from about 0.12% to 0.7% [1]. To provide complete synapsis and recombination during meiosis pairing of the normal and inverted chromosomes requires the formation of inversion loop. One crossover within the inversion loop leads to the production of two complementary recombinant chromosomes with both duplicated and deleted chromosome segments including the regions distal to the inversion. The particular clinical relevance of inversion chromosomes is that they can set the stage for the generation of recombinant gametes that may lead to early miscarriages, stillbirth or congenital abnormalities. The estimation of empiric frequencies of recombinant spermatozoa, risk of abnormal gamete formation and potential zygote viability in four pericentric inversion carriers was performed.

Keywords: pericentric inversion, recombinant chromosomes, meiotic segregation, sperm FISH.

For citation: Shilova N.V., Tarlycheva A.A., Markova Zh.G., Minzhenkova M.E., Lepeshinskaya A.O., Magomedova H.D. Genetic reproductive risk in pericentric inversion carriers. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 7-9 (In Rus.).

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.7-9

Corresponding author: Shilova N.V., **e-mail:** nvsh05@mail.ru

Funding: The reported study was funded by research work №1 15013070082 “Structural organization of the genome with rare chromosomal abnormalities”

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest

Accepted: 20.05.2020

Совершенствование методов молекулярно-цитогенетического исследования, расширение арсенала ДНК-зондов для FISH-анализа позволяют

получить эмпирические данные о частоте гамет с различными вариантами патологической мейотической сегрегации у носителей таких редких хромосомных

аномалий как перичентрические инверсии (ПИ), оценить уровень анеуплоидии по отдельным хромосомам вследствие межхромосомного эффекта и установить индивидуальный риск рождения ребенка с хромосомным дисбалансом (ХД) при семейном носительстве хромосомной аномалии.

Цель и задачи – оценить эмпирический риск формирования гамет и жизнеспособных зигот с хромосомным дисбалансом у четырех фенотипически нормальных мужчин-носителей ПИ на основании изучения паттерна мейотической сегрегации, определения частоты гамет с рекомбинантными хромосомами, относительного размера ХД и установления возможного влияния инверсии на мейотическую сегрегацию других хромосом (межхромосомный эффект).

Материал и методы

Образцы эякулята получены от четырех мужчин, у которых при стандартном цитогенетическом исследовании были выявлены ПИ: $inv(4)(p12q21.1)$ (случай 1), $inv(10)(p11.2q21.2)$ (случай 2), $inv(10)(p11.2q22)$ (случай 3), $inv(12)(p11.2q24)$ (случай 4). FISH сперматозоидов проводили с ДНК-зондами на субтеломерные районы короткого и длинного плеч хромосом 4, 10, 12, центромерные районы хромосом 18, X, Y, а также локус-специфичными зондами на хромосомы 13 и 21 по протоколу производителя (Kreatech). Анализ выполняли на эпифлуоресцентном микроскопе «AxioImagerM.1» (CarlZeiss) с использованием компьютерной программы обработки цифровых изображений «Isis» (MetaSystems). Исследовали не менее 1 000 сперматозоидов у каждого пациента (от 1037 до 2406 клеток). Оценку жизнеспособности зигот проводили с использованием соответствующих моделей на основании относительного размера хромосомного дисбаланса в % гаплоидной длины аутосом (%HAL) [2].

Результаты

Размеры инвертированного сегмента в каждом случае варьировали и составляли 17,9%, 24,5%, 34,2% и 67,5% от длины вовлеченной в инверсию хромосомы соответственно. При молекулярно-цитогенетическом исследовании препаратов из эякулята носителей ПИ в случаях 1–3 выявлено значительное преобладание сперматозоидов с комбинацией гибридационных сигналов, соответствующих нормальной или инвертированной хромосоме (от 98,6% до 99,1%). Частота гамет с рекомбинантными хромосомами в случаях 1–3 составила 1,3%, 0,9%, 1,4%

соответственно. В случае 4, когда размер инвертированного сегмента был максимальным, рекомбинантные хромосомы выявлены в 23,1% гамет. Частота двух типов рекомбинантных гамет – $dup(p)/del(q)$, $dup(q)/del(p)$ – во всех случаях достоверно не отличалась от ожидаемого соотношения 1:1 ($p > 0.05$). Все зиготы с рекомбинантными хромосомами у носителя $inv(4)(p12q21.1)$ будут нежизнеспособными ($p12 \rightarrow pter$ – 1,7% HAL, $q21.1 \rightarrow qter$ – 3,6% HAL), что в сочетании с низкой частотой формирования таких гамет (зигот) делает нецелесообразным проведение в дальнейшем пренатальной цитогенетической диагностики. В случаях 2–4 все потенциальные зиготы, сформированные из рекомбинантных гамет, будут жизнеспособными ($10p11.2 \rightarrow pter$ – 1,2% HAL, $10q21.1 \rightarrow qter$ – 2,5% HAL; $10p11.2 \rightarrow pter$ – 1,2% HAL, $10q22 \rightarrow qter$ – 2,1% HAL;

$12p11.2 \rightarrow pter$ – 1,1% HAL, $12q24 \rightarrow qter$ – 0,6% HAL соответственно). Межхромосомный эффект для гомосом и хромосом 13 и 21 отмечен только в случае 3.

Выводы

FISH-анализ клеток эякулята является специфичным методом исследования мейотического поведения ПИ у носителей. Риск формирования гамет с рекомбинантными хромосомами зависит от размера инвертированного сегмента, что согласуется с литературными данными [3]. Нами показано, что при размере инвертированного сегмента от 17,9% до 34,2% длины соответствующей хромосомы риск формирования гамет (зигот) с рекомбинантными хромосомами существует и является низким. Оценка частоты, жизнеспособности потенциальных зигот с ХД, а также предрасположенности к вторичным хромосомными перестройками необходима не только для установления персонализированного риска рождения ребенка с хромосомным заболеванием, но и тактики пренатальной диагностики у носителей ПИ.

Литература

1. Gardner R.J., Amor D.J. Gardner and Sutherland's Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling (5 ed.) Oxford University Press 2018.
2. Шилова Н.В. Аутосомные реципрокные транслокации: пренатальная селекция, сегрегация и оценка эмпирического риска рождения жизнеспособного ребенка с хромосомным дисбалансом при семейном носительстве. *Медицинская генетика*. 2018; 1(187): 41-49.
3. Morel F., Laudier B., Guérif F., Couet M.L., Royère D., Roux C., et al. Meiotic segregation analysis in spermatozoa of pericentric inversion carriers using fluorescence in-situ hybridization. *Hum Reprod*. 2007; 22(1): 136-141.



References

1. Gardner R.J., Amor D.J. Gardner and Sutherland's Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling (5 ed.) Oxford University Press 2018.
2. Shilova N.V. Autosomnyye retsiproknnyye translokatsii: prenatal'naya selektsiya, segregatsiya i otsenka empiricheskogo riska rozhdeniya zhiznesposobnogo rebenka s khromosomnym disbalansom pri semeynom nositel'stve. [Autosomal reciprocal translocations: prenatal selection, segregation and the assessment of the empirical risk of giving birth to a viable child with chromosomal imbalance translocation carriers]. Meditsinskaya genetika [Medcal Genetics]. 2018; 1(187): 41–49. [in Russ.]
3. Morel F., Laudier B., Guérif F., Couet M.L., Royère D., Roux C., et al. Meiotic segregation analysis in spermatozoa of pericentric inversion carriers using fluorescence in-situ hybridization. HumReprod. 2007; 22(1): 136–141.



Транскриптомное профилирование нейронов, дифференцированных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток пациентов с реципрокными моногенными CNV в субсегменте 3p26.3

Лопаткина М.Е.¹, Фишман В.С.², Гридина М.М.², Скрыбин Н.А.¹,
Никитина Т.В.¹, Кашеварова А.А.¹, Назаренко Л.П.¹, Серов О.Л.², Лебедев И.Н.¹

1— Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН 634050, г. Томск, Набережная реки Ушайки, 10

2— ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» 630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 10,

Проведен анализ генной экспрессии в нейронах, дифференцированных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток пациентов с идиопатическими интеллектуальными нарушениями и реципрокными хромосомными мутациями в регионе 3p26.3, затрагивающими единственный ген *CNTN6*. Для нейронов с различным типом хромосомных аберраций была показана глобальная дисрегуляция генной экспрессии. В нейронах с вариациями числа копий гена *CNTN6* была снижена экспрессия генов, продукты которых вовлечены в процессы развития центральной нервной системы.

Ключевые слова: интеллектуальные расстройства, *CNTN6*, дифференциальная экспрессия генов, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки

Для цитирования: Лопаткина М.Е., Фишман В.С., Гридина М.М., Скрыбин Н.А., Никитина Т.В., Кашеварова А.А., Назаренко Л.П., Серов О.Л., Лебедев И.Н. Транскриптомное профилирование нейронов, дифференцированных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток пациентов с реципрокными моногенными CNV в субсегменте 3p26.3. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 10-11.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.10-11

Автор для корреспонденции: Лопаткина Мария Евгеньевна; **e-mail:** maria.lopatkina@medgenetics.ru

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ № 14-15-00772 и РФФИ № 19-315-90105.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Transcriptional profiling of iPSC-derived neurons with reciprocal monogenic CNV in 3p26.3 region

Lopatkina M.E.¹, Fishman V.S.², Gridina M.M.², Skryabin N.A.¹, Nikitina T.V.¹,
Kashevarova A.A.¹, Nazarenko L.P.¹, Serov O.L.², Lebedev I.N.¹

1— Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center RAS Naberejnaya Ushaiki st., 10, Tomsk, 634050, Russia

2— Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Ac. Lavrentieva ave., 10, 630090 Novosibirsk, Russia

The gene expression analysis of iPSC-derived neurons, obtained from patients with idiopathic intellectual disability and reciprocal microdeletion and microduplication in 3p26.3 region affecting the single *CNTN6* gene was performed. The global gene expression dysregulation was demonstrated for cells with *CNTN6* copy number variation. Gene expression in neurons with *CNTN6* copy number changes was downregulated for genes, whose products are involved in the central nervous system development.

Key words: intellectual disability, *CNTN6*, differential gene expression, induced pluripotent stem cells

For citation: Lopatkina M.E., Fishman V.S., Gridina M.M., Skryabin N.A., Nikitina T.V., Kashevarova A.A., Nazarenko L.P., Serov O.L., Lebedev I.N. Transcriptional profiling of iPSC-derived neurons with reciprocal monogenic CNV in 3p26.3 region. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 10-11 (In Rus.).

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.10-11

Corresponding author. Lopatkina Mariya Evgenевна; **e-mail:** maria.lopatkina@medgenetics.ru

Funding. The reported study was funded by RSF (project number 14-15-00772) and RFBR (project number 19-315-90105)

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

Accepted: 20.05.2020

Под интеллектуальными расстройствами понимаются состояния неполного или задержанного умственного развития, характеризующиеся значительным снижением интеллектуальных и адаптивных способностей человека. Наряду с факторами внешней среды, генетическими причинами, в частности, микроструктурными хромосомными мутациями (CNV), обусловлено значительное число случаев интеллектуальных нарушений [1]. Хромосомный микроматричный анализ применяется в качестве рутинного метода диагностики CNV у пациентов с нарушением нервно-психического развития. В ряде случаев в область хромосомной перестройки попадает единственный ген или его отдельные фрагменты [2], однако оценка гено-фенотипических корреляций при этом зачастую осложняется наличием множества неспецифических симптомов у носителей моно- и внутригенных CNV, а также неполной пенетрантностью и вариабельной экспрессивностью хромосомной мутации. Проведенное в нашей лаборатории обследование детей с идиопатическими интеллектуальными нарушениями выявило 3 случая реципрокных хромосомных aberrаций в регионе 3p26.3, затрагивающих единственный ген *CNTN6*, экспрессирующий преимущественно в ЦНС [3]. Для изучения молекулярных эффектов CNV была использована модельная система на основе нейронов, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) пациентов с микроделецией и микродупликацией *CNTN6*, а также линии ИПСК с функциональной нуллисомией *CNTN6*, полученной при введении мутации сдвига рамки считывания в интактный аллель в линии с делецией *CNTN6*.

Материалы и методы

Тотальная РНК, выделенная из нейронов, дифференцированных из ИПСК пациентов и здоровых индивидов, была использована для проведения полнотранскриптомного анализа на микрочипах SurePrint G3 Human Gene Expression 8×60K Microarray Kit. Биоинформационный анализ проведен в программной среде R с использованием пакета limma и уровнем значимости $p \leq 0,05$. Уровни экспрессии в сравниваемых группах отличались минимум в 2 раза. Для функциональной аннотации дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) использовали ресурс WEB-based GENE SeT Analysis Toolkit.

Результаты

Проведено сравнение уровней экспрессии генов в группах «Дупликация *CNTN6* – Норма» (3522

ДЭГ), «Гетерозиготная делеция *CNTN6* – Норма» (1141 ДЭГ), «Нуллисомия *CNTN6* – Норма» (217 ДЭГ), «Нуллисомия и гетерозиготная делеция *CNTN6* – Норма» (1002 ДЭГ), «Нуллисомия *CNTN6* – Гетерозиготная делеция *CNTN6*» (383 ДЭГ), «Гетерозиготная делеция *CNTN6* – Дупликация *CNTN6*» (1675 ДЭГ). Анализ обогащения в нейронах с изменением копийности *CNTN6* (в ряду от нуллисомии до трисомии) показал вовлеченность продуктов ДЭГ в различные биологические процессы (регуляцию системных процессов и сенсорной чувствительности, внутриклеточный транспорт, регуляцию липидного обмена и др.), в том числе и процессы, необходимые для нормального развития центральной нервной системы. В настоящем исследовании было выявлено 402 ДЭГ, снижающих свою экспрессию в клетках с гетерозиготной делецией и дупликацией *CNTN6*. Продукты данных ДЭГ участвуют в процессах формирования нервной системы, генерации и дифференцировки предшественников нейронов, регуляции синаптической передачи и клеточного сигналинга.

Выводы

Результаты полнотранскриптомного анализа указывают на глобальную дисрегуляцию экспрессии генов в нейронах с нарушением копийности единственного гена *CNTN6*. Для исследуемых нейронов с хромосомными мутациями было показано изменение экспрессии непосредственно не вовлеченных в перестройку генов, необходимых для функционирования ЦНС. Изменение экспрессии генов, не принимающих участия в формировании и развитии нервной ткани, может объяснять наличие у пациентов аномалий в других органах и системах, подтверждая ранний плейотропный эффект микроделетий и микродупликаций гена *CNTN6*.

Литература/References

1. Wayhelova M., Smetana J., Vallova V., Hladilkova E., Filkova H., Hanakova M., Vilemova M., Nikolova P., Gromesova B., Gaillyova R., Kuglik P. The clinical benefit of array-based comparative genomic hybridization for detection of copy number variants in Czech children with intellectual disability and developmental delay. *BMC Med Genomics* 2019; 12(1):111.
2. Truty R., Paul J., Kennemer M., Lincoln S.E., Olivares E., Nussbaum R.L., Aradhya S. Prevalence and properties of intragenic copy-number variation in Mendelian disease genes. *Genet. Med.* 2019; 21(1):114–123.
3. Kashevarova A.A., Nazarenko L.P., Schultz-Pedersen S., Skryabin N.A., Salyukova O.A., Chechetkina N.N., Tolmacheva E.N., Rudko A.A., Magini P., Graziano C., Romeo G., Joss S., Tümer Z., Lebedev I.N. Single gene microdeletions and microduplication of 3p26.3 in three unrelated families: *CNTN6* as a new candidate gene for intellectual disability. *Mol. Cytogenet.* 2014; 7(1):97.

Моделирование динамического мозаицизма по кольцевым хромосомам в фибробластах и ИПСК человека

Никитина Т.В.¹, Кашеварова А.А.¹, Гридина М.М.², Хабарова А.А.², Мензоров А.Г.^{2,3}, Яковлева Ю.С.^{1,4}, Васильев С.А.¹, Пристяжнюк И.Е.², Минина Ю.М.², Распопова М.А.⁴, Дериглазов Д.А.⁴, Серов О.Л.^{2,3}, Лебедев И.Н.¹

1 — Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, Томск 634050, г. Томск, Набережная реки Ушайки, 10

2 — ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН 630090, Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 10.

3 — Новосибирский государственный университет 630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 1.

4 — Сибирский государственный медицинский университет 634050, Томск, Московский тракт, 2

Митотическая нестабильность кольцевых хромосом может приводить к появлению клеточных клонов с различной генетической структурой. В качестве модели нестабильности кольцевых хромосом в митозе мы использовали фибробласты от пациентов с r(8), r(13), r(18) и r(22) и полученные из них индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК). Линии ИПСК с r(22) имели относительно стабильный кариотип на протяжении десятков (до 60) пассажей и сохраняли неизменную структуру кольцевой хромосомы. Кариотип линий ИПСК с r(8) и r(18) на ранних пассажах стабильный, планируется его изучение на поздних пассажах. Наибольшее разнообразие кариотипа выявлено в линиях ИПСК с r(13), в которых наблюдали различные перестройки и выраженную клеточную гетерогенность. Определение факторов, влияющих на митотическую стабильность кольцевых хромосом, может иметь значение для консультирования пациентов.

Ключевые слова: кольцевые хромосомы, ИПСК, мозаицизм

Для цитирования: Никитина Т.В., Кашеварова А.А., Гридина М.М., Хабарова А.А., Мензоров А.Г., Яковлева Ю.С., Васильев С.А., Пристяжнюк И.Е., Минина Ю.М., Распопова М.А., Дериглазов Д.А., Серов О.Л., Лебедев И.Н. Моделирование динамического мозаицизма по кольцевым хромосомам в фибробластах и ИПСК человека. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 12-13

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.12-13

Автор для корреспонденции: Никитина Т.В.; **e-mail:** t.nikitina@medgenetics.ru

Финансирование. Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 16-15-10231.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Modeling of dynamic mosaicism on ring chromosomes in human fibroblasts and iPSCs

Nikitina T.V.¹, Kashevarova A.A.¹, Gridina M.M.², Khabarova A.A.², Menzorov A.G.^{2,3}, Yakovleva Yu.S.^{1,4}, Vasilyev S.A.¹, Pristyazhnyuk I.E.², Minina Yu.M.², Raspopova M.A.⁴, Deriglazov D.A.⁴, Serov O.L.^{2,3}, Lebedev I.N.¹

1 — Research Institute of Medical Genetics, Tomsk NRCM Naberejnaya Ushaiki st., 10, Tomsk, 634050, Russia

2 — Institute of Cytology and Genetics, SB RAS Prospekt Lavrentyeva 10, Novosibirsk, 630090, Russia

3 — Novosibirsk State University Pirogova st. 1, Novosibirsk, 630090, Russia

4 — Siberian State Medical University Moskovsky trakt 2, Tomsk, 634055, Russia

Mitotic instability of ring chromosomes can lead to the appearance of cell clones with different genetic structure. iPSCs from fibroblasts of patients with r(8), r(13), r(18), and r(22) were used as a model of ring chromosomes mitotic behavior. Karyotypes of iPSC lines with r(8) and r(18) have so far been evaluated only in the early passages, lines with r(22) have maintained a relatively stable karyotype up to 60 passages. The occurrence of rearrangements and cellular heterogeneity was found characteristic for r(13) iPSCs. The determination of factors affecting the ring chromosomes mitotic stability would be beneficial for the patient's prognosis.

Key words: ring chromosome, iPSC, mosaicism.

For citation: Nikitina T.V., Kashevarova A.A., Gridina M.M., Khabarova A.A., Menzorov A.G., Yakovleva Yu.S., Vasilyev S.A., Pristyazhnyuk I.E., Minina Yu.M., Raspopova M.A., Deriglazov D.A., Serov O.L., Lebedev I.N. Modeling of dynamic mosaicism on ring chromosomes in human fibroblasts and iPSCs. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 12-13 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.12-13

Corresponding author Nikitina T.V.; e-mail: t.nikitina@medgenetics.ru

Funding. Study was supported by Russian Science Foundation, grant 16-15-10231

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

Accepted: 20.05.2020

Кольцевые хромосомы (КХ) – это aberrации, встречающиеся с частотой 1:50000 новорожденных. При прохождении митоза возможно возникновение вторичных перестроек, ведущих к частичной или полной потере/амплификации материала aberrантной хромосомы. Высокоразрешающие методы обнаруживают в некоторых случаях цитогеномную гетерогенность КХ. Предполагают, что КХ, образовавшиеся в результате стартового события разрыва и слияния концов обоих плеч, затем могут проходить через циклы разрыва-слияния-моста (breakage-fusion-bridge, VFB), вызывающие появление дополнительного сегментного дисбаланса в КХ или даже хромотриписа с формированием кольца со случайной перетасовкой нескольких хромосомных сегментов [1, 2].

В качестве модели для анализа *in vitro* мозаицизма КХ и возникновения хромосомной или сегментной анеуплоидии мы использовали фибробласты от пациентов с КХ 8, 13, 18 и 22 и полученные из них линии ИПСК. Все линии клеток демонстрировали экспрессию маркеров плюрипотентности и способность к дифференцировке в производные трех зародышевых листков. Кариотип клеток устанавливали при стандартном GTG-анализе и с использованием FISH с центромерными и субтеломерными зондами. Молекулярно-генетическую характеристику проводили методом aCGH (SurePrint G3 Human CGH+SNP 4×180K, Agilent Technologies) В первичных культурах фибробластов наблюдали отличия в митотической стабильности кольцевых хромосом: r(18) стабильно сохранялась, r(22) отставала с формированием моносомии в 12–43% клеток, r(13) или отставала, или фрагментировалась в 38–50% клеток, r(8) демонстрировала отставание, амплификацию, а на поздних пассажах образовала транслокационный вариант 45,XУ,t(7:8)(p21:p22), получивший пролиферативное преимущество. В двух линиях ИПСК с r(22) клетки с КХ составляли абсолютное большинство (68–97%) на протяжении 60 и 38 пассажей, микроматричный анализ подтвердил сохранение генетического материала r(22) в ИПСК в неизменном виде. Кариотипы линий ИПСК с r(8) и r(18) пока оценены только на ранних пассажах: в трех линиях с r(18) на пассаже 4 зарегистрированы 70–88% клеток с КХ и 6–30% моносомных; в четырех линиях с r(8) на пассаже 6 94–100% клеток имели КХ.

Четыре линии ИПСК с r(13) отличались разнообразием кариотипов. Две из них состояли преимущественно из клеток с кариотипом 46,XУ,r(13) (65–98%), в двух других преобладали клетки с кариотипами 46,XУ,-13,+mar

и 45,XУ,-13. Во всех линиях обнаружены новые микроструктурные варианты, отсутствовавшие в исходных фибробластах. Интересно, что в одной из линий в окружении регионов делеций на хромосоме 13 выявлен участок размером 5,333 млн п.н. с нормальной копийностью. Вероятно, в результате деградации КХ 13 в ходе клеточных делений образовался центромеросодержащий фрагмент, в котором повторно происходили перестройки с образованием нового кольца. Таким образом, вследствие нестабильности КХ 13 в изначально изогенных линиях ИПСК происходили процессы, приводящие к появлению различных перестроек и выраженной клеточной гетерогенности. Описанное явление перекликается с находками *in vivo*: хотя одновременное присутствие мозаицизма по r(13) с маркерной хромосомой 13 весьма редко, описан случай пренатальной диагностики, при котором в культивируемых амниоцитах и лейкоцитах пуповинной крови наблюдались моно- и дицентрические КХ 13, а в плаценте выявлялась только маркерная хромосома – дериват 13 [5]. Это фетоплацентарное различие в хромосомных наборах предполагает тканеспецифичную микроэволюцию кариотипа, и различные хромосомные аномалии могут быть объяснены разным статусом нестабильности КХ в разных тканях. Однако вопрос о том, какие именно механизмы участвуют в реализации этих различий нуждается в дальнейшем изучении.

Таким образом, мы впервые оценили структурную стабильность КХ в ИПСК и обнаружили различные особенности их «митотического поведения». Определение факторов, влияющих на митотическую стабильность КХ, может иметь значение для консультирования пациентов и прогнозирования течения хромосомного заболевания.

Литература/ References

1. Zhang C.Z., Spektor A., Cornils H. et al. Chromothripsis from DNA damage in micronuclei // *Nature*. 2015;522:179–84.
2. Leibowitz M.L., Chang C.Z., Pellman D. Chromothripsis: a new mechanism for rapid karyotype evolution // *Annu Rev Genet*. 2015;49:183–211.
3. Nikitina T.V., Menzorov A.G., Kashevarova A.A. et al. Generation of two iPSC lines (IMGTi001-A and IMGTi001-B) from human skin fibroblasts with ring chromosome 22 // *Stem Cell Res*. 2018a;31: 244–248.
4. Nikitina T.V., Menzorov A.G., Kashevarova A.A. et al. Induced pluripotent stem cell line, IMGTi003-A, derived from skin fibroblasts of an intellectually disabled patient with ring chromosome 13 // *Stem Cell Research*. 2018b;33:260–264.
5. Chen C.-P., Tsai C.-H., Chern S.-R. et al. Prenatal diagnosis and molecular cytogenetic characterization of mosaic ring chromosome 13 // *Gene*. 2013;529:163–168.

ДЕФИЦИТ ДЕКАРБОКСИЛАЗЫ АРОМАТИЧЕСКИХ L-АМИНОКИСЛОТ (AADC):

Редкое наследственное заболевание, характеризующееся нарушением синтеза нейромедиаторов¹⁻³



Дефицит AADC является врожденным нарушением биосинтеза нейромедиаторов, возникающим в результате мутации гена *DDC*¹⁻³



Дефицит AADC может наблюдаться у пациентов разных полов, этнической и географической принадлежности²



В результате мутации гена *DDC* недостаточность AADC приводит к тяжелому комбинированному дефициту дофамина, серотонина и других катехоламинов (норадреналина и адреналина)²⁻³



Пациенты с тяжелыми формами дефицита AADC могут никогда не достигнуть нормальных показателей физического и умственного развития¹⁻³



Основные клинические симптомы: гипотония, двигательные расстройства, окулогирные кризы и окуломоторные нарушения, птоз, задержка развития и вегетативные симптомы, такие как: гипергидроз, перепады температуры тела, постоянная заложенность носа. Возможно также наличие судорожных припадков и пароксизмов²⁻³



Из-за сходства клинической картины с детским церебральным параличом, эпилепсией и нервными мышечными расстройствами пациенты с дефицитом AADC часто не диагностируются или диагностируются неверно²

ПОДОЗРЕВАЕТЕ ДЕФИЦИТ ААДС У ВАШЕГО ПАЦИЕНТА?

Позвоните по номеру Горячей линии **8 800 100 17 60** и закажите бесплатное лабораторное исследование*. Начните действовать сейчас!

*Горячая линия предназначена только для специалистов здравоохранения.

Время работы Горячей линии: в рабочие дни с 9:00 до 18:00 по московскому времени.

Ссылки: 1. Manegold C, Hoffmann GF, Degen I, et al. Aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency: clinical features, drug therapy and follow-up. *J Inherit Metab Dis.* 2009;32(3):371-380. 2. Wassenberg T, Molero-Luis M, Jeltsch K, et al. Consensus guideline for the diagnosis and treatment of aromatic L-amino acid decarboxylase (AADC) deficiency. *Orphanet J Rare Dis.* 2017;12(1):12. doi: 10.1186/s13023-016-0522-z. 3. Brun L, Ngu LH, Keng WT, et al. Clinical and biochemical features of aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency. *Neurology.* 2010;75(1):64-71.

Логотип PTC является торговой маркой PTC Therapeutics/ © 2020 PTC Therapeutics. Все права защищены. RU-CORP-0206 123112, Москва, Пресненская Набережная, 10. Материал предназначен только для специалистов здравоохранения.



Мейотическая коориентация негомологичных хромосом у человека

Ковалева Н.В.

Академия Молекулярной Медицины
191144 Санкт-Петербург, Мытнинская ул., д. 12/44

Концепция мейотической коориентации негомологичных хромосом (МКНХ) как модели мейоза, экспериментально подтвержденная на *Drosophila*, была предложена в 1971 г. для объяснения интерхромосомного эффекта у человека, но с тех пор не получила достаточных доказательств. Представленные в настоящей статье данные «неканонического» поведения половых хромосом в определенных ситуациях являются основанием для признания существования этого явления в сперматогенезе человека.

Ключевые слова: сперматогенез, половые хромосомы, трисомия 21, соотношение полов, негомологичная мейотическая ко-ориентация

Для цитирования: Ковалева Н.В. Мейотическая коориентация негомологичных хромосом у человека. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 14-15.
DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.14-15

Автор для корреспонденции: Ковалева Наталья Виталиевна; e-mail: kovalevanv2007@yandex.ru

Финансирование: Нет

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Meiotic nonhomologous coorientation in man

Kovaleva N.V.

Academy of Molecular Medicine
Mytninskaya St., 12/44, 191144 St. Petersburg, Russia

The concept of meiotic co-orientation of non-homologous chromosomes as a model of meiosis, experimentally confirmed in *Drosophila*, was proposed in 1971 to explain the interchromosomal effect in humans, but has not received sufficient evidence since. The data of the “non-canonical” behavior of sex chromosomes presented in this article are the basis for recognizing the existence of this phenomenon in human spermatogenesis.

Key words: spermatogenesis, gonosomes, trisome 21, sex ratio, non-homologous meiotic co-orientation

For citation: Kovaleva N.V. Meiotic nonhomologous coorientation in man. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 14-15 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.14-15

Corresponding author: Natalia V. Kovaleva; Academy of Molecular Medicine, e-mail: kovalevanv2007@yandex.ru

Funding: None

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

Accepted: 20.05.2020

Модель мейоза, объясняющая ассоциацию структурных перестроек хромосом и анеуплоидию по другим хромосомам, доказанная для *Drosophila*, была постулирована применительно к человеку в 1971 г. [1]. Модель Grell предполагала, что нарушение мейотического спаривания гетерологов является условием последующей ко-ориентации. Известно, что в сперматогенезе асинопсис наиболее характерен для малых акроцентриков и X хромосомы. Длительное время эта концепция не была востребована вследствие отсутствия доказательств, и лишь спустя 20 лет была привлечена для объяснения преваляирования индивидов мужского пола среди носителей

трисомии 21 (Т21) как результата мейотической ко-ориентации хромосом X и 21 в сперматогенезе человека. Обсуждались два механизма, объясняющих совместную сегрегацию дисомии хромосомы 21 и Y хромосомы. Ко-ориентация хромосомы X с хромосомой 21 может привести к образованию спектра гамет: 23,X; 23,Y; 23,-X/Y,+21; 22,XY,-21; 22,-X/Y; 22,X,-21; 24,Y,+21; 24,XY [2]. При ко-ориентации X хромосомы с обоими гомологами хромосомы 21 образуются только аномальные гаметы: 22,X,-21; 23,XY,-21; 24,Y,+21; 23,-X/Y,+21 [3]. В дальнейшем выяснилось, что преваляирование носителей мужского пола характерно также и для индивидов, унаследовавших дополнительную

хромосому от матерей-носителей гонадного мозаицизма (ГМ) по T21. Концепции мейотической коориентации негомолотичных хромосом (МКНХ) потребовались дополнительные доказательства, и они были найдены.

Материал и методы

Опубликованные данные (в том числе собственные) о 187 семьях носителей сбалансированных перестроек, не вовлекающих хромосому 21, имеющих потомство с T21; 84 семьях носителей гонадного мозаицизма (ГМ) по T21 и 45 семьях носителей гомологичной транслокации/изохромосомы 21, der(21;21)(q10;q10), с известным полом носителей и их потомков. Исследовано соотношение полов (СП) как у аномального, так и у нормального потомства. Для оценки результатов мета-анализа использованы стандартные статистические методы.

Результаты и обсуждение

СП среди потомков с T21, унаследовавших и не унаследовавших материнскую сбалансированную перестройку, практически не различается, составляя 1,3 (40М/30Ж) и 1,5 (18М/12Ж), соответственно. Однако среди потомков, унаследовавших и не унаследовавших отцовскую перестройку, наблюдается поразительное различие в СП: 2,3 (47М/20Ж) и 0,25 (4М/16Ж), различие статистически значимо, $p = 0,0002$. Это различие объясняется ко-ориентацией X-хромосомы и сбалансированной перестройки в сперматогенезе, при этом перестройка не попадает в гаметы с X-хромосомой, в результате чего среди потомков, не унаследовавших перестройку, преобладают индивиды женского пола. Соответственно, среди потомков, унаследовавших перестройку, преобладают индивиды мужского пола. СП среди трисомных потомков матерей с ГМ по T21 составляет 1,5 (56М/38Ж), среди потомков отцов с ГМ – 1,8 (20М/11Ж). Существенные различия между этими группами состоят в СП у потомков с нормальным кариотипом: 1,2 (18М/15Ж) и 0,2 (2М/12Ж), соответственно; различие статистически не значимо из-за малых объемов выборок. Акушерский анамнез изучен в 46 семьях женщин-носителей ГМ и в 17 семьях мужчин-носителей ГМ. Примечательны различия в исходах беременностей, предшествующих рождению/зачатию пробанда с T21 у матерей-носителей ГМ и у партнеров отцов-носителей ГМ. В первой группе на семью в среднем приходилось 4,2 (192/46) беременности (исключая искусственные

аборты), во второй – 2,5 (42/17), $p = 0,0461$. Доля семей, имевших спонтанные аборты и мертворождения, составляет 50% (23/46) и 11% (2/17), соответственно, различие статистически значимо, $p = 0,0138$. Соотношение живорожденных и пренатально диагностированных индивидов с T21 и индивидов с нормальным кариотипом составляет 2,2 (96/44) и 1,4 (22/12), соответственно. Смещение СП у нормального потомства в направлении преобладания индивидов женского пола и более благоприятные исходы беременности в семьях мужчин-носителей ГМ могут трактоваться в пользу МКНХ хромосом X и 21 в трисомных клетках. Полученные данные имеют определенное клиническое значение для прогноза потомства при пренатальном диагнозе мозаицизма по T21, поскольку, во-первых, носители мозаицизма мужского пола значительно реже обнаруживаются среди фенотипически нормальных фертильных индивидов, по сравнению с носителями женского пола, во-вторых, прогноз потомства для них более благоприятен. Наиболее демонстративные данные, подтверждающие концепцию МКНХ, получены при анализе СП потомства носителей der(21;21)(q10;q10). Среди потомков 33 матерей-носителей der(21;21)(q10;q10) наблюдается некоторое преобладание индивидов мужского пола, типичное для болезни Дауна, СП = 1,3 (38М/29Ж). Среди потомков 12 отцов-носителей der(21;21)(q10;q10) обнаружены 17 носителей транслокационной трисомии мужского пола и 2 – женского пола, СП = 8,5, различия статистически значимы, $p = 0,0186$. При такой перестройке хромосома 21 не имеет гомолога для спаривания и является естественным партнером для ко-ориентации с асинаптированной X хромосомой, что и приводит к преимущественной ко-сегрегации dup(21q) с Y-хромосомой

Литература

1. Grell R. Distributive pairing in man? *Annals of Genetics* 1971, 14(3): 165–171.
2. Ковалева Н.В. Распределительное спаривание и анеуплоидия у человека. *Генетика* 1992, 28(10):5–15.
3. Petersen MB, et al. Paternal nondisjunction in trisomy 21: Excess of Male Patients. *Human Molecular Genetics* 1993 2(10): 1691–1695.

References

1. Grell R. Distributive pairing in man? *Annals of Genetics* 1971, 14(3): 165–171.
2. Kovaleva N.V. Raspredelitel'noye sparivaniye i aneuploidiya u cheloveka [Distributive pairing of chromosomes and aneuploidy in man]. *Genetika [Genetics]* 1992, 28(10): 5–15 (In Russ.).
3. Petersen MB, et al. Paternal nondisjunction in trisomy 21: Excess of Male Patients. *Human Molecular Genetics* 1993 2(10): 1691–1695.

Анализ сегрегации хромосом у носителей реципрокных транслокаций

Тонян З.Н.¹, Пуппо И.Л.^{2,3}, Сайфитдинова А.Ф.^{3,4}, Логинова Ю. А.⁵, Чиряева О. Г.¹,
Кинунен А. А.^{3,6}, Пастухова Ю.Р.³, Леонтьева О.А.³, Бичева Н. К.³

- 1 — ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта»
199034, г. Санкт-Петербург, Менделеевская линия, 3
- 2 — ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова Минздрава России»
197341, г. Санкт-Петербург, ул. Акуратова, 2
- 3 — АО «Международный центр репродуктивной медицины»
197371, г. Санкт-Петербург, Комендантский проспект, 53 к.1, лит. А.
- 4 — ФГБОУ ВО «Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена»
191186, г. Санкт-Петербург, наб. реки Мойки, 48
- 5 — DiaCarta, Inc,
USA, 2600 Hilltop Drive, Richmond, CA 94806
- 6 — СПб ГКУЗ Диагностический центр (медико-генетический)
194044, г. Санкт-Петербург, ул. Тобольская, 5

Аутосомные реципрокные транслокации (АРТ) приводят к повышенному риску образования несбалансированных гамет вследствие патологической сегрегации хромосом в мейозе у носителей. В настоящей статье приведены результаты анализа типов сегрегации для 26 АРТ, а также определены теоретически возможные варианты сегрегации хромосом. В 73% случаев у носителей АРТ в более, чем 50% бластомеров наблюдалось совпадение теоретического и детектируемого типов сегрегации. Полученные данные можно использовать для оптимизации персонализированного медико-генетического консультирования семей, где один из супругов является носителем АРТ, и имеющих репродуктивные проблемы, высокий риск неразвивающейся беременности и/или рождения ребенка с хромосомной патологией.

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

Для цитирования: Тонян З.Н., Пуппо И.Л., Сайфитдинова А.Ф., Логинова Ю.А., Чиряева О. Г., Кинунен А. А., Пастухова Ю.Р., Леонтьева О.А., Бичева Н. К. Анализ сегрегации хромосом у носителей реципрокных транслокаций. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 16-18.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.16-18

Автор для корреспонденции: Тонян Зиравард Николаевна; e-mail: ziravard@yandex.ru

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках темы фундаментальных научных исследований 2019-2021 г. (AAAA-A19-119021290033-1).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Analysis of chromosome segregation in reciprocal translocation carriers

Tonyan Z.N.¹, Puppo I.L.^{2,3}, Saifitdinova A.F.^{3,4}, Loginova Y.A.⁵, Chiryayeva O.G.¹,
Kinunen A.A.^{3,6}, Pastuhova Y.R.³, Leontyeva O.A.³, Bichevaya N.K.³

- 1 — D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology
Mendeleev line, 3, 199034, St-Petersburg, Russia
- 2 — Almazov National Medical Research Centre
Akuratov st. 2, 197341 Saint-Petersburg, Russia
- 3 — International Centre for Reproductive Medicine
Komendantskiy prospekt, 53 k.1, lit. A, 197371 Saint-Petersburg, Russia
- 4 — The Herzen State Pedagogical University of Russia, Saint-Petersburg
Naberezhnaya reki Moyki, 48, 191186, Sankt-Petersburg, Russia
- 5 — DiaCarta, Inc,
USA, 2600 Hilltop Drive, Richmond, CA 94806
- 6 — Saint Petersburg Centre for Medical Genetics
Tobolskaya st., 5, 194044, St-Petersburg, Russia

Autosomal reciprocal translocations (ART) lead to an increased risk of imbalanced gametes formation due to pathological meiotic segregation. Segregation type was analyzed and theoretical segregation pattern was determined in 26 cleavage stage embryos in

this article. A coincidence of theoretical and detectable segregation types was observed in more than 50 % of blastomeres in 73 % of cases. The data obtained may be used for personalized genetic counseling in families with high risks of recurrent spontaneous abortions, infertility or children with birth defects due to ART.

Key words: autosomal reciprocal translocations, preimplantation genetic testing, fluorescence in situ hybridization

For citation: Tonyan Z.N., Puppo I.L., Saifitdinova A.F., Loginova Y.A., Chiryayeva O.G., Kinunen A.A., Pastuhova Y.R., Leontyeva O.A., Bichevaya N.K. Analysis of chromosome segregation in reciprocal translocation carriers. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 16-18 (In Rus).

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.16-18

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

Funding. This work was financially supported by a Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of the Basic Research Program in 2019–2021 (Program Number AAAA-A19-119021290033-1).

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

Accepted: 20.05.2020

Введение

Аутосомные реципрокные транслокации (АРТ) встречаются с частотой 1:500 в популяции [1]. Носители АРТ имеют нормальный фенотип, однако риск образования генетически несбалансированных гамет у них повышен вследствие формирования дериватными хромосомами и их нормальными гомологами в профазе мейоза I квадрилентов. Различают несколько вариантов сегрегации хромосом квадрилента: сегрегация 3:1, 4:0 и 2:2, включающая альтернативный, совместный-1 и совместный-2 типы. Из 16 вариантов гамет, формирующихся у носителей реципрокных транслокаций, только два, образующиеся при альтернативном типе сегрегации, формируют при оплодотворении зиготу с нормальным или сбалансированным кариотипом [1]. В исследованиях, основанных на результатах анализа данных пренатальной диагностики, показано, что соотношение длин транслоцируемых (ТС) и центрических сегментов (ЦС), локализация точек разрывов, вовлечение в транслокацию коротких плеч акроцентрических хромосом и районов конститутивного гетерохроматина, а также пол носителя АРТ являются основными факторами, определяющими наиболее вероятный механизм сегрегации хромосом квадрилента [2–4]. Анализ на доимплантационном этапе позволяет выявлять все возможные образующиеся типы патологической сегрегации, частоту их образования, риски формирования способных к имплантации эмбрионов с несбалансированным кариотипом. В связи с тем, что подавляющее число АРТ в конститутивном кариотипе не являются рекуррентными, для пар с носительством АРТ в кариотипе одного или обоих супругов проводится преимплантационное генетическое тестирование структурных перестроек (ПГТ-СП).

Цель: оценка типов сегрегации и характеристика преимущественного теоретически вероятного типа

сегрегации хромосом по соотношению длин ТС и ЦС у носителей АРТ в циклах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) с ПГТ-СП для оптимизации персонализированного медико-генетического консультирования семей с АРТ в кариотипе перед проведением процедур ЭКО.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужил 271 бластомер эмбрионов третьего дня развития, полученных в Международном Центре Репродуктивной Медицины при биопсии в 35 циклах ЭКО у 26 супружеских пар, в которых один из партнеров является носителем АРТ по результатам кариотипирования, и подписавших добровольное информированное согласие на проведение исследования. Кариотипирование супругов было проведено согласно стандартной методике. Для уточнения точек разрыва на хромосомах и подтверждения хромосом-специфичности используемых зондов на препаратах метафазных хромосом из лимфоцитов периферической крови применялся метод флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) с использованием ДНК зондов, специфичных к ТС, ЦС, участкам, содержащим точку разрыва и фланкирующим её. На третий день культивирования эмбрионов выполняли ПГТ-СП методом FISH. Результаты гибридизации анализировали с использованием люминесцентного микроскопа AxioImager A1, Carl Zeiss. Для получения и анализа изображения использовалась программа AxioVision. Варианты сегрегации хромосом, вовлеченных в образование транслокации, анализировали для бластомеров по комбинации флуоресцентных сигналов ТС и ЦС с использованием алгоритма, предложенного в работе [5]. Размеры ТС, ЦС и целых хромосом вычисляли с использованием геномного браузера UCSC (assembly 38) в миллионах пар нуклеотидов [4].

Результаты

В исследованной группе супружеских пар число носителей АРТ мужского и женского пола оказалось одинаковым. Средний возраст составил 34 ± 4 и 33 ± 4 года соответственно. При анализе типов сегрегации на blastomeres альтернативная сегрегация и сегрегация 3:1 наблюдались с одинаковой частотой (28% и 27%, соответственно). Совместный-1 тип сегрегации выявлялся в 21%, совместный-2 – со сравнительно меньшей частотой в 12% случаев. Важно отметить, что в 1% наблюдалась сегрегация 4:0, которая не была зарегистрирована в исследованиях, проведенных на пренатальном этапе развития эмбриона [4], что, возможно, связано с большой величиной хромосомного дисбаланса у образующихся при этом типе сегрегации эмбрионов и их элиминацией до или сразу после имплантации. 11% blastomeres исключались из дальнейшего анализа вследствие мозаицизма или нарушения ploidy. Преимущественная детекция патологического типа сегрегации при ПГТ-СП может объясняться наличием пренатальной селекции в пользу эмбрионов с нормальным или сбалансированным кариотипом. Однако следует учитывать, что частота образования сбалансированных гамет во многом зависит от таких уникальных характеристик квадрилента, требующих дальнейшего изучения, как степень асимметрии и терминальность точек разрыва [3]. На основании данных о соотношении длин ТС и ЦС, вовлечении в транслокацию коротких плеч акроцентрических хромосом и районов конститутивного гетерохроматина определялся наиболее вероятный тип патологической сегрегации для каждой рассмотренной транслокации. В 23% рассматриваемых квадрилентов ожидался совместный-1 тип сегрегации хромосом, в 19,2% – 3:1, в 3,8% совместный-2, оставшиеся 54% квадрилентов обладали характеристиками, предрасполагающими как к сегрегации 3:1, так и к совместному-1 типу. В 73% случаев у носителей АРТ в более, чем 50% blastomeres наблюдалось совпадение теоретического и детектируемого типов сегрегации. Использование метода ПГТ-СП позволило в 17 циклах отобрать 19 эмбрионов, сбалансированных по вовлеченным в транслокации хромосомам с euploid набором хромосом, и произвести их перенос. Частота наступления клинической беременности на перенос составила 31,5%. Частота неразвивающейся беременности составила 10,5%, что может определяться ошибками сегрегации аутосом, не вовлеченных в образование АРТ, характерными для их носителей.

Заключение

Полученные данные свидетельствуют, что предложенный анализ вероятности типов сегрегации может использоваться в практике персонализированного медико-генетического консультирования семей с носительством АРТ для определения потенциальной эффективности результативности процедур ЭКО перед вступлением в цикл. Развитие технологий ПГТ-СП, позволяющих повысить разрешение метода за счет использования гибридизации на микроматрицах и методов полногеномного секвенирования, позволит увеличить точность выявления структурных и численных нарушений хромосом. Сочетание ЭКО и ПГТ-СП может повысить шанс на рождение здорового ребенка у носителей АРТ.

Авторы выражают признательность генеральному директору АО «МЦРМ» д.м.н. В.С. Корсаку.

Литература

1. Gardner R. J. M., Amor D. J. Chromosome abnormalities and genetic counseling. 2018;134–211.
2. Jalbert P, Sele B, Jalbert H. Reciprocal translocations: a way to predict the mode of imbalanced segregation by pachytene-diagram drawing. A study of 151 human translocations. Hum Genet. 1980;55(2):209–222.
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. Jalbert P, Sele B, Jalbert H. Reciprocal translocations: a way to predict the mode of imbalanced segregation by pachytene-diagram drawing. A study of 151 human translocations. Hum Genet. 1980;55(2):209–222.
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 [Improving approaches to the diagnosis of chromosomal abnormalities in personalized medicine]. Dissertatsiya na soiskaniye uchenoy stepeni doktora meditsinskikh nauk [Thesis for a Doctor of Medical Science] 2016. 291p. (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.

X-сцепленные CNV и асимметричная инактивация X-хромосомы

Фонова Е.А.¹, Толмачева Е.Н.¹, Кашеварова А.А.¹, Лопаткина М.Е.¹, Павлова К.А.², Лебедев И.Н.¹

1 — Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, Томск 634050, г. Томск, Набережная реки Ушайки, 10

2 — Сибирский государственный медицинский университет 634050, Томск, Московский тракт, 2

Смещение инактивации X-хромосомы может быть следствием и маркером нарушения клеточной пролиферации при вариациях числа копий ДНК на X-хромосоме. X-сцепленные CNV выявляются как у женщин с невынашиванием беременности и смещением инактивации X-хромосомы (с частотой 33,3%), так и у пациентов с умственной отсталостью и смещением инактивацией у их матерей (с частотой 40%).

Ключевые слова Вариации числа копий ДНК, асимметричная инактивация X-хромосомы, X-сцепленная умственная отсталость, невынашивание беременности.

Для цитирования: Фонова Е.А., Толмачева Е.Н., Кашеварова А.А., Лопаткина М.Е., Павлова К.А., Лебедев И.Н. X-сцепленные CNV и асимметричная инактивация X-хромосомы. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 19–21.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.19-21

Автор для корреспонденции: Фонова Е.А.; **e-mail:** fonova.elizaveta@medgenetics.ru

Финансирование. Работа выполнена при поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований № 18-015-00437.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

X-linked CNV and skewed X-chromosome inactivation

Fonova E.A.¹, Tolmacheva E.N.¹, Kashevarova A.A.¹, Lopatkina M.E.¹, Pavlova K.A.², Lebedev I.N.¹

1 — Research Institute of Medical Genetics, Tomsk NRMC Naberejnaya Ushaiki st., 10, Tomsk, 634050, Russia

2 — Siberian State Medical University Moskovsky trakt 2, Tomsk, 634055, Russia

A skewed X-chromosome inactivation can be a consequence and a marker of impaired cell proliferation in the presence of copy number variations (CNV) on the X chromosome. X-linked CNVs are detected in women with miscarriages and a skewed X-chromosome inactivation (with a frequency of 33.3%), as well as in patients with intellectual disability and skewed X-chromosome inactivation in their mothers (with a frequency of 40%).

Keywords: Copy number variations, skewed X-inactivation, X-linked mental retardation, miscarriage.

For citation: Fonova E.A., Tolmacheva E.N., Kashevarova A.A., Lopatkina M.E., Pavlova K.A., Lebedev I.N. X-linked CNV and skewed X-chromosome inactivation. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 19–21 (In Rus).

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.19-21

Corresponding author: Fonova E.A.; **e-mail:** fonova.elizaveta@medgenetics.ru

Funding. The study was supported by the Russian Foundation for Basic Research, grant 18-015-00437.

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

Accepted: 20.05.2020

Вариации числа копий участков ДНК (CNV), вероятно, могут быть одной из причин формирования смещения инактивации X-хромосомы (sXCI), особенно в тех случаях, когда в них задействованы гены, контролирующие процессы деления клетки и поддержания клеточного гомеостаза. У женщины-носительницы sXCI может подавить проявления CNV на X-хромосоме, однако, у ее потомства мутация может привести как к рождению ребенка с патологи-

ей, так и к внутриутробной гибели плода. У 15–25% пациентов с задержкой психического развития (ЗПР) обнаруживаются CNV [1]. На X-хромосоме локализовано более чем 100 генов, ассоциированных с X-сцепленной умственной отсталостью (X-linked mental retardation – XLMR, XO) [2]. Для женщин-носительниц мутаций в генах XLMR характерна повышенная частота sXCI, при этом они обычно фенотипически здоровы. Причиной такой особенности предпо-

лагается асимметричная инактивация X-хромосомы с мутантным аллелем. В таком случае возможно, что sXCI может служить индикатором наличия мутаций на X-хромосоме.

Целью настоящего исследования был поиск ассоциации между sXCI и возможным наличием патогенных CNV на X-хромосоме как у женщин с невынашиванием беременности (НБ), так и у пациентов с XLMR.

Материалы и методы

Инактивация X-хромосомы была исследована у 313 женщин с НБ и у 135 женщин из контрольной группы (отсутствие случаев НБ и минимум 2 живорожденных ребенка). Уровень sXCI $\geq 90\%$ установлен у 6,7% у женщин с НБ, что статистически значимо выше, чем у женщин из контрольной группы (2,2%, $p=0,019$). Последующее молекулярное кариотипирование было проведено 24 женщинам с sXCI $\geq 90\%$ (21 женщина с НБ и 3 женщины из контрольной группы). Сравнительная матричная геномная гибридизация (aCGH) проводилась на микрочипах SurePrint G3 Human CGH array 4×180K (Agilent Technologies, США). Обследовано 589 пациентов с УО на носительство X-сцепленных CNV.

Результаты и обсуждение

По данным aCGH у 7 женщин с НБ и 3 женщин из контрольной группы были обнаружены CNV и на аутосомах, и на X хромосоме, а у 1 женщины с НБ – только на аутосоме. Выявленные CNV на X-хромосоме представляли собой микродупликации в регионах Xp22.33 и Xq28 и микроделеции в регионах Xp11.23 и Xq24. Анализируя спектр выявленных CNV, нами было отмечено, что у 2 женщин с НБ были микродупликации в регионе Xp22.33 и регионе Xq28. У обеих женщин кариотип спонтанного абортуса был 46,XY. Сам регион Xp22.3 является псевдоаутосомным и избегает инактивации. Однако имеются данные, что экспрессия генов псевдоаутосомных областей на инактивированном гомологе значительно снижена [3]. Нами также была выявлена дупликация Xp22.33 у женщины из контрольной группы. Вероятнее всего, эмбриолетальность зародышей у женщин с НБ связана с дупликациями именно в регионе Xq28. Так у 2 женщин с привычным невынашиванием беременности (ПНБ) была выявлена дупликация только в регионе Xq28, в которую входят гены *SPRY*, *VAMP7*, *IL9R*. Также мы выявили моногенную трипликацию Xq28 у 2 женщин (1 с НБ, 1 из контрольной

группы). В область этой трипликации вошел единственный ген *GDII*, связанный с X-сцепленной формой когнитивного расстройства (OMIM #300815). У 26-летней женщины с ПНБ была обнаружена моногенная делеция размером 52 т.п.н. в регионе Xp11.23, затрагивающая ген *ZNF630*. У другой женщины с ПНБ была выявлена микроделеция в регионе Xq24. В области данной делеции локализовано восемь генов, мутации двух из них (*CXorf56*, *UBE2A*) являются причиной тяжелых XLMR. Также была выявлена микроделеция в регионе Xq24, захватывающая гены *WDR44*, *MIR1277*, у женщины из группы контроля.

По данным анализа результатов aCGH 589 пациентов с УО наличие CNV выявлено у 241 семей, из них на X-хромосоме – в 26 семьях. Патогенетическая значимость в отношении развития УО была отмечена в 131 семье (21,9%), в том числе на X-хромосоме – в 13 семьях (9,9%). CNV у пациентов с УО представляли собой микродупликации в регионах Xp11.4, Xp11.22, Xp21.2, Xp22.2-p22.3, Xq13.1, Xq24-q25 и микроделеции в регионах Xp22.2, Xp22.33-p11.3, Xq24, Xq26.1-q26.2. Мы проанализировали происхождение CNV в 5 семьях и выявили, что в 2 случаях мутация была унаследована от матери, а в 3 случаях мутация произошла *de novo*. Всего было 2 девочки с УО с CNV на X-хромосоме, возникшими *de novo*, у всех девочек была равновероятная инактивация X-хромосомы, что, вероятно, и приводило к проявлению патологического фенотипа. Также у мальчика с УО была выявлена нуллисомия Xp22.2 *de novo*, в области которой локализован ген *MIDI1*, ассоциированный с развитием синдрома Опица, тип 1 (Opitz GBBV syndrome, type I; OMIM 300000). У матери пациента была равновероятная XCI. В 2 случаях материнского происхождения CNV мутация была выявлена у мальчиков с УО: у одного пациента выявлена дупликация Xq24-q25, у другого – делеция Xq24. При анализе XCI матерей этих пациентов мы выявили 100% sXCI. Матери этих пациентов фенотипически здоровы, что можно объяснить преимущественной инактивацией X-хромосомы с CNV. По нашим данным, для пациентов с УО частота носительства CNV и sXCI $\geq 90\%$ у матери составляет 40%.

Выводы

Таким образом, нами показано, что у женщин с sXCI есть X-сцепленные CNV, содержащие гены, мутации в которых связаны с нарушением интеллектуального развития. Для женщин с sXCI $\geq 90\%$ частота носительства CNV составила 41,6%, а для женщин с НБ и sXCI $\geq 90\%$ – 33,3%. У мальчиков или у девочек с рав-



новероятной инактивацией X-сцепленные CNV приводят к задержке развития и умственной отсталости. Внутритрубную остановку развития плодов у женщин со смещением ХСИ можно объяснить тем, что гены X-сцепленных CNV также участвуют в процессах, контролирующих жизнеспособность различных типов клеток, и мутации в них могут привести к селективной гибели пула клеток с активной мутантной X-хромосомой.

Литература/References

1. Iyer J, Girirajan S. Gene discovery and functional assessment of rare copy-number variants in neurodevelopmental disorders. *Brief Funct Genomics*. 2015; 14 (5): 315–328.
2. Lubs HA, Stevenson RE, Schwartz CE. Fragile X and X-linked intellectual disability: four decades of discovery. *Am J Hum Genet*. 2012; 90 (4): 579–590.
3. Sierra I, Anguera MC. Enjoy the silence: X-chromosome inactivation diversity in somatic cells. *Curr Opin Genet Dev*. 2019; 55: 26–31.

Качество цитогенетических исследований: проблемы и пути улучшения

Антоненко В.Г.¹, Шилова Н.В.¹, Лукаш Е.Н.², Бабкеева Э.Р.³, Малахов В.Н.³

1 — ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»
115522, г. Москва, ул. Москворечье д.1

2 — ГБУЗ «Научно-практический центр медицинской помощи детям им. В.Ф. Войно-Ясенецкого» ДЗ г. Москва,
119620, Москва, ул. Авиаторов, д. 38

3 — АСНП «Центр внешнего контроля качества клинических лабораторных исследований»,
129090, Москва, пл. Малая Сухаревская, д. 3, стр. 2.

Представлены результаты экспертной оценки качества цитогенетических исследований в лабораториях РФ в системе межлабораторных сличительных испытаний «ФСВОК» в 2018–2019 гг. Обсуждаются наиболее частые причины неудовлетворительных результатов экспертизы и возможные пути улучшения качества цитогенетических исследований.

Ключевые слова: внешний контроль качества, цитогенетические исследования.

Для цитирования: Антоненко В.Г., Шилова Н.В., Лукаш Е.Н., Бабкеева Э.Р., Малахов В.Н. Качество цитогенетических исследований: проблемы и пути улучшения. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 22–24.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.22-24

Автор для корреспонденции: Антоненко Валентина Геннадьевна; **e-mail:** avalgen@yandex.ru

Финансирование. Исследование проведено в рамках темы НИР №115013070082 «Структурная организация генома при редких хромосомных аномалиях»

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Quality of cytogenetic investigations: problems and ways for improvement

Antonenko V.G.¹, Shilova N.V.¹, Lukash E.N.², Babkeeva E.R.³, Malakhov V.N.³

1 — Research Centre for Medical Genetics
Moskvorechie st.,1, Moscow, 115522, Russia

2 — State Budgetary Institution of Health care «Research and Practical Center of Medical Care for Children. named after V.F. Voyno-Yasnetsky»
of the Department of Health of Moscow,
Aviators st, 38, Moscow, 119620, Russia

3 — Association of Specialists Non-profit Partnership «Center for External Quality Control of Clinical Laboratory Studies»,
Malaya Sukharevskaya pl., 3, building 2, Moscow, 129090, Russia

We report the results of quality assessment for preparation of cytogenetic slides and chromosomal analysis in the laboratories of Russian Federation in the system of the interlaboratory comparative examinations “FSVOK” in 2018–2019. Common causes of poor results of assessment and the ways for improvement of quality for cytogenetic investigations are discussed.

Key words: external quality assurance, cytogenetic investigations

For citation: Antonenko V.G., Shilova N.V., Lukash E.N., Babkeeva E.R., Malakhov V.N. Quality of cytogenetic investigations: problems and ways for improvement. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 22–24 (In Rus).

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.22-24

Corresponding author. Antonenko Valentina, **e-mail:** avalgen@yandex.ru

Funding. The reported study was funded by research work №115013070082 “Structural organization of the genome with rare chromosomal abnormalities”

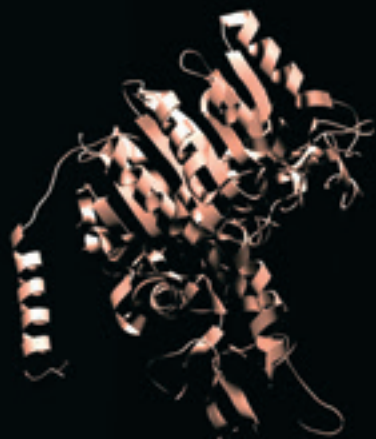
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Accepted: 20.05.2020

Цель работы — оценка качества цитогенетических исследований, проводимых в лабораториях РФ, и определение путей его улучшения. Задача работы — анализ результатов экспертной оценки качества цитогенетических исследований в Системе межлабораторных сличительных испытаний «ФСВОК» в 2018–2019 гг.

Материал и методы

В 2018–2019 гг. экспертная оценка проводилась по двум разделам: «Определение кариотипа (препараты лимфоцитов лаборатории)» (раздел 1) и «Определение кариотипа (цифровые фотографии препаратов лимфо-



**ЖИЗНЕННО
ВАЖНЫЙ
ФЕРМЕНТ**

**ДЕФИЦИТ
ФЕРМЕНТА
ПОТЕНЦИАЛЬНО
СМЕРТЕЛЕН**

ПРИ ГИПОФОСФАТАЗИИ ДЕФИЦИТ ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ

**ПРИВОДИТ К РАЗРУШЕНИЮ КОСТНОЙ ТКАНИ,
ПОВРЕЖДЕНИЮ ДРУГИХ ОРГАНОВ И, ВОЗМОЖНО, К СМЕРТИ^{1, 2}**

Узнайте больше на hypophosphatasia.ru

1. Whyte MP. Hypophosphatasia: nature's window on alkaline phosphatase function in humans. In: Bilezikian JP, Raisz LG, Martin TJ, eds. Principles of Bone Biology, Vol 1, 3rd ed. San Diego, CA: Academic Press; 2008:1573-1598. 2. Barvencik F, Beil FT, Gebauer M, et al. Skeletal mineralization defects in adult hypophosphatasia – a clinical and histological analysis. Osteoporos Int. 2011;22(10):2667-2675.

ООО «Свикс Биофарма»
125047, г. Москва, 1-я Тверская-Ямская ул., д. 23, стр. 1, эт. 5, пом V ком. 4

Swixx  **BioPharma**

Современные препараты доступны для всех

цитов)» (раздел 2). По разделу 1 лаборатории представляли для экспертизы по 3 GTG-окрашенным цитогенетическим препаратам и результаты их исследования. По разделу 2 в 2018 г. лабораториям был предложен для анализа семейный случай хромосомной патологии: ребенок (пациент №1), кариотип – 47,XX,+der(22)t(11;22)(q23;q11.2)mat и его мать (пациент №2), кариотип – 46,XX,t(11;22)(q23;q11.2). В 2019 г. по разделу 2 были предложены два случая хромосомной патологии: пациент №1, кариотип: 46,XX,inv(6)(p24q12) и пациент №2, кариотип: 46,XX,add(12)(q24). В 2018 г. в оценке качества по разделу 1 приняли участие 17 лабораторий, по разделу 2 – 68 лабораторий; в 2019 г. – 15 и 63 лаборатории соответственно.

Результаты

Распределение лабораторий по результатам экспертизы качества приготовления и анализа препаратов по разделу 1 в 2018/2019 гг. представлено в **табл. 1**.

Экспертиза результатов анализа нескольких препаратов не была проведена из-за их плохого качества. Неправильными по существу в 2018 г. и 2019 г. были по одному диагнозу. В остальных случаях диагнозы были признаны неправильными или неполными/неточными из-за несоответствия формулы кариотипа в заключении лаборатории требованиям ISCN [1]. Большинство неправильных или неточных заключений были написаны без учета рекомендаций по качеству [2].

Результаты оценки анализа кариотипа пациентов №1 и №2 по разделу 2 в 2018/2019 гг. представлены в **табл. 2**.

В 2018 г. основными причинами неправильных диагнозов у пациента 1 были следующие: не учитывались

результаты кариотипирования матери, сверхчисленная хромосома расценивалась как делетированная хромосома 22, запись формулы кариотипа не соответствовала ISCN. Все результаты, признанные неправильными у пациента 2 в 2018 г., и большинство результатов у пациентов 1 и 2 в 2019 г. были следствием невнимательности при написании формулы кариотипа и несоответствия ее требованиям ISCN.

Выводы

1. Результаты экспертной оценки качества приготовления препаратов и их анализа в 2018 и 2019 гг. свидетельствуют о том, что большая часть лабораторий проводят исследования на препаратах хорошего и удовлетворительного качества, ставят правильные диагнозы и правильно формулируют заключения.

2. Недостатки качества приготовления препаратов в основном связаны с плохим качеством окраски.

3. Большая часть неправильных и неполных/неточных формул кариотипа является следствием пренебрежения специалистов к требованиям ISCN. Возможно, при подготовке специалистов-цитогенетиков нужно больше внимания уделять обучению записи формул кариотипа с использованием ISCN.

4. Проблемы, выявленные при интерпретации семейного случая t(11;22), могут быть связаны с недостаточным знакомством цитогенетиков с мейотической сегрегацией 3:1, особенностями интерпретации кариотипа ребенка с учетом кариотипа родителей, а также с оценкой хромосомного дисбаланса при несбалансированных транслокациях. Эти недостатки могут быть исправлены при большем внимании к данным проблемам на циклах усовершенствования специалистов.

Таблица 1

Распределение лабораторий по результатам экспертизы качества приготовления и анализа препаратов по разделу 1 в 2018/2019 гг.

Результаты экспертизы	Количество лабораторий 2018 г.	Количество лабораторий 2019 г.
Оценка качества приготовления препаратов		
Хорошее и удовлетворительное	12	10
Плохое качество окраски одного или двух препаратов	5	5
Оценка качества анализа препаратов		
Правильные диагноз и заключение по всем 3 препаратам	10	6
Неправильный диагноз	1	1
Неполные/неточные диагноз или заключение по 1–2 препаратам	3	4
Всего лабораторий	17	15



Таблица 2

Результаты оценки анализа кариотипа по цифровым фотографиям препаратов лимфоцитов пациентов №1 и № 2

Результаты экспертизы	Количество лабораторий 2018 г.	Количество лабораторий 2019 г.
По пациенту № 1		
Правильная формула кариотипа	38	56
Неполная/неточная формула кариотипа	15	3
Неправильная формула кариотипа	15	4
Правильная формулировка заключения	36	54
Неполная/неточная формулировка заключения	20	5
Неправильная формулировка заключения	12	4
По пациенту № 2		
Правильная формула кариотипа	62	52
Неполная/неточная формула кариотипа	3	6
Неправильная формула кариотипа	3	5
Правильная формулировка заключения	65	51
Неполная/неточная формулировка заключения	2	8
Неправильная формулировка заключения	1	4
Всего лабораторий	68	63

5. Значимой причиной неудовлетворительных результатов является невнимательность специалистов. Важный момент, который может помочь избежать подобных досадных ошибок, – коллегиальность в работе, то есть анализ каждого случая двумя специалистами.

Литература

1. Кузнецова Т.В., Шилова Н.В., Творогова М.Г., Харченко Т.В., Лебедев И.Н., Антоненко В.Г. Практические рекомендации по обеспечению качества и надежности цитогенетических исследований. *Медицинская генетика*. 2019;18(5):3–27

2. ISCN 2016 - An International System for Human Cytogenomic Nomenclature (2016) Ed. McGovan-Jordan J, Simons A, Schmid M. Karger. 2016.

References

1. Kuznetsova T.V., Shilova N.V., Tvorogova M.G., Kharchenko T.V., Lebedev I.N., Antonenko V.G. *Practicheskie recomendacii po obespecheniju kachestva i nadezhnosti cytogeneticheskikh issledovanij*. [Practical recommendations to ensure quality and safety of cytogenetic research]. *Medicinskaja genetika*. [Medical Genetics.] 2019; 18(5):3–27. (In Russ.) <https://doi.org/10.25557/2073-7998.2019.05.3-27>
2. ISCN 2016 - An International System for Human Cytogenomic Nomenclature (2016) Ed. McGovan-Jordan J, Simons A, Schmid M. Karger. 2016.



Алгоритм интерпретации клинической значимости хромосомных микродупликаций при недифференцированных формах интеллектуальных расстройств

Беляева Е.О., Назаренко Л.П., Лебедев И.Н.

Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН 634050, г. Томск, Набережная реки Ушайки, 10

Идентификация хромосомных аномалий на субмикроскопическом уровне и установление их роли в этиологии интеллектуальных расстройств являются важной научной и практической задачей. Оценка патогенного значения менее изученного типа вариаций копийности ДНК – хромосомных микродупликаций представляет актуальный предмет для обсуждения. В исследовании предложен алгоритм интерпретации клинической значимости частичных трисомий, который является неотъемлемой составляющей в диагностике и профилактике хромосомных болезней.

Ключевые слова: недифференцированные интеллектуальные расстройства, матричная сравнительная геномная гибридизация, хромосомные микродупликации, клиническое значение.

Для цитирования: Беляева Е.О., Назаренко Л.П., Лебедев И.Н. Алгоритм интерпретации клинической значимости хромосомных микродупликаций при недифференцированных формах интеллектуальных расстройств. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 25-27.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.25-27

Автор для корреспонденции: Беляева Елена Олеговна; e-mail: elena.belyaeva@medgenetics.ru

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования для НИИ медицинской генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (номер государственного учета НИОКТР АААА-А19-119020890005-5).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

An algorithm for interpreting the clinical significance of chromosomal microduplications in undifferentiated forms of intellectual disorders

Belyaeva E.O., Nazarenko L.P., Lebedev I.N.

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center RAS
Naberejnaya Ushaiki st., 10, Tomsk, 634050, Russia

The identification of chromosomal abnormalities at the submicroscopic level and the establishment of their role in the etiology of intellectual disorders are an important scientific and practical task. Evaluation of the pathogenic value of the less studied type of copy number variation - chromosomal microduplication - is an actual issue. The study proposed an algorithm for interpreting the clinical significance of partial trisomies, which is an integral component in the diagnosis and prevention of chromosomal diseases.

Key words: undifferentiated intellectual disability, array comparative genomic hybridization, chromosomal microduplications, clinical significance.

For citation: Belyaeva E.O., Nazarenko L.P., Lebedev I.N. An algorithm for interpreting the clinical significance of chromosomal microduplications in undifferentiated forms of intellectual disorders. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 25-27(In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.25-27

Corresponding author. Belyaeva Elena Olegovna; e-mail: elena.belyaeva@medgenetics.ru

Funding. The reported study was funded by the financial support of the Ministry of Science and Higher Education for the Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center (registration no. АААА-А19-119020890005-5).

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

Accepted: 20.05.2020



Высокоразрешающие молекулярно-цитогенетические технологии, позволяющие обнаруживать геномный дисбаланс на субмикроскопическом уровне, являются бесценным инструментом для установления этиологии недифференцированных форм интеллектуальных расстройств [1]. Вместе с тем поднимается пласт вопросов, связанных с клиническим значением выявляемых вариаций числа копий ДНК (copy number variation, CNV), особенно в отношении хромосомных микроудuplicаций, уступающих по числу зарегистрированным микроделениям с доказанной патогенетической значимостью [2]. Вклад частичных трисомий в наследственную и врожденную патологию человека до сих пор остается недооцененным, вероятно, в связи с более мягкими и вариабельными фенотипическими проявлениями, частым наследованием от условно здоровых родителей, что не позволяет однозначно интерпретировать их как патогенные. Интерпретация результатов микрочипового анализа требует индивидуального и взвешивающего подхода к каждому конкретному случаю [3]. Для вынесения корректного заключения необходима тщательная работа с базами данных, источниками литературы, а также тесное взаимодействие врача, выполняющего диагностическое исследование, и врача-генетика, обеспечивающего подробное клиническое описание пациента и анализ родословной [4]. Обсуждение проблем диагностики и интерпретации микроудuplicационных перестроек, роль и значение которых в формировании патологических состояний до настоящего времени не ясна, имеет практический потенциал для развития новых биомедицинских технологий и улучшения диагностики и профилактики хромосомных болезней.

Цель. Оценка патогенетического значения хромосомных микроудuplicаций у пациентов с недифференцированными формами интеллектуальных расстройств с использованием алгоритма интерпретации клинической значимости субмикроскопических аберраций.

Материалы и методы

Обследовано 445 пациентов в возрасте от 1 до 18 лет с недифференцированными формами интеллектуальных расстройств и дисморфиями и/или врожденными аномалиями методом матричной сравнительной геномной гибридизации на микрочипах SurePrint G3 Human CGH Microarray Kit, 8×60K (Agilent Technologies, США). Подтверждение наличия и анализ происхождения патогенетически значимых микроудuplicаций у пробандов выполнялись методом количественной ПЦР в режиме реального времени на приборе AriaMX Real-Time PCR System (Agilent Technologies, США). Интер-

претация клинической значимости CNV проводилась с использованием биоинформационных ресурсов (DGV, OMIM, DECIPHER, PubMed). Исследование одобрено Комитетом по биомедицинской этике НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ.

Работа проведена на базе Центра коллективного пользования «Медицинская геномика» Томского НИМЦ с использованием материалов биологической коллекции «Биобанк населения Северной Евразии».

Результаты

Молекулярное кариотипирование зафиксировало в выборке пациентов наличие 515 CNV (325 делеций и 190 дупликаций). Идентифицированные CNV с использованием алгоритма интерпретации клинической значимости были классифицированы на доброкачественные, патогенные и CNV с неопределенной клинической значимостью. На первом этапе оценки патогенетического значения микроструктурной перестройки проводилась проверка её распространённости в общей популяции с использованием базы данных геномных вариантов у здоровых индивидов (DGV). Из 190 выявленных частичных трисомий 105 микроудuplicаций встречались в популяции с частотой более 1% и рассматривались как полиморфные варианты, не имеющие отношения к развитию заболевания у наблюдаемых пациентов. Следующим шагом клинической оценки явился поиск микроструктурной аномалии в каталоге наследственных болезней OMIM. В выборке обнаружено 8 патогенных дупликаций, захватывающих регионы, ассоциированные с известными синдромами. При этом отсутствие синдромов, связанных с оцениваемой CNV не исключало её потенциальной патогенности. Третий этап представлял собой проверку следующих характеристик обнаруженной CNV: размер, генный состав области аберрации, происхождение хромосомной мутации. Анализ происхождения показал, что 46% микроудuplicаций были унаследованы от матери, 27% имели отцовское происхождение, а 27% трисомий возникли *de novo*. Унаследованные микроудuplicации имели размер до 1,5 млн п.н., а для более крупных перестроек было характерно происхождение *de novo*. Заключительным этапом интерпретации результатов микрочиповой диагностики явился поиск вариации числа копий участка ДНК в базах данных DECIPHER, ISCA, ECARUCA, PubMed. В исследовании с использованием данных биоинформационных ресурсов определены гено-фенотипические корреляции, в том числе идентичные, зеркальные и уникальные фенотипы при реципрокных хромосомных микроперестройках. Очерчены особенности клинического проявления у пациентов



с известными частичными трисомиями и расширены границы их клинического полиморфизма. Представлено детальное описание клинических особенностей 18 пациентов – носителей частичных трисомий с вероятно патогенным значением. Охарактеризован ряд новых для мировой практики хромосомных микродупликаций, которые могут помочь для их более точной клинической интерпретации.

Выводы

Алгоритм клинической интерпретации результатов микрочипового анализа является важной состав-

ляющей в диагностике и профилактике хромосомных болезней.

Литература/References

1. Rosenfeld J.A., Patel A. Chromosomal microarrays: understanding genetics of neurodevelopmental disorders and congenital anomalies. *Journal of pediatric genetics* 2017; 6(1): 42–50.
2. Hehir-Kwa, J. Y., et al. Pathogenic or not? Assessing the clinical relevance of copy number variants. *Clinical genetics* 2013; 84(5): 415–421.
3. Silva, Marisa, et al. European guidelines for constitutional cytogenomic analysis. *European Journal of Human Genetics* 2019; 27(1): 1–16.
4. Méndez-Rosado L. A. et al. Algorithm for the diagnosis of patients with neurodevelopmental disorders and suspicion of a genetic syndrome. *Archivos argentinos de pediatria* 2020; 118(1): 52–55.



Алгоритм молекулярно-цитогенетической диагностики при обследовании пациентов с кольцевой хромосомой

Кашеварова А.А., Лебедев И.Н.

Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, 6304050, Томск, Набережная реки Ушайки, 10,

Для обследования пациентов с кольцевыми хромосомами разработан и апробирован алгоритм молекулярно-цитогенетической диагностики, включающий дополнительно к уже проведенному стандартному кариотипированию микрочиповое исследование (aCGH), ПЦР в реальном времени и флуоресцентную *in situ* гибридизацию (FISH).

Ключевые слова: кольцевая хромосома, молекулярно-цитогенетическая диагностика

Для цитирования: Кашеварова А.А., Лебедев И.Н. Алгоритм молекулярно-цитогенетической диагностики при обследовании пациентов с кольцевой хромосомой. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 28-29.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.28-29

Автор для корреспонденции: Кашеварова А.А.; **e-mail:** anna.kashevarova@medgenetics.ru

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФ № 16-15-10231.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Molecular cytogenetic diagnostic algorithm for patients with a ring chromosome

Kashevarova A.A., Lebedev I.N.

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center RAS
Naberejnaya Ushaiki st., 10, Tomsk, 634050, Russia

We developed and applied for patients with ring chromosomes an algorithm for molecular cytogenetic diagnostics which includes, in addition to the standard karyotyping, array comparative genomic hybridization (aCGH), real-time PCR, and fluorescence *in situ* hybridization (FISH).

Keywords: ring chromosome, molecular cytogenetic diagnostics.

For citation: Kashevarova A.A., Lebedev I.N. Molecular cytogenetic diagnostic algorithm for patients with a ring chromosome. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 28- 29 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.28-29

Corresponding author: Kashevarova A.A.; **e-mail:** anna.kashevarova@medgenetics.ru

Funding. This work was supported by the Russian Science Foundation (no. 16-15-10231).

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

Accepted:

Молекулярно-цитогенетическая диагностика для пациентов с нарушением развития и кольцевой хромосомой не закреплена в национальных рекомендациях, несмотря на то, что данные аномалии описаны для всех хромосом набора. Традиционно обнаружение кольцевой хромосомы у пациента является цитогенетическим диагнозом и не предполагает дальнейших исследований. Однако применение дополнительных методов для уточнения структуры кольца, определения генного состава, понимания молекулярных основ формирования фенотипа является обоснованным, в связи с чем, нами предлагается алгоритм обследования пациентов с кольцевыми хромосомами.

При обнаружении при стандартном кариотипировании кольцевой хромосомы рекомендуется провести

микрочиповое исследование (aCGH), которое позволяет выявить терминальные делеции, обусловившие образование кольца, установить генный состав аберраций, выявить дополнительные вариации числа копий участков ДНК (CNV), которые могут модифицировать картину заболевания. Далее методом ПЦР в реальном времени CNV подтверждаются и определяется их происхождение, что имеет большое значение для интерпретации их патогенетической значимости. Также в ряде случаев необходимо подтвердить, что аномальная хромосома на самом деле имеет форму кольца. Для этого проводится флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH) с ДНК-зондами на центромерную область хромосомы и ген, максимально приближенный к области делеции. В случае кольца два зонда, меченных разными флуорохромами, будут располагаться близко друг

к другу, а при линейной форме фрагмента между сигналами будет расстояние. FISH-анализ также используется для определения прямой или инвертированной дупликации. С использованием FISH оценивается доля моносомного клона, который может модифицировать клиническую картину у пациента. В случае если моносомный клон в лимфоцитах периферической крови не обнаружен, рекомендуются FISH-исследование, а также aCGH и подтверждающая ПЦР в реальном времени в фибробластах кожи. С учетом данных о структуре кольцевой хромосомы, дополнительных генетических факторах (другие CNV, моносомия), геномном составе aberrаций, проводится интерпретация фенотипа и оценивается прогноз течения заболевания у пациента, а также осуществляется медико-генетическое консультирование семьи при планировании беременности.

Данный алгоритм был применен при обследовании пациентов с кольцевыми хромосомами. Например, с использованием aCGH у пробанда с r(22) кроме делеции 22q11.32, обнаружили микродупликацию 22q13.32, затрагивающую часть важного для нервной системы гена *FAM19A5*, а также унаследованную от матери моносомную делецию 3q13.31, затрагивающую ген опухолевого супрессора *TUSC7* [1]. Данная информация имеет большое значение для последующего наблюдения и консультирования семьи относительно возможных онкологических заболеваний. С использованием FISH-метода моносомный клон выявлен в лимфоцитах и фибробластах пациентки. Во время второй беременности в данной семье проведена пренатальная диагностика с использованием aCGH и установлено, что плод имеет сбалансированный кариотип и не несет потенциально патогенной микроделеции 3q13.31. У пациента с r(13) в ходе aCGH установлены границы микроделеции 13q34, проанализирован ее геномный состав и выявлена унаследованная от отца микротрипликация 3q12.2, приводящая к образованию химерного гена, обнаруживаемого как у здоровых людей, так и онкологических больных [2]. С использованием

FISH-анализа у пациента также выявлен моносомный клон в лимфоцитах и фибробластах кожи. Еще у одного пробанда с r(8) методом aCGH определены границы делеции 8p23.3–p23.1 и дупликации 8p23.1–8p11.22. FISH-исследование установило инвертированный характер дупликации.

Таким образом, предложенный комплексный анализ позволяет понять генетические основы клинической картины у пациента с кольцевой хромосомой, дать прогноз течения основного заболевания и возможного появления новых симптомов с учетом дополнительных к кольцевой хромосоме генетических находок.

Список литературы

1. Kashevarova A.A., Belyaeva E.O., Nikonov A.M., Plotnikova O.V., Skryabin N.A., Nikitina T.V., Vasilyev S.A., Yakovleva Y.S., Babushkina N.P., Tolmacheva E.N., Lopatkina M.E., Savchenko R.R., Nazarenko L.P., Lebedev I.N. Compound phenotype in a girl with r(22), concomitant microdeletion 22q13.32-q13.33 and mosaic monosomy 22. *Molecular Cytogenetics* 2018; 11:26.
2. Кашеварова А.А., Беляева Е.О., Никонов А.М., Плотникова О.В., Гергерт И.Г., Никитина Т.В., Скрябин Н.А., Васильев С.А., Лопаткина М.Е., Чурилова А.В., Толмачева Е.Н., Назаренко Л.П., Лебедев И.Н. Интерпретация фенотипа пациента с учетом результатов комплексных молекулярно-цитогенетических исследований. *Медицинская генетика* 2017; 16(11):46–50.

References

1. Kashevarova A.A., Belyaeva E.O., Nikonov A.M., Plotnikova O.V., Skryabin N.A., Nikitina T.V., Vasilyev S.A., Yakovleva Y.S., Babushkina N.P., Tolmacheva E.N., Lopatkina M.E., Savchenko R.R., Nazarenko L.P., Lebedev I.N. Compound phenotype in a girl with r(22), concomitant microdeletion 22q13.32-q13.33 and mosaic monosomy 22. *Molecular Cytogenetics* 2018; 11:26.
2. Kashevarova A.A., Belyaeva E.O., Nikonov A.M., Plotnikova O.V., Gergert I.G., Nikitina T.V., Skryabin N.A., Vasilyev S.A., Lopatkina M.E., Churilova A.V., Tolmacheva E.N., Nazarenko L.P., Lebedev I.N. Interpretatsiya fenotipa patsiyenta s uchetom rezul'tatov kompleksnykh molekulyarno-tsitogeneticheskikh issledovaniy [Interpretation of a patient's phenotype using a complex of molecular cytogenetic methods]. *Meditsinskaya genetika* [Medical genetics] 2017; 16(11):46–50. (In Russ.)



Случай интерстициальной делеции короткого плеча хромосомы 9, ассоциированной с нарушением формирования пола

Маркова Ж.Г., Миньженкова М.Е., Демина Н.А., Шилова Н.В.

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»
115522, г. Москва, ул. Москворечье, д.1

Делеции короткого плеча хромосомы 9 представляют собой клинически и генетически гетерогенную группу. Большинство описанных случаев представляют собой терминальные делеции или несбалансированные транслокации с различными точками разрыва на коротком плече хромосомы 9. Интерстициальные делеции короткого плеча хромосомы 9 – крайне редко встречающаяся хромосомная патология. Мы сообщаем о пациенте с задержкой психомоторного развития, гипоплазией мозжечка и гипоспадией у которого при проведении хромосомного микроматричного анализа диагностирована интерстициальная делеция 9p24.3-p23, затрагивающая ген *DMRT1*.

Ключевые слова: интерстициальная микроделеция 9p24.3-p23, XMA, *DMRT1*.

Для цитирования: Маркова Ж.Г., Миньженкова М.Е., Демина Н.А., Шилова Н.В. Случай интерстициальной делеции короткого плеча хромосомы 9, ассоциированной с нарушением формирования пола. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 30-31

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.30-31

Автор для корреспонденции: Маркова Жанна Геннадьевна; **e-mail:** zhmark71@mail.ru

Финансирование. Исследование проведено в рамках темы НИР №115013070082 «Структурная организация генома при редких хромосомных аномалиях».

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Case of interstitial deletion of the short arm of chromosome 9 associated with disorders of sex development

Markova Zh.G., Minzhenkova M.E., Demina N.A., Shilova N.V.

Research Centre for Medical Genetics
Moskvorechie str. 1, 115522 Moscow, Russia

Deletions of the short arm of chromosome 9 are a clinically and genetically heterogeneous group. Most of the cases described are terminal deletions or unbalanced translocations with different break points on the short arm of chromosome 9. Interstitial deletions of the short arm of chromosome 9 are an extremely rare chromosome pathology. We report a patient with developmental and psychomotor delay, cerebellar hypoplasia and hypospadias, who was diagnosed with interstitial 9p24.3-p23 deletion affecting the *DMRT1* gene during chromosome microarray analysis (CMA).

Keywords: 9p24.3-p23 deletion, CMA, *DMRT1*.

For citation: Markova Zh.G., Minzhenkova M.E., Demina N.A., Shilova N.V. Case of interstitial deletion of the short arm of chromosome 9 associated with disorders of sex development. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 30-31 (In Rus).

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.30-31

Author for correspondence: Markova Zhanna; **e-mail:** zhmark71@mail.ru

Funding: The reported study was funded by research work №115013070082 "Structural organization of the genome with rare chromosomal abnormalities"

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest

Accepted: 20.05.2020

Делеции короткого плеча хромосомы 9 представляют собой клинически и генетически гетерогенную группу заболеваний. В базе данных OMIM аннотированы синдромы, ассоциированные с частичной моносомией короткого плеча хромосомы 9, связанные с двумя различными клиническими феноти-

пами. Большинство описанных случаев представляют собой терминальные делеции или несбалансированные транслокации с различными точками разрыва на коротком плече хромосомы 9 [1]. Интерстициальные делеции короткого плеча хромосомы 9 – крайне редко встречающаяся хромосомная патология.

Цель и задачи работы: Проанализировать клинический фенотип при интерстициальной делеции короткого плеча хромосомы 9.

Материалы и методы

Хромосомный микроматричный анализ (ХМА) проводили с использованием чипов высокой плотности CytoScan® HD Array Kit (Affymetrix Inc., Калифорния, США) в соответствии с инструкциями производителя. CEL-файлы данных были обработаны, проанализированы и нормализованы с помощью Affymetrix Chromosome Analysis Suite (ChAS) 4.0 (версия референсного генома NA33.1 (hg19)).

Результаты

Пробанд – мальчик 2 года и 3 месяца, второй ребенок в семье (старшая сестра здорова). Пренатально отмечались маловодие и гипотрофия плода. Роды – в сроке 40 недель, вес 2950 г., оценка по шкале Апгар 8/9. При рождении диагностирован врожденный порок развития уретры (гипоспадия члено-мошоночная), ишемия головного мозга, задержка внутриутробного развития. При УЗИ органов мошонки – признаки очагового образования правого придатка (киста). С рождения отмечалась задержка психомоторного развития. В возрасте 7 месяцев по данным МРТ выявлен порок развития головного мозга – гипоплазия червя мозжечка, вариант Денди-Уокера, единичные очаги демиелизации. Фенотип на момент обследования: умеренная задержка психомоторного развития (ходит у опоры, произносит слоги), гипотония, окружность головы 45 см. Дисплазия низкорасположенных ушных раковин, подчеркнутые брови, эпикант, дистрофия эмали зубов. Проксимальное смещение первых, гипоплазия и клинодактилия пятых пальцев кистей. Вторые пальцы стоп лежат выше соседних. Гипоспадия, стволовая форма, отверстие мочеиспускательного канала у основания полового члена. По данным стандартного цитогенетического исследования – кариотип 46,XY. При молекулярно-цитогенетическом анализе на частые микроделеционные синдромы (BACs-on-Beads) – патологии не выявлено. Полное секвенирование экзона – патогенные варианты не обнаружены. По результатам ХМА – молекулярный кариотип (согласно ISCN 2016): arr[hg19] 9p24.3p23(966096_10762874)x1. Обнаружена патогенная микроделеция района короткого плеча хромосомы 9 размером 9 796 778 п.н., затронувшая 46 генов, 30 из которых индексированы в OMIM.

В базе данных OMIM аннотированы синдромы, ассоциированные с частичной моносомией коротко-

го плеча хромосомы 9, связанные с двумя различными клиническими фенотипами. Протяженные терминальные или интерстициальные делеции приводят к фенотипу синдрома del 9p24p22 (синдром Альфи) (OMIM # 158170), для которого характерны тригоноцефалия, черепно-лицевые аномалии и умственная отсталость. Предполагаемая критическая область ограничена 5 млн п.н. в сегменте 9p22.3. Тригоноцефалия, являющаяся классическим черепно-лицевым пороком развития для данного синдрома, в первую очередь связана с гаплонедостаточностью гена *FREMI* [2]. Небольшие терминальные делеции 9p24.3 связаны с 46,XY дисгенезией гонад (OMIM # 154230) и вызывают нарушения полового развития у мужчин, от аномалий половых органов до полной дисгенезии гонад. Критическая область для несиндромального изменения пола 46,XY была определена в интервале 1 млн п.н., от теломерного района короткого плеча хромосомы 9 до кластера генов *DMRT*, локализованного в районе 9p24.3. Гаплонедостаточность, как и небольшие внутригенные делеции *DMRT1*, приводят к дисгенезии гонад и/или аномальному половому развитию [1,3]. Выявленная нами интерстициальная микроделеция включает критическую область 46,XY инверсии пола, в том числе гены *DMRT1*, *DMRT2*, *DMRT3*, что может быть причиной аномалии наружных половых органов, наблюдаемой у пациента. Потеря смежных генов может объяснять более тяжелый клинический фенотип. В область делеции не вошел критический регион, связанный с синдромом 9p-, в том числе ген *FREMI*, что согласуется с отсутствием у пациента тригоноцефалии.

Выводы

Разнообразие фенотипических проявлений делеций короткого плеча хромосомы 9 обуславливает необходимость описания новых случаев, диагностированных с использованием высокоразрешающих молекулярно-цитогенетических методов для определения корреляции генотип-фенотип.

Литература/References

1. Onesimo R., Orteschi D., Scalzone M., et al. Chromosome 9p deletion syndrome and sex reversal: novel findings and redefinition of the critically deleted regions[J]. Am J Med Genet A, 2012, 158A(9):2266–2271.
2. Spazzapan, P., Arnaud, E., Baujat, G. et al. Clinical and neuroradiological features of the 9p deletion syndrome. Childs Nerv Syst 32, 327–335 (2016).
3. Ledig S, Hiort O, Wunsch L., Wieacker P. Partial deletion of *DMRT1* causes 46,XY ovotesticular disorder of sexual development. Eur J Endocrinol. 2012;167:119–124.

ОТКРЫВАЯ ДОСТУП К ИННОВАЦИОННЫМ ПРЕПАРАТАМ

100+ **70+**
ЛЕТ ОПЫТА СТРАН

3000+
ГЛОБАЛЬНАЯ СЕТЬ
МЕЖДУНАРОДНЫХ КОНТАКТОВ

ФАРМАМОНДО – швейцарский глобальный поставщик медицинских услуг. Обладая высокой экспертизой в вопросах этики, нормативной документации, работая в тесном сотрудничестве с медицинским сообществом, мы обеспечиваем доступ к передовым инновационным медицинским технологиям и препаратам по всему миру.

НАШИ ПАРТНЕРЫ



ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ КОМПАНИИ

Мы работаем с инноваторами в областях онкологии, гематологии, неврологии, эндокринологии, иммунологии, кардиологии и многих других



ПАЦИЕНТСКИЕ ОРГАНИЗАЦИИ

Совместно с пациентскими организациями мы стремимся к тому, чтобы каждый пациент получал необходимое ему, современное лечение



МЕДИЦИНСКИЕ УЧРЕЖДЕНИЯ И АПТЕКИ

Мы работаем с сотрудниками здравоохранения по всему миру, чтобы эффективные разработки становились доступными в каждой стране и в каждом регионе



ПРОФЕССИОНАЛЬНЫЕ СООБЩЕСТВА

В партнерстве с национальными и международными профессиональными медицинскими сообществами мы стремимся сделать передовые инновационные методы лечения общедоступными для врачей

SWITZERLAND

Corporate Head Quarters
Piazza Indipendenza 3b, Chiasso, Switzerland
Tel. +41 91 6976370 | Fax +41 91 6976399

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ООО ФАРМАМОНДО
115114, Москва, ул. Дербеневская, 11
Тел: +7 495 098 01 88

По вопросам качества, нежелательных явлений и фармаконадзора:
ru.safety@farmamondo.ch
По иным вопросам: ru.info@farmamondo.ch, russia@farmamondo.com

2018 v1 Copyright FarmaMondo® Все права защищены FM-RU-2020-0001

Наследственные формы микроструктурных перестроек хромосом

Лязина Л.В.¹, Уварова А.С.¹, Смирнова М.В.¹, Пендина А.А.^{1,2}, Малышева О.В.²

1 — ГКУЗ «Диагностический центр (медико-генетический)»
194044, Санкт-Петербург, ул. Тобольская, д.5

2 — ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродукции имени Д.О. Отта»
199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д.3

Представлены семейные случаи микроструктурных перестроек с варибельной клинической картиной: синдром микродупликации Хq28 (MECP2) с классическим фенотипом у девочки вследствие несбалансированной транслокации X-хромосомы и хромосомы 4, унаследованной от матери, имеющей сбалансированный кариотип, и синдром делеции 22q11 (Ди Джорджи) с разной клинической картиной у сестер, у отца которых наблюдался редкий вариант сбалансированной структурной перестройки с маркерной хромосомой.

Ключевые слова: синдром микродупликации Хq28, синдром Ди Джорджи, наследование микроструктурных хромосомных нарушений.

Для цитирования: Лязина Л.В., Уварова А.С., Смирнова М.В., Пендина А.А., Малышева О.В. Наследственные формы микроструктурных перестроек хромосом. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 32-34

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.32-34

Автор для корреспонденции: Лязина Лидия Викторовна; **e-mail:** mgccons@mail.ru

Финансирование. ГКУЗ «Диагностический центр (медико-генетический)»

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.05.20

Inherited type of chromosomal microstructural rearrangements

Liazina L.V.¹, Uvarova A.S.¹, Smirnova M.V.¹, Pendina A.A.^{1,2}, Malysheva O.V.²

1 — Consulting Health Establishment Diagnostic Centre (Medical Genetics)
Tobolskaya st., 5, 194044, St-Petersburg, Russia

2 — D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology
Mendeleev line, 3, 199034, St-Petersburg, Russia

We present cases of chromosomal microstructural rearrangements in families with variable phenotypes: microduplication syndrome Xq28 (MECP2) in a girl with typical dysmorphic features as a result of an unbalanced translocation between X-chromosome and chromosome 4 inherited from the mother who had a balanced aberration, and DiGeorge syndrome with variable features in sisters that was inherited from the father carrying a rare balanced structural rearrangement with a marker chromosome.

Key words: microduplication syndrome Xq28, DiGeorge syndrome, inheritance of microstructural chromosome disorders

For citation: Liazina L.V., Uvarova A.S., Smirnova M.V., Pendina A.A., Malysheva O.V. Inherited type of chromosomal microstructural rearrangements. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 32-34 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.32-34

Corresponding author. Liazina Lidia Viktorovna; **e-mail:** mgccons@mail.ru

Funding. Consulting Health Establishment Diagnostic Centre (Medical Genetics)

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

Accepted: 20.05.2020

Внедрение современных методов диагностики позволяет выявлять редкие формы микроструктурных хромосомных перестроек. Наследственные формы данных перестроек дают разную степень клинических проявлений у членов семьи — от бессимптомного носительства до выраженного клинического фенотипа. Выявление таких семей нацеливает врача на тща-

тельный анализ клинических симптомов у членов семьи, их обследование в случае выявления микроструктурной перестройки при классическом фенотипе.

Синдром микродупликации Хq28, включающий MECP2 ген — редкое заболевание, в основном встречается у мальчиков. Основными клиническими проявлениями являются задержка психоречевого развития



(ЗПР), аутизм/аутистиподобное поведение, микроцефалия, характерные лицевые аномалии, мышечная гипотония в раннем возрасте, сменяющаяся спастичностью, частые респираторные инфекции.

Девочке с ЗПР и подозрением на первичный иммунодефицит в возрасте 1,5 лет в СПб ГПМУ было проведено таргетное секвенирование панели генов первичных иммунодефицитов и MLPA-анализ ряда хромосомных регионов. Обнаружено увеличение копийности хромосомного региона Xq28. Для уточнения диагноза ребёнок был направлен в медико-генетический центр Санкт-Петербурга (МГЦ). Девочка от 1 беременности, родилась на 41 неделе с массой тела 2400г, длиной тела 45 см. С рождения проявился синдром вялого ребёнка. При осмотре в 2 года 1 мес. рост 69,5 см, масса тела 8,92 кг, окружность головы 41 см. Не сидела, не вставала, произносила отдельные звуки, не глотала. При осмотре выявлены тяжёлая мышечная гипотония, плоское лицо, глазной гипертелоризм, плоская переносица, короткий нос, микростомия, короткая шея. Наблюдались гипоплазия мозолистого тела и врожденный порок сердца (ВПС): открытое овальное окно, аневризма межпредсердной перегородки, аномалия развития аортального клапана – двухполулунный клапан. Имеющаяся клиническая картина характерна для синдрома микродупликации Xq28.

Синдром крайне редко встречается у девочек, поэтому были проведены дополнительные исследования. Стандартное кариотипирование не позволило выявить хромосомных нарушений. При анализе метилирования аллелей гена андрогенового рецептора для определения инактивации X-хромосомы обнаружено два аллеля одинакового размера, что исключило проведение теста. При молекулярном кариотипировании (сравнительная геномная гибридизация) выявлена патогенная дупликация хромосомы X размером 10,413 млн п.н., включающая критический регион дупликации Xq28. Методом FISH установлен несбалансированный кариотип 46,XX,der(4)t(X;4)(q27;q35)mat, характеризующийся частичной трисомией субтеломерной области длинного плеча хромосомы X и частичной моносомией субтеломерной области длинного плеча хромосомы 4. FISH анализ материала родителей не выявил аномалии у отца, но определил сбалансированную реципрокную криптическую транслокацию между хромосомой X(q27→qter) и хромосомой 4(q35→qter) у матери (кариотип 46,X,t(X;4)(q27;q35)).

Синдром Ди Джорджи или синдром микроделеции 22q11 является одной из частых хромосомных перестроек и характеризуется вариабельностью клинической картины. К основным клиническим проявлениям относят: лицевые дисморфии, врождённый порок

сердца (ВПС), поражение носоглоточного аппарата, гипокальциемию, ЗПР, иммунологические нарушения.

В детской городской больнице №1 Санкт-Петербурга на 2 день жизни была осмотрена девочка с ВПС – аномалией Тауссиг-Бинга. ВПС был выявлен пренатально на 18/19 неделе беременности (двойное отхождение главных артерий от правого желудочка со смещением аорты над дефектом межжелудочковой перегородки). Ребенок от 3 беременности (1 роды, девочка, 2 – девочка, интранатальная гибель в анамнезе). При осмотре обращали на себя внимание низкий лоб, плоское лицо, косой разрез глаз, округлый кончик носа, несформированная расщелина верхней губы, небольшие ушные раковины с крупным завитком. Учитывая сочетание лицевого фенотипа и пороков развития, было рекомендовано стандартное цитогенетическое и молекулярно-цитогенетическое обследование (FISH) на синдром Ди Джорджи. Стандартное кариотипирование хромосомных нарушений не выявило. При проведении FISH была выявлена делеция локусов D22S75 и HIRA района q11.2 в одном из гомологов хромосомы 22. На приеме в МГЦ присутствовала вся семья: пробанд, сестра 4 лет, родители. Обратило на себя внимание схожая форма ушных раковин с сестрой – небольшие с крупным завитком. В 4 г.3 мес. физическое развитие sibса соответствовало возрасту. Отмечались негрубая задержка речевого развития, дизартрия. При проведении FISH также была выявлена делеция локусов D22S75-, HIRA- и TBX1 района q11.2 в одном из гомологов хромосомы 22.

У матери были нормальный кариотип и отсутствие специфической делеции в районе 22q11. У отца молекулярно-цитогенетическое исследование позволило предположить патологию, а сочетание FISH и стандартного кариотипирования поставить диагноз: 47,XY,del(22)(q10q11.22),+der(22)(q10q11.22). В результате FISH-анализа, проведённого на ФГА-стимулированных лимфоцитах с использованием локус-специфических ДНК-зондов LSI N25 (локус D22S75), LSI TUPLE, TBOX1, ARSA (22q13.3), M5607 (TEL22q), полнохромосомного ДНК-зонда к хромосоме 22 (WCP22), была выявлена делеция локусов района q11.2 в одном из гомологов хромосомы 22, и установлено, что дополнительная маркерная хромосома представлена кольцевой хромосомой 22, которая содержит последовательности, гомологичные последовательностям ДНК-зондов, специфичных околоцентромерному району хромосом 14 и 22 и локусам TUPLE1, D22S75, TBX1. Таким образом, у отца выявлен сбалансированный кариотип не сопровождающийся аномалиями фенотипа. Это свидетельствует в пользу того, что наибо-



лее вероятно, сверхчисленная кольцевая хромосома 22 (относящаяся к классу II хромосомных перестроек [1] содержит неоцентромеру за счет которой, она передается в ряду клеточных делений.

Анализ кариотипа не выявил у старшей девочки с минимальными клиническими проявлениями маркерной хромосомы, в том числе в мозаичном варианте. Обеим девочкам планируется проведение молекулярного кариотипирования.

Представленные случаи подтверждают необходимость клинического осмотра всех членов семьи при вы-

явлении микроструктурной перестройки. В ряде случаев для уточнения диагноза требуется применение всего комплекса современных методов исследования хромосом, каждый из которых дополняет друг друга. В обеих семьях проведено медико-генетическое консультирование.

Литература/References

1. Marshall O., Chueh C., Wong L., et al. Neocentromeres: new insights into centromere structure, disease development and karyotype evolution. *Am. J. Hum. Genet.* 2008; 82: 261–282.



Клиническая и молекулярно-генетическая диагностика случая микроделеции Xp11.4

Миньженкова М.Е., Маркова Ж.Г., Маркова Т.В., Шилова Н.В.

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»
115522, Москва, ул. Москворечье, д.1, Москва

Представлены клинические и молекулярно-генетические результаты обследования девочки с задержкой психомоторного, речевого и физического развития, микроцефалией, гипоплазией моста и мозжечка. Хромосомный микроматричный анализ позволил выявить делецию Xp11.4, затрагивающую ген *CASK*, который ассоциирован с клиническими проявлениями MICPCH-синдрома (mental retardation and microcephaly with pontine and cerebellar hypoplasia).

Ключевые слова: микроделеция Xp11.4, ген *CASK*, ХМА, MICPCH-синдром.

Для цитирования: Миньженкова М.Е., Маркова Ж.Г., Маркова Т.В., Шилова Н.В. Клиническая и молекулярно-генетическая диагностика случая микроделеции Xp11.4. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 35-36.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.35-36

Автор для корреспонденции: Миньженкова Марина Евгеньевна; e-mail: maramin@mail.ru

Финансирование: Исследование проведено в рамках темы НИР № 115013070082 «Структурная организация генома при редких хромосомных аномалиях».

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Clinical and molecular-genetics diagnosis of microdeletion Xp11.4

Minzhenkova M.E., Markova Z.G., Markova T.V., Shilova N.V.

Research Centre for Medical Genetics
Moskvorechie st.,1, Moscow, 115522, Russia

Clinical and molecular-genetic study results of a girl with developmental and psychomotor delay, lack of speech development, microcephaly, and pontocerebellar hypoplasia are presented. Chromosomal microarray analysis revealed a deletion of Xp11.4 affecting the *CASK* gene that is associated with clinical manifestations of MICPCH-syndrome.

Keywords: microdeletion Xp11.4, *CASK* gene, CMA, MICPCH-syndrome.

For citation: Minzhenkova M.E., Markova Z.G., Markova T.V., Shilova N.V. Clinical and molecular-genetics diagnosis of microdeletion Xp11.4. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 35-36 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.35-36

Funding: The reported study was funded by research work №115013070082 «Structural organization of the genome with rare chromosomal abnormalities»

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest

Accepted: 20.05.2020

Выявление патогенных CNV (copy number variation) и их связь с фенотипическими проявлениями хромосомных болезней является основным направлением исследований современных цитогенетических лабораторий.

Целью данного исследования явилась молекулярно-генетическая диагностика микроделеции Xp11.4 у девочки с множественными признаками дизэмбриогенеза.

Материалы и методы

Анализ кариотипа был выполнен на хромосомных препаратах, полученных по стандартным протоколам

из культуры лимфоцитов периферической крови при GTG-окрашивании метафазных хромосом. Хромосомный микроматричный анализ (ХМА) проводили на платформе «Affymetrix» с использованием олигонуклеотидных микроматриц высокой плотности Cytoscan™ HD (Affymetrix®, США) в соответствии с протоколом производителя — Applied Biosystems.

Результаты и выводы

Пробанд — девочка 2,5 лет, обследована по поводу множественных врожденных пороков развития. Из анамнеза известно, что ребенок от 2 беременно-

сти. С 28 недели беременности наблюдалась задержка внутриутробного развития плода на фоне хронической фетоплацентарной недостаточности. Роды преждевременные путем кесарева сечения на 34 неделе. Вес и рост при рождении 1733 г / 44см, окружность головы – 29 см. Оценка по шкале Апгар 3/6 баллов, состояние тяжелое, судорожный синдром. Глубокая задержка психомоторного развития: голову держит с 4 месяцев, ползает с 7 месяцев, села в 1 год, стоит, не ходит. При МРТ головного мозга, проведенной в возрасте 1,5 лет, выявлены гипоплазия мозжечка, аномалия Денди-Уокера, умеренная перивентрикулярная лейкопатия. Задержка психоречевого развития: звуки издает неосознанно, на имя не отзывается. Особенности фенотипа на момент осмотра: рост – 78 см (<1 центиля), вес – 7300 г (<1 центиля), окружность головы – 39 см (<1 центиля). Микроцефалия, широкое уплощенное переносье, широкий кончик носа, дисплазия ушных раковин, мраморность кожных покровов. Правосторонний груднопоясничный сколиоз. Плоско-вальгусные стопы. При стандартном цитогенетическом исследовании определен кариотип – 46,XX. ХМА выявил делецию участка короткого плеча хромосомы X в районе p11.4 с позиции 41499755 до позиции 41738133 размером 238 т.п.н., затрагивающую три гена: *CASK*, *GPR34*, *GPR82*. Установить происхождение выявленной делеции к настоящему моменту не представилось возможным.

Геном-кандидатом, ассоциированным с клиническими симптомами у пациентки, оказался ген *CASK* (OMIM #300172), который был частично вовлечен в делецию, захватывающую первые восемь экзонов гена. Ген *CASK* кодирует кальций-кальмодулинзависимую сериновую протеинкиназу, принадлежащую к семейству мембраносвязанных белков гуанилаткиназ (MAGUK), которые регулируют работу ионных каналов в нейрональных синапсах. По своим функциям *CASK* является уникальным мультидоменным геном. Он взаимодействует примерно с 18 различными связывающими белками и играет важную роль как в развитии мозговых структур, так и синаптической функции. Белок *CASK* непосредственно принимает участие в пресинаптической организации и регуляции выпуска нейромедиаторов, поддержании морфологии дендритных шипиков, регуляции экспрессии генов, ассоциированных с развитием структур коры головного мозга [1]. В последнее десятилетие было установлено, что гетерозиготные делеции, дупликации и мутации в гене *CASK* приводят к формированию син-

дрома МІСРСН (OMIM #300172), который является X-сцепленным заболеванием, у лиц женского пола проявляющимся умственной отсталостью, микроцефалией, гипоплазией моста и мозжечка [2]. Предполагается, что молекулярные нарушения при *CASK*-связанном МІСРСН-синдроме обусловлены нарушением взаимодействия с транскрипционным фактором Tbr-1, оказывающим влияние на развитие нейронов и синапсов на нескольких уровнях: во время дифференцировки и миграции нейронов, а также во время синаптической сборки и созревания нейронов [3]. В работе Moog U. С соавт. представлены данные о 53 известных клинических случаях МІСРСН-синдрома у лиц женского пола [4]. Показано, что основными признаками являются выраженная интеллектуальная недостаточность, отсутствие речи, микроцефалия в сочетании с понтоцереbellарной гипоплазией различной степени. Эти признаки могут быть достаточно полиморфны в зависимости от типа, локализации CNV или вариативных точковых мутаций в гене *CASK*. У многих пациенток наблюдались мышечная гипотония, судороги. Заболевание также сопровождается комплексом лицевых дизморфий: овальное лицо, длинный фильтр, микрогнатия, большие уши, гипертелоризм, эпикант, широкое уплощенное переносье, широкий кончик носа, маленький нос. В нашем случае у пациентки отмечены схожие фенотипические проявления: типичные лицевые дизморфии, микроцефалия, задержка психомоторного и речевого развития, тяжелый неврологический статус, МРТ-картина понтоцереbellарной гипоплазии, что соответствует клиническим признакам МІСРСН-синдрома. Остается неясным наличие у пациентки аномалий со стороны костной системы. Несмотря на то, что в базе данных OMIM упоминается наличие сколиоза при МІСРСН-синдроме, патогенетические механизмы этих проявлений до сих пор не установлены.

Литература/References

1. Hsueh Y.P. The role of the MAGUK Protein CASK in neural development and synaptic function. *Curr Med Chem.* 2006; 13: 1915–1927.
2. Hayashi S., Okamoto N., et al. Novel intragenic duplications and mutations of *CASK* in patients with mental retardation and microcephaly with pontine and cerebellar hypoplasia (MICPCH). *Hum Genet.* 2012; 131: 99–110.
3. Hsueh, Y.P. Calcium/calmodulin-dependent serine protein kinase and mental retardation. *Ann Neurol.* 2009; 66: 438–443
4. Moog U., Uyanik G., Kutsche K. *CASK*-Related Disorders. 2013. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. *GeneReviews*® [Internet]: University of Washington, Seattle.

Перицентрическая инверсия $inv(9)(p24q32)$: собственные наблюдения и сравнительный анализ с данными литературы

Румянцева Н.В., Хурс О.М., Наумчик И.В.

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя» Министерства здравоохранения Республики Беларусь
220053, Республика Беларусь, г. Минск, ул. Орловская, 66

Представлены результаты анализа исходов беременностей у 4 носителей перицентрической инверсии $inv(9)(p24q32)$ и сравнительный анализ с опубликованными случаями носителей $inv(9)(p24q34.1)$ и $inv(9)(p22q32)$. Показано, что патология репродукции в изученной когорте пациентов с протяженными (>50%) инверсиями хромосомы 9 в кариотипе включает спонтанные аборт (собственные наблюдения) и рождение жизнеспособного потомства с комбинированным хромосомным дисбалансом $rec(9)dup(q)/del(p)$ (опубликованные случаи).

Ключевые слова: хромосома 9, перицентрическая инверсия, $inv(9)(p24q32)$, рекомбинантная хромосома, $rec(9)dup(9q)$

Для цитирования: Румянцева Н.В., Хурс О.М., Наумчик И.В. Перицентрическая инверсия $inv(9)(p24q32)$: собственные наблюдения и сравнительный анализ с данными литературы. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 37–38.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.37-38

Автор для корреспонденции: Румянцева Н.В.; **e-mail:** rumiantseva@inbox.ru

Финансирование. Источник финансирования отсутствует.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Pericentric inversion $inv(9)(p24q32)$: cases presentation and comparative analysis with literature data

Rumiantseva N.V., Khurs O.M., Naumchik I.V.

Republican Scientific Practical Centre "Mother and child", Belarus
Orlovskaya st. 66, 220053, Minsk, Belarus

Republican Scientific and Practical Centre «Mother and Child», Belarus Reproduction data of 4 $inv(9)(p24q32)$ carriers was presented. Published cases of $inv(9)(p24q34.1)$ and $inv(9)(p22q32)$ carriers were analyzed. Pregnancies outcomes of the patients with large (>50%) chromosome 9 inversions include a miscarriages (our cases) and live born children with combined chromosomal unbalance $rec(9)dup(q)/del(p)$ (published data).

Key words: chromosome 9, pericentric inversions, $inv(9)(p24q32)$, recombinant chromosome, $rec(9)dup(9q)$.

For citation: Rumiantseva N.V., Khurs O.M., Naumchik I.V. Pericentric inversion $inv(9)(p24q32)$: cases presentation and comparative analysis with literature data. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 37–38 (In Rus).

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.37-38

Corresponding author: Rumiantseva N.V.; **e-mail:** rumiantseva@inbox.ru

Funding. Funding is absent.

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

Accepted: 20.05.2020

Введение

Клиническое значение перицентрических инверсий хромосомы 9 (ПИ9) определяется протяженностью инвертированного хромосомного участка и, соответственно, вероятностью кроссинговера внутри инверсионной петли. Инверсии гетерохроматиновой области (9p12q13) принято считать полиморфизмом. У носителей инверсий с точками поломов в дистальных сегментах короткого и длинного плеч

хромосомы 9 в мейозе возможно формирование гамет с 2 вариантами рекомбинантной хромосомы — $rec(9)dup(9p)$ и $rec(9)dup(9q)$ [1]. Определение вероятности репродуктивных потерь (выкидыши, мертворождения) и рождения потомства с хромосомным заболеванием, доли носителей унаследованной ПИ9 и лиц с нормальным кариотипом важно для уточнения генетического риска при медико-генетическом консультировании (МГК) семей носителей.

Цель исследования: провести анализ данных репродукции носителей $inv(9)(p24q32)$ для уточнения прогноза потомства и тактики пренатальной диагностики (ПД).

Материалы и методы

Четыре супружеские пары с отягощенным акушерским анамнезом были обследованы с использованием клинико-генеалогического и цитогенетического (GTG-banding, лимфоциты, амниоциты) методов. Проведено МГК по прогнозу потомства, результатам пренатального ультразвукового (УЗ) скрининга и инвазивной диагностики.

Результаты и обсуждение

Семья I. Три беременности (Б1-3) молодых (жене 24 года, мужу 25 лет) здоровых супругов завершились спонтанными абортами (СА) в I триместре. При цитогенетическом исследовании у мужа идентифицирована перестройка – $inv(9)(p24q32)$, кариотип жены 46,XX. Поскольку результаты УЗ скрининга при последующих 2 беременностях были нормальные, супруги отказались от определения кариотипа плодов. Родились здоровые девочки. Старшая дочь имеет 2 сыновей (нормальный фенотип), у младшей – здоровый сын. Брат мужа, также носитель $inv(9)$, был проконсультирован по прогнозу потомства. Наличие ПИ9 у 2 братьев свидетельствует об унаследованном характере перестройки (родители недоступны для обследования, в родословной по материнской линии отмечены СА).

Семья II. При Б1 молодых (жене 21 год, мужу 24 года) супругов по данным УЗ скрининга в сроке гестации 10-11 недель толщина шейной складки плода составила 3,1 мм (КТР=38 мм). У плода была выявлена хромосомная аномалия: 46,XX,der(9). Кариотипы мужа – 46,XY, $inv(9)(p24q32)$, жены – 46,XX. Перестройка у плода интерпретирована как 46,XX, $inv(9)(p24q32)$ pat. Родилась доношенная девочка, в настоящее время (возраст 11 лет) развитие нормальное. Б2 завершилась СА в сроке гестации 6 недель.

Семья III. В кариотипе 33-летней женщины, обследованной в связи с 2 повторными СА, была выявлена инверсия 46,XX, $inv(9)(p24q32)$. Кариотип мужа: 46,XY. Кариотип здоровой дочери (Б1) не исследован.

Представленные пациенты с $inv(9)(p24q32)$ фертильны, имеют нормальный фенотип. Поскольку при данной перестройке протяженность инвертированного сегмента (p24q32) составляет порядка 80% от длины хромосомы 9, в мейозе возможно формирование рекомбинантных хромосом. В описанных семьях на-

блюдались только репродуктивные потери, рождения потомства с дисбалансом не отмечено. В литературе мы не нашли наблюдений ПИ9 с аналогичными точками поломки. Известны 4 публикации о носителях ПИ9 с протяженностью инвертированного участка >50%, имеющих живорожденное потомство с комбинированным дисбалансом $rec(9)dup(q)/del(p)$. Shapira и соавт. описали 6-месячную девочку с $rec(9)dup(9q)inv(p24q34.1)$, имевшую аномалии развития мозга и порок сердца (дефект межпредсердной перегородки, ДМПП) [2], Mundhofir и соавт. наблюдали 2 умственно отсталых сестер (возраст 21 год и 15 лет) с микроцефалией, низкорослостью, сколиозом и $rec(9)dup(9q)inv(9)(p24.3q34.11)$ [3]. В этих семьях СА не отмечены. В 2 публикациях приведены клинические данные $rec(9)dup(9q)inv(9)(p22q32)$. Sonoda с соавт. представили фенотип 7-месячной девочки (дисморфии, ДМПП, контрактуры суставов), родившейся после 3 СА [4], Mattei и соавт. описали новорожденного мальчика, имеющего микроцефалию, помутнение роговицы, удвоение мочеточников, врожденный вывих бедра [5].

Заключение

Приведенные собственные и опубликованные наблюдения иллюстрируют возможность формирования рекомбинантных хромосом в мейозе носителей протяженных (>50%) ПИ9. Патология репродукции включает репродуктивные потери, что было зарегистрировано в представленных семьях, и рождение потомства с унаследованным хромосомным дисбалансом. В связи с этим, комбинированный пренатальный скрининг целесообразно дополнить исследованием кариотипа плода для выбора тактики ведения беременности.

Литература/ References

1. Gardner R.J.M., Amor D.J. Gardner and Sutherland's chromosome abnormalities and genetic counseling. New York: Oxford University Press: 5th ed. 2018. 715 p.
2. Sonoda T., Ohba K., Ohdo S. et al. 9p deletion and distal 9q duplication due to a paternal pericentric inversion 9(p22q32). *Jpn J Human Genet.* 1991; 36(1): 111–116. doi: 10.1007/BF01876811.
3. Shapira S.K., Orr-Urtreger A., Gagos S. et al. Constitutional mosaicism for a chromosome 9 inversion resulting in recombinant aneusomy in an offspring. *Am J Med Genet.* 1997; 69(4): 360–364. doi:10.1002/(sici)1096-8628(199704)69:4<360::aid-ajmg5>3.0.co;2-p.
4. Mundhofir F.E., Smeets D., Nillesen W. et al. Monosomy 9pter and trisomy 9q34.11qter in two sisters due to a maternal pericentric inversion. *Gene.* 2012; 511(2): 451–454. doi: 10.1016/j.gene.2012.09.018.
5. Mattei J.F., Mattei M.G., Adrissone J.P. et al. Pericentric inversion, $inv(9)(p22q32)$ in the father of a child with a duplication-deletion of chromosome 9 and gene dosage effect of adenylate kinase-1. *Clin Genet.* 1980; 17(2): 129–136. doi: 10.1111/j.1399-0004.1980.tb00121.x.



Интерхромосомная инсерция $ins(5;4)(q31;q23q31)$: сегрегация и исходы репродукции у носителя

Хурс О.М., Румянцева Н.В., Соловьева И.В., Тарлецкая О.А., Мараховская Э.И., Зубко Ю.А., Новикова И.В., Венчикова Н.А.

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя» Министерства здравоохранения Республики Беларусь
220053, Республика Беларусь, г. Минск, ул. Орловская, 66

Интерхромосомные инсерции – редкие хромосомные перестройки. Носители имеют высокий риск репродуктивных потерь и рождения потомства с хромосомным дисбалансом. Представлен семейный случай $ins(5;4)(q31;q23q31)$. Проанализирована репродукция семьи. Показано, что среди плодов с хромосомной патологией выявляются варианты с частичной трисомией 4q23-q31. Приведены данные патоморфологического исследования абортированных плодов.

Ключевые слова: интерхромосомная инсерция, частичная трисомия, репродуктивный риск.

Для цитирования: Хурс О.М., Румянцева Н.В., Соловьева И.В., Тарлецкая О.А., Мараховская Э.И., Зубко Ю.А., Новикова И.В., Венчикова Н.А. Интерхромосомная инсерция $ins(5;4)(q31;q23q31)$: сегрегация и исходы репродукции у носителя. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 39-40.
DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.39-40

Автор для корреспонденции: Хурс О.М.; e-mail: khurs_om@inbox.ru

Финансирование. Источник финансирования отсутствует.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Interchromosomal insertion $ins(5;4)(q31;q23q31)$: segregation ratio and pregnancy outcomes for carrier

Khurs O.M., Rumiantseva N.V., Solovieva I.V., Tarletskaya O.A., Marakhovskaya E.I., Zubko Y.A., Novikova I.V., Venchikova N.A.

Republican Scientific Practical Centre «Mother and child», Belarus
Orlovskaya st. 66, 220053, Minsk, Belarus

Interchromosomal insertions are rare rearrangements implying the highest reproductive risk. We report a familial case of $ins(5;4)(q31;q23q31)$. Reproductive history was analyzed. It was shown that fetuses with partial trisomy 4q23-q31 are detected. The results of a pathomorphological study of aborted fetuses were presented.

Key words: interchromosomal insertion, partial trisomy, reproductive risk.

For citation: Khurs O.M., Rumiantseva N.V., Solovieva I.V., Tarletskaya O.A., Marakhovskaya E.I., Zubko Y.A., Novikova I.V., Venchikova N.A. Interchromosomal insertion $ins(5;4)(q31;q23q31)$: segregation ratio and pregnancy outcomes for carrier. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 39-40 (In Rus).
DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.39-40

Corresponding author. *Khurs O.M.*; e-mail: khurs_om@inbox.ru

Funding. Funding is absent.

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

Accepted: 20.05.2020

Введение

Интерхромосомные инсерции – редкие хромосомные перестройки, возникающие в результате ин-терстициальной делеции в одной хромосоме и вставки данного фрагмента в негомологичную хромосому. Хромосомный дисбаланс у потомства образуется в результате сегрегации деривативных хромосом в мейозе и представлен частичными трисомией и моносомией по инсерционному фрагменту. Вероятность репродуктивных потерь и риск рождения жизнеспособного потомства с унаследованным дисбалансом определяется с учетом характеристик конкретной перестройки.

Цель исследования: проанализировать исходы репродукции в семье носителя $ins(5;4)(q31;q23q31)$ и клинико-цитогенетические характеристики хромосомного дисбаланса в потомстве.

Материалы и методы

Семья обследована с использованием клинико-генеалогического метода. Анализ кариотипа выполнен на препаратах дифференциально GTG-окрашенных хромосом из культур лимфоцитов периферической кро-

ви, биоптата ворсин хориона, клеток эмбриональных тканей. Проведено патоморфологическое исследование абортированных плодов.

Результаты и обсуждение

Первичная медико-генетическая консультация беременной Ч., 26 лет, проведена при 2-й беременности в связи с высоким риском хромосомной патологии (1:1) у плода по данным ультразвукового (УЗ) скрининга 1 триместра (срок гестации 11,5 недель, КТР=49,1 мм, Nt=3,8 мм). Кариотип плода определен как 46,XY,der(5). У матери установлена инсерция 46,XX,ins(5;4)(q31;q23q31), хромосомный набор отца 46,XY. Таким образом, кариотип пробанда: 46,XY,der(5)ins(5;4)mat. Диагноз: частичная трисомия 4q23-q31. Беременность прервана в 17 недель гестации. Кариотипы родственников – матери и сестры, нормальные. Отец для обследования недоступен, в связи с чем определить происхождение перестройки у женщины не представляется возможным.

Поведение хромосом с инсерцией в мейозе обусловлено размером инсерционного фрагмента, который оценивается в представленном наблюдении как 1,8–2% от длины гаплоидного набора аутосом. Согласно современным знаниям [1], в таких случаях возможно формирование квадριвалента и ожидается образование 4 типов гамет с дисбалансом, несущих деривативные хромосомы der(5)ins(5;4) и der(4)ins(5;4), и рекомбинантные хромосомы. Жизнеспособность зигот связана с объемом и типом хромосомного дисбаланса. В данном случае протяженность инсерционного фрагмента составляет ~40% от длины хромосомы 4, что позволяет предполагать выживаемость только зигот с трисомией 4q23-q31. Проанализированы исходы репродукции в семье. Зарегистрировано 7 беременностей, 1 и 3 завершились спонтанными абортами (СА) в 5 и 6 недель гестации. При 4 и 6 беременностях показатели УЗ скрининга 1 триместра находились в пределах нормальных значений, кариотип плодов 46,XY и 46,XX,ins(5;4)mat соответственно. При 5 и 7 беременностях (возраст матери 32 и 39 лет) по данным УЗ скрининга 1 триместра установлен высокий риск (1:1) хромосомной патологии у плода. В обоих случаях зарегистрировано увеличение воротникового пространства: срок гестации 11,5 недель, КТР=57,5 мм, Nt=5,0 мм; срок гестации 11,1 недель, КТР=42,1 мм, Nt=3,6 мм. Пороков развития не выявлено. Кариотип плодов: 46,XY,der(5)ins(5;4)mat и 46,XX,der(5)ins(5;4)mat.

Беременности прерваны по медико-генетическим показаниям. Согласно рекомендациям Gardner и соавт.

[1] по анализу сегрегации, в данной семье соотношение зигот с кариотипами – нормальный : сбалансированная инсерция : частичная трисомия : частичная моносомия, составляет 1:1:3:0. Можно предполагать, что кариотипы плодов от беременностей, завершившихся СА, имели другой дисбаланс (моносомию или del/dup), не совместимый с живорождением. Таким образом, эмпирический риск образования зигот с хромосомным дисбалансом, можно оценить как ~70% (5/1+1+3+2).

Проведена аутопсия абортированных плодов с кариотипом der(5)ins(5;4) от 2 и 5 беременностей. У 1 плода (возраст 17 недель): масса 130 г, окружность головы 14 см, выступающие теменные кости, короткие глазные щели, дисморфичные ушные раковины, дигитализация 1-х пальцев кистей; пороков развития не обнаружено. У 2 плода (возраст 12 недель) в доступном материале установлены изодактилия кисти, удлинение и дигитализация 1-го пальца и стеноз перешейки аорты. В литературе нами не найдено описаний инсерций с аналогичным инсерционным фрагментом 4q23-q31. Представлено наблюдение dup(4)(q21.3q31.3)dn у мальчика 3 лет с задержкой психомоторного развития, микроцефалией, черепно-лицевыми дисморфиями, грыжами и аномалиями развития пальцев кистей [2]. Данный случай подтверждает возможность рождения пациентов с хромосомным дисбалансом в виде частичной трисомии, включающей сегменты 4q23-q31.

Заключение

Инсерции являются редкими хромосомными перестройками, выявляемыми при цитогенетических исследованиях. Носители таких сбалансированных аномалий имеют высокий риск репродуктивных потерь и рождения потомства с хромосомным дисбалансом. Представленное наблюдение инсерции ins(5;4)(q31;q23q31) демонстрирует жизнеспособность зигот с частичной трисомией по инсерционному фрагменту, несмотря на его протяженный размер, что требует тщательного планирования объема пренатальной диагностики для семей носителей интерхромосомных инсерций с вовлечением длинного плеча хромосомы 4.

Литература/References

1. Gardner R. et al. Gardner and Sutherland's chromosome abnormalities and genetic counseling. Oxford University Press: 5th ed. 2018, 715 p.
2. Jeziorowska A., Ciesla W., Houck G.E. et al. Cytogenetic and molecular identification of a de novo direct duplication of the long arm of chromosome 4(q21.3→31.3). *Am J Med Genet.* 1993; 46(1): 83–87. doi: 10.1002/ajmg.1320460114.



НАНОЛЕК

МЫ ЗАЩИЩАЕМ ЖИЗНИ И ЗДОРОВЬЕ,
ДЕЛАЯ СОВРЕМЕННЫЕ МИРОВЫЕ
ТЕХНОЛОГИИ ДОСТУПНЫМИ КАЖДОМУ

Хантераза®

Идурсульфаз бета

Препарат для лечения МПС II типа (синдрома Хантера)



ООО "Нанолек"
127055, Россия, Москва,
Бутырский Вал, 68/70, стр.1
Тел.: +7 (495) 648-26-87
E-mail: info@nanolek.ru

Перед назначением препарата Хантераза®, пожалуйста, ознакомьтесь с инструкцией по медицинскому применению

Клиническая и молекулярно-цитогенетическая характеристика двух случаев инвертированной дупликации со смежной терминальной делецией 8p

Юрченко Д.А., Миньженкова М.Е., Дадали Е.Л., Шилова Н.В.

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»
115522, Москва, ул. Москворечье, д.1

Синдром инвертированной дупликации короткого плеча хромосомы 8 со смежной терминальной делецией (*inv dup del(8p)*, ORPHA 96092) – редкая хромосомная аномалия (ХА) с частотой 1/10000-1/30000 живорожденных. В статье представлены клинические и молекулярно-цитогенетические характеристики двух неродственных пациентов с синдромом *inv dup del(8p)* и уточнены механизмы формирования хромосомного дисбаланса.

Ключевые слова: *inv dup del(8p)*, FISH, хромосомный микроматричный анализ

Для цитирования: Юрченко Д.А., Миньженкова М.Е., Дадали Е.Л., Шилова Н.В. Клиническая и молекулярно-цитогенетическая характеристика двух случаев инвертированной дупликации со смежной терминальной делецией 8p. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 41-42.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.41-42

Автор для корреспонденции: Юрченко Дарья Александровна; **e-mail:** dashalbv@mail.ru

Финансирование: исследование проведено в рамках темы НИР № 115013070082 «Структурная организация генома при редких хромосомных аномалиях».

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Clinical and molecular cytogenetic characterization of two cases of inverted duplication deletion 8p

Yurchenko D.A., Minzhenkova M.E., Dadali E.L., Shilova N.V.

Research Centre for Medical Genetics
Moskvorechie str., 1, Moscow, 115522, Russia

Inverted duplication deletion 8p syndrome (*inv dup del(8p)*, ORPHA 96092) is a rare chromosomal abnormality with a frequency of 1:10,000 – 30,000 newborns. Clinical manifestations of this syndrome include mental retardation, facial anomalies, hypoplasia/agenesis of corpus callosum, scoliosis and/or kyphosis, hypotonia, congenital heart defects. The article presents the clinical and molecular cytogenetic characteristics of two patients with *inv dup del(8p)* syndrome and clarifies the formation mechanisms.

Key words: *inv dup del(8p)*, FISH, chromosomal microarray analysis

For citation: Yurchenko D.A., Minzhenkova M.E., Dadali E.L., Shilova N.V. Clinical and molecular cytogenetic characterization of two cases of inverted duplication deletion 8p. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 41-42 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.41-42

Corresponding author: *Yurchenko Daria*; **e-mail:** dashalbv@mail.ru

Funding: The reported study was funded by research work №115013070082 “Structural organization of the genome with rare chromosomal abnormalities”

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest

Accepted: 20.05.2020

Синдром инвертированной дупликации короткого плеча хромосомы 8 со смежной терминальной делецией (*inv dup del(8p)*, ORPHA 96092) – редкая хромосомная аномалия (ХА) с частотой 1/10000-1/30000 живорожденных. Клиническими проявлениями синдрома являются умственная отсталость, лицевые дизморфии, сколиоз/кифоз, гипотония, врожденные пороки мозга и сердца [1]. Данные о механизмах формирования хромосомного дисбаланса (ХД) широко обсуждаются [1–3]. Изучение происхождения

хромосомного дисбаланса и механизмов формирования *inv dup del(8p)* позволяет оценить и индивидуализировать повторный риск рождения ребенка с хромосомной патологией, оптимизировать медико-генетическое консультирование.

Цель и задачи – установить механизмы формирования ХА на основании анализа клинических проявлений и молекулярно-цитогенетических методов диагностики у 2-х пациентов с синдромом *inv dup del(8p)*.

Материалы и методы

Хромосомный микроматричный анализ (ХМА) проводили на платформе «Affymetrix» Cytoscan™ HD (Affymetrix®, США). Многоцветную флуоресцентную *in situ* гибридизацию (FISH) проводили с набором mBAND (XCyte) для хромосомы 8 по протоколу производителя (MetaSystems, Германия). Метафазный FISH анализ проводили с двумя разработанными ДНК-зондами на регион 8p23.1 размерами около 30 т.п.н., полученными методом ПЦР длинных фрагментов и мечеными в реакции nick-трансляции различными флуорохромами.

Результаты

Пациент 1 – девочка 6 лет. С рождения отмечались задержка моторного и психоречевого развития (ЗПМР и ППР) (самостоятельно ходит с 4 лет, говорит несколько фраз), стигмы дизэмбриогенеза (выступающий лоб, монголоидный разрез глаз, низкорасположенные, деформированные ушные раковины) и диффузная мышечная гипотония. На МРТ головного мозга гипоплазия мозолистого тела. При ХМА выявлены дупликация короткого плеча хромосомы 8 в районе p12p23.1, размером 21 231 645 п.н. и терминальная делеция участка короткого плеча хромосомы 8, размером 6 824 209 п.н. Между регионами делеции и дупликации имеется дисомный участок ДНК–спейсер, размером приблизительно 5,5 млн п.н. Молекулярный кариотип: $arr[hg19]8p23.3p23.1(158048_6982257)x1,8p23.1p12(12528482_33760127)x3$ [4].

Пациент 2 – мальчик 5 лет. С рождения ЗПМР и ППР (самостоятельно ходит с 2г.10 мес., использует для общения несколько фраз), диффузная мышечная гипотония, не резко выражены стигмы дизэмбриогенеза. На МРТ головного мозга атрофические изменения задних отделов мозолистого тела. При ХМА была выявлена дупликация короткого плеча хромосомы 8 в районе p12p23.1, размером 26 773 361 п.н. и терминальная делеция участка короткого плеча хромосомы 8, размером 7 935 121 п.н. Между регионами делеции и дупликации спейсер отсутствовал. Молекулярный кариотип: $arr[hg19]8p23.3p23.1(158048_8093169)x1,8p23.1p12(8093169_34866530)x3$ [4].

Для определения структуры обеих хромосомных перестроек был проведен mBAND8, который позволил охарактеризовать дупликации как инвертированные. В основе формирования *inv dup del(8p)* лежат три основных механизма, которые реализуются через формирование нестабильной дицентрической хромосомы с последующим асимметричным разрывом [3]. Отли-

чим механизмов, связанных с эктопической рекомбинацией от U-типа обмена является наличие спейсера с регулярными точками разрывов [1–3]. С целью установления механизмов формирования *inv dup del(8p)* у наших пациентов был проведен метафазный FISH анализ с разработанными ДНК-зондами на короткое плечо хромосомы 8, локализованными в пределах спейсера с геномными координатами chr8 (hg19): 8,145,883–8,175,123; 11,612,228–11,642,422. У пациента 1 отмечались 2 гибридизационных сигнала на коротком плече хромосомы 8 различного цвета, что подтверждает наличие спейсера, не вовлеченного в область дупликации. Такая структура хромосомной перестройки формируется при механизме, связанном с эктопической рекомбинацией [1]. У пациента 2 паттерн гибридизации существенно отличался: было обнаружено 4 гибридизационных сигнала на коротком плече хромосомы 8, локализованных в инвертированной ориентации, что может свидетельствовать об отсутствии спейсера и вовлечении этого региона в дупликацию. Образование такой структуры ХД характерно для механизма формирования по U-типу обмена [3].

Выводы

Представлено описание клинических и молекулярно-цитогенетических характеристик 2-х больных с синдромом *inv dup del(8p)*. Клинические проявления были сходными с таковыми у больных, описанных в литературе [1] и характеризовались выраженной ЗПМР и ППР, мышечной гипотонией. Стигмы дизэмбриогенеза были не специфичными. Отмечено различие в механизмах формирования *inv dup del(8p)* у 2-х пациентов: в первом случае ХА явилась следствием эктопической рекомбинации, а во втором – механизма обмена по U-типу. FISH-метод с разработанными ДНК-зондами может быть использован для определения механизма формирования хромосомной перестройки и оптимизации протокола обследования пациентов.

Литература/ References

1. García-Santiago F.A., Martínez-Glez V., Santos Fetal. Analysis of *inv dup del(8p)* rearrangement: Clinical, cytogenetic and molecular characterization. *Am J Med Genet Part A*. 2014; 167:1018–1025.
2. Zuffardi O, Bonaglia M, Ciccone R, et al. Inverted duplications deletions: underdiagnosed rearrangements? *Clin Genet* 2009; 75: 505–513.
3. Rowe L. R., Lee J.-Y., Rector L. et al. U-type exchange is the most frequent mechanism for inverted duplication with terminal deletion rearrangements. *Am J Med Genet* 2009; 46: 694–702.
4. ISCN 2016 - An International System for Human Cytogenomic Nomenclature (2016) Ed. McGowan-Jordan J, Simons A, Schmid M. Karger. 2016.

Синдром Клайнфельтера: низкоуровневый и тканевой мозаицизм

Требка Е.Г.

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя» Министерства здравоохранения Республики Беларусь
220053, Республика Беларусь, г. Минск, ул. Орловская, 66

Представлены результаты исследования FISH лимфоцитов крови и буккального эпителия 9 пациентов с синдромом Клайнфельтера и азооспермией.

Ключевые слова: синдром Клайнфельтера, азооспермия, мозаицизм, буккальный эпителий, FISH.

Для цитирования: Требка Е.Г. Синдром Клайнфельтера: низкоуровневый и тканевой мозаицизм. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 43-44.
DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.43-44

Автор для корреспонденции: Требка Екатерина Георгиевна; **e-mail:** Ekaterina.trebka@gmail.com

Финансирование. Средства республиканского бюджета.

Конфликт интересов. Автор декларирует отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Klinefelter syndrome: low level and tissue mosaicism

Trebka E.G.

Republican Scientific Practical Centre "Mother and child", Belarus
Orlovskaya st. 66, 220053, Minsk, Belarus

The results of FISH study of lymphocytes and buccal epithelium of 9 patients with Klinefelter syndrome and azoospermia are presented.

Keywords: Klinefelter syndrome, azoospermia, mosaicism, buccal epithelium, FISH.

For citation: Trebka E.G. Klinefelter syndrome: low level and tissue mosaicism. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 43-44 (In Rus).
DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.43-44

Corresponding author. Trebka E.G.; **e-mail:** Ekaterina.trebka@gmail.com

Funding: Republican budget funds

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

Accepted: 20.05.2020

Синдром Клайнфельтера (СК) является наиболее частой генетической причиной бесплодия у мужчин. Полная форма (кариотип 47,XXY) встречается в 80–85% всех случаев СК [1]. В среднем у 90% мужчин с полной формой выявляется азооспермия. Однако встречаются случаи с сохраненным сперматогенезом. Сперматозоиды могут быть получены у 34–57% мужчин с СК [2], что возможно при наличии низкоуровневого (скрытого) mos47,XXY/46,XY и тканевого мозаицизма у мужчины (например, присутствие 46,XY в тканях яичек). В эпоху нарастающей проблемы мужского бесплодия современные научные исследования направлены на восстановление фертильности мужчин, в т.ч. мужчин с СК. Установление мозаичной формы СК на современном уровне развития вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) становится все более актуальным. Выявление клона 46,XY

дает более благоприятный прогноз в отношении получения сперматозоидов, изменяет тактику ведения пациентов в сторону применения методов естественно-го отцовства в программах ВРТ.

Цель исследования – поиск низкоуровневого мозаицизма в лимфоцитах крови (ЛК) и клетках буккального эпителия (БЭ) у пациентов с СК.

Материалы и методы

Обследованы 9 мужчин 22–36 лет с СК и азооспермией. Биологическим материалом были венозная кровь и клетки БЭ. Проводилось стандартное кароти-пирование ЛК и исследование FISH (fluorescence in situ hybridization) на ЛК и БЭ. Культивирование ЛК и приготовление препаратов проводили согласно стандартным протоколам в модификации [3]. Стандарт-

ное кариотипирование осуществляли методом GTG-бэндинга, анализировали 30 метафазных ядер. Приготовление препаратов из некультивированных клеток БЭ проводили аналогично препаратам ЛК. FISH проводили на метафазных и интерфазных ядрах лимфоцитов ($n > 500$) и интерфазных ядрах БЭ ($n > 100$) согласно протоколам “Abbott Molecular Vysis Inc.” (США) в модификации. Использовали ДНК-зонды DYZ1/DYZ3SO, DXZ1SG. В качестве контрольных образцов были использованы препараты ЛК и БЭ здорового мужчины с кариотипом 46,XY.

Результаты

При стандартном кариотипировании ЛК у 9 пациентов подтвержден СК: 47,XXY[30] ($n=8$), mos47,XXY[27]/46,XY[3] ($n=1$). Далее во всех случаях проводили FISH на ЛК и БЭ. С целью поиска скрытого мозаицизма были исследованы метафазные и интерфазные ядра лимфоцитов ($n=500-1000$). С целью анализа тканевого мозаицизма были исследованы клетки БЭ ($n > 100$). БЭ является тканью, эмбриологически близкородственной ткани гонад и наиболее доступной для проведения генетических исследований [4, 5]. Степень мозаицизма в БЭ может отражать долю клеток 46,XY в герминогенной ткани яичек. При анализе FISH у пациентов с СК появление клеток 46,XY возможно вследствие истинного мозаицизма или методологических особенностей, когда сигнал не визуализируется из-за некачественной гибридизации, слабого свечения флуорохрома, погрешностей этапа отмывки ДНК-зондов. Для нивелирования технических погрешностей метода FISH и получения ложных результатов проводили также исследование контрольных препаратов. Клон 46,XY выявлен у всех пациентов в ЛК (доля

2,6–7,5%) и БЭ (доля 2,4–34,6%). В абсолютном большинстве образцов отмечалось превышение показателей потери сигнала DXZ1 по сравнению с показателями в контрольных образцах (ЛК— 0,3% (3/1000), БЭ— 0,2% (1/500)) и фирмы-производителя ДНК-зондов (допустимая потеря сигнала DXZ1 — в 2,5% ядер). У 4 пациентов определены достоверные различия в частоте клона 46,XY с превалированием в БЭ по сравнению с ЛК (χ^2 , $p < 0,05$). У 3 пациентов доля клона 46,XY в клетках БЭ составила $> 10\%$: 11,5% (возраст мужчины 22 года), 21% (возраст мужчины 36 лет, кариотип mos47,XXY[27]/46,XY[3]), 34,6% (возраст мужчины 33 года). Корреляция между возрастом пациентов ($n=9$) и долей клона 46,XY в ЛК и БЭ не выявлена ($p > 0,05$).

Выводы

Полученные результаты позволяют пересмотреть некоторые моменты медико-генетического консультирования мужчин с СК в пользу позитивного прогноза получения сперматозоидов после биопсии яичек в циклах ВРТ.

Литература/References

1. Plotton I. et al. Klinefelter syndrome and TESE-ICSI. *Ann Endocrinol.* 2014; 75(2): 118–125.
2. Corona G. et al. Sperm recovery and ICSI outcomes in Klinefelter syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2017; 23(3): 265–275.
3. Rooney D.E. Czepulkowski B.H. *Human cytogenetics. A practical approach (2 ed.)* Oxford University Press 1992.
4. Chen J. et al. Mouth development. *WIREs Developmental Biology.* 2017; 6(5): 1–16.
5. Garcia-Quevedo L. et al. Hidden mosaicism in patients with Klinefelter’s syndrome: implications for genetic reproductive counselling. *Hum Reprod.* 2011; 26(12): 3486–3493.

Использование хромосомного микроматричного анализа в постнатальной диагностике: ретроспективный анализ

Романова И.И.^{1,2}, Канивец И.В.^{1,3}, Пьянков Д.В.¹, Коростелев С.А.¹

- 1 — Медико-генетический центр «Геномед»
115093, г. Москва, Подольское ш., 8 корпус 5
- 2 — ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»
420008, Республика Татарстан, г. Казань, Кремлевская улица, 18
- 3 — ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» МЗ РФ
123242, г. Москва, Баррикадная ул., 2/1, стр. 1

Цель исследования – оценить распространенность и типы хромосомных аномалий у пациентов с множественными врожденными пороками развития (МВПР), комплексами малых аномалий развития (МАР), задержкой развития, умственной отсталостью (ЗР/УО) и расстройствами аутистического спектра (РАС) за период с 2013 по 2019 гг. Методом хромосомного микроматричного анализа (ХМА) было обследовано 6516 пациентов с МВПР, ЗР/УО, РАС и МАР. В результате проведенного анализа причина заболевания была обнаружена у 1212 (18,6%) пациентов, у 4868 (74,7%) пациентов хромосомный дисбаланс отсутствовал, а 436 (6,7%) пациентов имели варианты, возможно имеющие отношение к причине заболевания. Вывод: Полученные нами результаты указывают на необходимость использования ХМА в качестве теста первой линии, вместо стандартного карiotипирования, в постнатальной диагностике.

Ключевые слова: хромосомный микроматричный анализ, хромосомная аномалия, постнатальная диагностика

Для цитирования: Романова И.И., Канивец И.В., Пьянков Д.В., Коростелев С.А. Использование хромосомного микроматричного анализа в постнатальной диагностике: ретроспективный анализ. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 45–46.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.45-46

Автор для корреспонденции: Романова Ирина Игоревна; **e-mail:** iromanova@genomed.ru

Финансирование: Финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Поступила: 20.05.2020

The use of chromosomal microarray for postnatal diagnosis: a retrospective analysis

Romanova I.^{1,2}, Kanivets I.^{1,3}, Pyankov D.¹, Korostelev S.¹

- 1 — Genetic Center «Genomed» LTD
Podolsk sh., 8, Building 5, 115093, Moscow, Russia
- 2 — Kazan (Volga region) Federal University, Kazan, Russia
Kremlin Str., 18, 420008, Kazan, Republic of Tatarstan, Russia
- 3 — Russian medical Academy of continuing professional education of the Ministry of health of the Russian Federation
Barrikadnaya Str., 2/1, p.1, 123242, Moscow, Russia

Study objective is to assess the prevalence and types of chromosomal abnormalities in patients with multiple congenital abnormalities (MCA), dysmorphic features (DS), developmental delay, intellectual disability (DD /ID) and autism spectrum disorders (ASD) for the period from 2013 to 2019. Materials and methods: A total of 6516 patients with MCA, DD/ ID, ASD, and DS were examined by chromosomal microarray analysis (CMA). Results: The cause of the disease was found in 1212 (18,6%) patients, 4868 (74,7%) patients didn't have unbalanced chromosomal abnormalities, and 436 (6,7%) patients had variants that may be related to the cause of the disease. Conclusions: This study demonstrated that CMA should be the first genetic test instead of conventional karyotyping analysis in postnatal diagnosis.

Keywords: chromosomal microarray analysis, chromosomal abnormality, postnatal diagnosis

For citation: Romanova I., Kanivets I., Pyankov D., Korostelev S. The use of chromosomal microarray for postnatal diagnosis: a retrospective analysis. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 45–46 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.45-46

Corresponding author: Irina Romanova; **e-mail:** iromanova@genomed.ru

Funding: No financial support has been provided for this work.

Conflict of interest: The authors report no conflicts of interest.

Accepted: 20.05.2020

Оценка вариаций числа копий ДНК (CNVs) методом хромосомного микроматричного анализа (ХМА) рекомендована в качестве исследования первой линии в постнатальной диагностике задержки развития, умственной отсталости (ЗР/УО), расстройств аутистического спектра (РАС), комплексов малых аномалий развития (МАР) и/или множественных врожденных пороков развития (МВПР) при отсутствии у пациента характерного фенотипа известного хромосомного или моногенного синдрома [1,2]. ХМА имеет существенные преимущества по сравнению со стандартным кариотипированием, который требует культивирования клеток и позволяет выявить хромосомный дисбаланс размером 8–10 млн п.н. и более [3], в то время как большое количество клинически значимых CNVs имеют меньший размер.

Цель исследования: Оценить распространенность и типы хромосомных аномалий у пациентов с МВПР, МАР, ЗР/УО и РАС за период с 2013 по 2019 гг.

Материалы и методы

Всего было обследовано 6516 пациентов с МВПР, ЗР/УО, РАС и МАР. ХМА был выполнен с использованием микроматриц низкой (315000 маркеров), средней (750000 маркеров) и высокой плотности (2,76 млн маркеров), а также микроматриц экзонного уровня (6,85 млн маркеров) (Thermo Fisher Scientific, США). В каждом случае вид исследования определялся направляющим врачом. Интерпретация результатов проводилась с использованием программы ChAS, версия 4.0 и собственной базы данных (включающей более 15000 образцов). В соответствии с рекомендациями ACMG, обнаруженные CNVs классифицировались как патогенные, вероятно патогенные или варианты с неизвестной клинической значимостью.

Результаты

Были получены и проанализированы результаты ХМА 6516 пациентов. В результате проведенного анализа причина заболевания была обнаружена у 1212 (18,6%) пациентов, у 4868 (74,7%) пациентов хромосомный дисбаланс отсутствовал, а 436 (6,7%) пациентов имели варианты, возможно имеющие отношение к причине заболевания, но требующие проведения дополнительного обследования. В группе пациентов, имеющих патогенные CNVs, были проведены анализ обнаруженных вариантов и распределение их по синдромам. Наибольшую

часть составляют CNVs, описанные как синдромы в базах данных OMIM и Orphanet – 621 (37,6%). Самые часто встречаемые синдромы: синдром Прадера-Вилли/Ангельмана установлен у 71 пациента, синдром делеции 22q11.2 (Ди Джорджи) у 67 пациентов, синдром Вильямса диагностирован у 35 пациентов, синдром Вольфа-Хиршхорна у 22 пациентов и у 20 пациентов обнаружен синдром Фелан-МакДермид. У 253 (16,1%) были обнаружены патогенные делеции, дупликации и трипликации, неклассифицированные как синдромы в базах данных OMIM и Orphanet. 178 (10,5%) пациентов имели комплексные CNV, а у 67 (4%) пациентов были выявлены множественные CNV в пределах одной хромосомы. Анеуплоидии одной или нескольких хромосом были обнаружены у 73 (4,3%) пациентов. Также был проведен анализ размера обнаруженных CNVs, в ходе которого были получены следующие данные. Всего было обнаружено 1738 CNVs, 1205 (69,3%) из которых составляют CNVs размером от 1 т.п.н. до 8 млн п.н., также среди них выявлена 61 (5,1%) CNVs размером от 1 т.п.н. до 50 т.п.н. Хромосомный дисбаланс, выявляемый при стандартном кариотипировании, к которому относятся вариации числа копий ДНК размером более 8 млн п.н. и анеуплоидии, был обнаружен в 460 (26,5%) и 73 (4,2%) случаях соответственно.

Выводы

В обследованной нами группе пациентов общая выявляемость патогенных CNVs составила 18,6%. Полученные нами результаты указывают на необходимость использования ХМА в качестве теста первой линии вместо стандартного кариотипирования в постнатальной диагностике. Анализ размера обнаруженных CNVs свидетельствует о необходимости использования микроматриц максимально высокого разрешения (экзонного уровня).

Литература/References

1. Wang, R., Lei, T., Fu, F., Li, R., Jing, X., Yang, X., Liao, C. (2018). Application of chromosome microarray analysis in patients with unexplained developmental delay/intellectual disability in South China. *Pediatrics & Neonatology*.
2. Wayhelova, M., Smetana, J., Vallova, V. et al. The clinical benefit of array-based comparative genomic hybridization for detection of copy number variants in Czech children with intellectual disability and developmental delay. *BMC Med Genomics* 12, 111 (2019).
3. Shaffer, L. G., & Veyver, I. B. V. (2012). New technologies for the assessment of chromosomes in prenatal diagnosis. *Prenatal Diagnosis*, 32(4), 307–308.



Дискордантность кариотипов в клетках ворсин хориона по анеуплоидиям аутосом

Головатая Е.И.

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя» Министерства здравоохранения Республики Беларусь
220053, Республика Беларусь, г. Минск, ул. Орловская, 66

Представлены исходы беременностей и результаты цитогенетических исследований 50 случаев дискордантности кариотипов по трисомиям аутосом при получении нормального кариотипа в клетках трофобласта или мезенхимальной стромы ворсин.

Ключевые слова: кариотип, дискордантность, анеуплоидия.

Для цитирования: Головатая Е.И. Дискордантность кариотипов в клетках ворсин хориона по анеуплоидиям аутосом. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 47-48

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.47-48

Автор для корреспонденции: Головатая Елена Ивановна; e-mail: gvhelena@yandex.ru

Финансирование. Средства республиканского бюджета.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Discordance of karyotypes in chorionic villus cells by autosome aneuploidy

Golovataya E.I.

Republican Scientific Practical Centre «Mother and child», Belarus
Orlovskaya st. 66, 220053, Minsk, Belarus

Pregnancy outcomes and results of cytogenetic studies of 50 cases of autosome trisomy karyotype discordance in obtaining a normal karyotype in trophoblast cells or villi mesenchymal stroma are presented.

Key words: karyotype, discordance, aneuploidy.

For citation: Golovataya E.I. Discordance of karyotypes in chorionic villus cells by autosome aneuploidy. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 47-48 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.47-48

Corresponding author. Golovataya Elena; e-mail: gvhelena@yandex.ru

Funding. Republican budget funds.

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

Accepted: 20.05.2020

Введение

Широкое внедрение скрининга первого триместра беременности для выявления хромосомной патологии плода иногда приводит к противоречивым клиническим результатам, когда данные цитогенетического анализа ворсин хориона не согласуются с результатами ультразвукового исследования (УЗИ) плода. Нередко это трактуется как ошибка цитогенетического анализа или УЗИ. Однако, поскольку ворсины хориона являются экстраэмбриональными тканями, они могут не в полной мере отражать хромосомный статус плода [1–3]. При медико-генетическом консультировании важно знать не только о возможности такого расхождения результатов, но и о их частоте и вероятных исходах беременности при вовлеченности разных хромосом.

Цель и задачи – провести ретроспективный анализ исходов беременности при дискордантности кариотипов по анеуплоидиям аутосом в клетках трофобласта и мезенхимальной стромы ворсин хориона с получением в одном из типов клеток нормального/сбалансированного кариотипа.

Материалы и методы

Материалом были результаты кариотипирования клеток ворсин хориона. Процедура биопсии ворсин хориона производилась в 11-12 недель беременности. Показаниями для кариотипирования послужили высокий риск по результатам скрининга на хромосомные заболевания и/или пороки развития плода, выявленные при УЗИ. Цитогенетические анализы выполнялись в генетической лаборатории ГУ РНПЦ «Мать

и дитя», г. Минск с использованием стандартной методики GTG-окраски. Для исследования клеток биоптата ворсин хориона (БВХ) использовались два метода: полупрямой и метод длительного культивирования. Объектами исследования при этом являются клетки разного происхождения: трофобласта — при полупрямом методе, и мезенхимального слоя — при длительном культивировании. Патология считалась подтвержденной при выявлении ее в дополнительных цитогенетических исследованиях (кариотипирование клеток амниотической жидкости во втором триместре беременности или лимфоцитов периферической крови новорожденных) и/или выявлении характерных для данной патологии пороков при патоморфологическом исследовании.

Результаты

За 1998–2019 гг. выполнено исследование 5262 образцов БВХ двумя методами. Расхождения между кариотипами клеток трофобласта и мезенхимальной стромы ворсин наблюдались в 145 образцах (2,76%). В 80 случаях они связаны с анеуплоидиями аутосом, из них наибольший интерес представляют 50 случаев с нормальным кариотипом в одном из анализируемых типов клеток. Эти случаи распределены на две группы. Первая группа — 39 случаев с нормальным/сбалансированным кариотипом в клетках трофобласта и аномальным кариотипом в клетках мезенхимальной стромы ворсин. Вторая группа — 11 случаев с нормальным/сбалансированным кариотипом в клетках мезенхимальной стромы ворсин и аномальным кариотипом в клетках трофобласта.

С учетом частоты вовлеченности разных хромосом в наблюдаемые анеуплоидии и совместимости их с продолжением беременности представляет интерес анализ исходов при трисомиях хромосом 13, 18 и 21 в вышеперечисленных группах. Дискордантность кариотипов по этим трисомиям наблюдалась в 28 случаях: в 24 образцах первой группы, в 4 — второй группы. В первой группе все беременности прерваны, патология подтверждена дополнительными исследованиями. Во второй группе в двух случаях патология

не подтверждена, в двух — беременности прерваны в первом триместре, абортусы не исследованы. Таким образом, трисомии по хромосомам 13, 18 и 21 подтверждены в 86% случаях, не подтверждены — в 7%, нет данных для 7%. Дискордантность по другим аутосомным трисомиям наблюдалась в 22 образцах: в 15 образцах первой группы и в 7 образцах второй группы. В первую группу вошли трисомии по хромосомам 2 ($n=8$), 7, 8, 9, 10, 14, 20 и 22. В 11 случаях патология не подтверждена, 2 беременности завершились самопроизвольными абортами в 14–15 недель, 2 — прерваны без дополнительных исследований. Во вторую группу вошли трисомии по хромосомам 3, 4, 7, 11 и 20. В 6 случаях патология не подтверждена, в 1 — беременность прервана в первом триместре в связи с аутосомно-рецессивным заболеванием у плода, дополнительных исследований не проведено. Таким образом, редкие аутосомные трисомии не подтверждены в 77% случаях, нет данных для 23%.

Выводы

При дискордантности кариотипов клеток трофобласта и мезенхимальной стромы ворсин по трисомии 13, 18, 21 в подавляющем большинстве случаев подтверждается аномальный кариотип. При вовлеченности в трисомии других аутосом в большинстве случаев плод имеет нормальный кариотип. Выявление дискордантности кариотипов при исследовании клеток БВХ требует индивидуального подхода при проведении медико-генетического консультирования с целью определения тактики ведения беременности.

Литература/References

1. Battaglia P., Baroncini A., Mattarozzi A., Baccolini I., Capucci A. Cytogenetic follow-up of chromosomal mosaicism detected in first-trimester prenatal diagnosis. *Prenat Diagn.* 2014; 34: 739–747.
2. Gardner R.J., Amor D.J. Gardner and Sutherland's Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling (5 ed.) Oxford University Press 2018.
3. Van Opstal D., Srebniak M.I., Polak J., de Vries F., Govaerts L.C. False Negative NIPT Results: Risk Figures for Chromosomes 13, 18 and 21 Based on Chorionic Villi Results in 5967 Cases and Literature Review. *PLoS One.* 2016; e0146794. doi: 10.1371/journal.pone.0146794.

Коррекция эмбрионального кариотипа на преимплантационном этапе развития человека

Жигалина Д.И.¹, Скрябин Н.А.¹, Канбекова О.Р.¹, Артюхова В.Г.², Светлаков А.В.¹, Лебедев И.Н.¹

1 — Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН 634050, г. Томск, Набережная реки Ушайки, 10

2 — Красноярский центр репродуктивной медицины, группа компаний «Мать и дитя», 660037, Красноярск, ул. Коломенская, д. 26, корп. №1

Сравнительное молекулярное кариотипирование внеклеточной ДНК из внутриполостной жидкости бластоцисты, а также эмбриобласта и трофэктодермы позволило получить свидетельства в пользу наличия механизмов самокоррекции эмбрионального кариотипа на преимплантационном этапе развития человека.

Ключевые слова: бластоциста, самокоррекция эмбрионального кариотипа, анеуплоидия, внеклеточная ДНК, внутриполостная жидкость бластоцисты.

Для цитирования: Жигалина Д.И., Скрябин Н.А., Канбекова О.Р., Артюхова В.Г., Светлаков А.В., Лебедев И.Н. Коррекция эмбрионального кариотипа на преимплантационном этапе развития человека. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 49-50

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.49-50

Автор для корреспонденции: Жигалина Дарья Ивановна; e-mail: darya.zhigalina@medgenetics.ru

Финансирование. Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 15-04-08265.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Correction of the embryonic karyotype at the preimplantation stage of human development

Zhigalina D.I.¹, Skryabin N.A.¹, Kanbekova O.R.¹, Artyukhova V.G.², Svetlakov A.V.¹, Lebedev I.N.¹

1 — Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center RAS Naberejnaya Ushaiki st., 10, Tomsk, 634050, Russia

2 — Krasnoyarsk Center for Reproductive Medicine, MD Medical Group «Mother and Child», Kolomenskaya street, 26, building 1, Krasnoyarsk, 660037, Russia

Comparative molecular karyotyping of cell-free DNA from the blastocoele fluid of the blastocyst and the embryoblast and trophoblast, allowed us to obtain evidence for the presence of mechanisms of self-correction of the embryonic karyotype at the preimplantation stage of human development.

Key words: blastocyst, self-correction of the embryonic karyotype, aneuploidy, cell-free DNA, blastocoele fluid.

For citation: Zhigalina D.I., Skryabin N.A., Kanbekova O.R., Artyukhova V.G., Svetlakov A.V., Lebedev I.N. Correction of the embryonic karyotype at the preimplantation stage of human development. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 49-50 (In Rus).

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.49-50

Corresponding author: Zhigalina Daria Ivanovna; e-mail: darya.zhigalina@medgenetics.ru

Funding. The study was supported by the Russian Foundation for Basic Research, grant № 15-04-08265.

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

Accepted: 20.05.2020

Коррекция анеуплоидий у эмбрионов на преимплантационном этапе развития может обеспечиваться селективной элиминацией анеуплоидных клеток. Ранее была показана положительная корреляция между концентрацией внеклеточной ДНК (внДНК) из внутриполостной жидкости бластоцисты человека и морфологией эмбриона, а также активностью каспазы-3 в нем [1]. Однако данные о взаимосвязи между морфологией бластоцист и молекулярным кариотипом внДНК в литературе отсутствуют.

Целью настоящего исследования явилось изучение явления коррекции эмбрионального кариотипа путём

анализа результатов сравнительного молекулярного кариотипирования внДНК из внутриполостной жидкости бластоцисты, эмбриобласта (ЭБ) и трофэктодермы (ТЭ).

Материал и методы

В рамках циклов ЭКО была получена 31 бластоциста человека. Средний возраст женщин составил 32,25±5 года. Морфологические характеристики бластоцист были представлены в соответствии с классификацией Гарднера и варьировали от 2АВ до 5ВВ [2]. Проводились аспирация внутриполостной жидкости, а так-

НИТИЗИНОН

Технологии вне границ
и ограничений



mirpharm
Люди для людей

"Особая забота
о редкой жизни"



же разделение на микроманипуляторе ЭБ и ТЭ каждой бластоцисты. Полногеномная амплификация проводилась с использованием коммерческих наборов PicoPlex (Rubicon Genomics, США) и REPLI-g Mini (Qiagen, Германия). Продукты полногеномной амплификации были исследованы методами микроматричной сравнительной геномной гибридизации (array comparative genomic hybridization, aCGH) с использованием микрочипов SurePrint G3 Human CGH, 8×60K (Agilent Technologies, США), метафазной сравнительной геномной гибридизации (conventional comparative genomic hybridization, cCGH), а также массового параллельного секвенирования (massive parallel sequencing, MPS) с использованием набора реактивов PGS VeriSeq (Illumina, США). Статистическую обработку проводили с использованием критерия Краскела-Уоллиса, U-критерия Манна-Уитни, а также коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

Результаты и обсуждение

Молекулярные кариотипы всех трех образцов, а именно вДНК из внутритропостной жидкости, ЭБ и ТЭ были получены из 23 (74,2%) бластоцист. Нами не было обнаружено статистически значимой связи между возрастом женщины и числом анеуплоидий в ЭБ ($r_s = -0,2584$; $p = 0,1843$) и ТЭ ($r_s = -0,0535$; $p = 0,7788$), однако была выявлена корреляция между возрастом женщины и числом анеуплоидий во вДНК ($r_s = 0,6535$; $p = 0,0009$). Положительная связь между числом анеуплоидий во вДНК и возрастом женщин может указывать на то, что в тканях эмбрионов при повышении возраста женщины повышается число хромосомных аномалий, однако при этом происходит коррекция эмбрионального кариотипа, и клетки с аномальным кариотипом элиминируются. В настоящей работе нами был проведен анализ связи между числом хромосомных аберраций, обнаруженных во внутритропостной жидкости, ЭБ, ТЭ и в бластоцисте в целом, и морфологическими характеристиками бластоцисты, представленными в соответствии с классификацией Гарднера [3]. Статистически значимая связь между числом хромосомных аномалий в бластоцисте в целом и степенью её зрелости ($N = 6,517$; $p = 0,089$) не выявлена. Тем не менее, были обнаружены статистически значимые различия между группами бластоцист по степени зрелости и числом хромосомных аберраций в ЭБ ($N = 10,597$; $p = 0,0141$) и ТЭ ($N = 8,122$; $p = 0,0436$). Таким образом, было отмечено, что у хорошо развивающихся бластоцист большого размера (группы 4-5, по классификации Гарднера) в ЭБ и ТЭ присутствует меньше анеуплоидий. При аналогичном анализе, проведенном для вДНК, напротив, была отмечена тенденция к увеличению числа хромосом-

ных аномалий во внутритропостной жидкости при переходе от 3 к 5 стадии развития бластоцисты ($N = 3,253$; $p = 0,3542$). По всей видимости, именно вДНК является причиной отсутствия статистически значимой связи между числом хромосомных аномалий в бластоцисте в целом и ее стадией развития. Полученные данные указывают на то, что эмбрионы, у которых меньше хромосомных аберраций в тканях, но больше во внутритропостной жидкости развиваются лучше. Данное заключение подтверждают результаты Rule с соавт., которые продемонстрировали положительную корреляцию между концентрацией вДНК и эмбриональной морфологией [2]. Нами была оценена связь между числом анеуплоидий в образцах и группами бластоцист с разными характеристиками ЭБ (группа «А» и «В» по классификации Гарднера). В группе «А» ЭБ был представлен большим количеством компактно уложенных клеток и хорошо различим, а в группе «В» ЭБ отличался более свободной группировкой клеток, но также был хорошо различим. Было показано, что статистически значимо группы «А» и «В» отличаются по числу анеуплоидий во вДНК ($U = 14,5$; $p = 0,0352$), хотя статистически значимых различий между числом анеуплоидий в ЭБ ($U = 60,5$; $p = 0,5992$) и в ТЭ ($U = 69,5$; $p = 0,5934$) в группах бластоцист с разными характеристиками ЭБ не было выявлено. Таким образом, более качественные по морфологии ЭБ эмбрионы имеют больше аномалий во внутритропостной жидкости, так как в этой группе элиминация клеток с аномальным кариотипом происходит эффективнее.

Выводы

При повышении возраста женщины в клетках эмбрионов увеличивается число хромосомных аномалий, но в результате интенсивной коррекции эмбрионального кариотипа анеуплоидные клетки погибают. Выявленная тенденция к увеличению числа анеуплоидий во внутритропостной жидкости при переходе от 3 к 5 стадии развития бластоцисты поддерживает гипотезу о наличии механизмов самокоррекции эмбрионального кариотипа на преимплантационном этапе развития.

Литература/References

1. Rule K., Chosed R.J., Chang T.A. et al. Relationship between blastocoel cell-free DNA and day-5 blastocyst morphology. *J Assist Reprod Genet.* 2018; 35(8): 1497–1501. doi: 10.1007/s10815-018-1223-4.
2. Gardner D.K., Schoolcraft W.B. Culture and transfer of human blastocysts. *Current opinion in obstetrics and gynecology.* 1999; 11(3): 307.
3. Barbash-Hazan S., Frumkin T., Malcov M. et al. Preimplantation aneuploid embryos undergo self-correction in correlation with their developmental potential. *Fertil Steril.* 2009; 92(3): 890–896. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.07.1761.



Хромосомные аномалии при кистозных образованиях брюшной полости у плода в первом триместре беременности

Новикова И.В., Венчикова Н.А.

Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя» Министерства здравоохранения Республики Беларусь
220053, г. Минск, ул. Орловская, д. 66

Проведено изучение частоты и спектра хромосомных аномалий (ХА) у 76 плодов при кистозных образованиях брюшной полости и малого таза, выявленных при пренатальном скрининге в I триместре беременности. Спектр патологических образований составили киста холедоха, атрезии двенадцатиперстной и прямой кишки/ануса, дисгенезия клоаки и мегацистис. Наряду с атрезиями желудочно-кишечного тракта и мочевых путей, в I триместре выявляются и другие патологические состояния: гетеротаксия и правосторонняя диафрагмальная грыжа. Частота ХА при выявлении у плода кистозных образований брюшной полости и малого таза в ранние сроки беременности в среднем составляет 23,7%.

Ключевые слова: хромосомные аномалии, кисты брюшной полости, плод, мегацистис, I триместр беременности

Для цитирования: Новикова И.В., Венчикова Н.А. Хромосомные аномалии при кистозных образованиях брюшной полости у плода в первом триместре беременности. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 51-52.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.51-52

Автор для корреспонденции: Новикова Ирина Валентиновна; **e-mail:** i.novikova@mail.ru

Финансирование: грант Президента Республики Беларусь

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Chromosomal abnormalities in the first-trimester fetuses with abdominal cysts

Novikova I.V., Venchikova N.A.

Republican Scientific-Practical Centre "Mother and Child"
Orlovskaya st. 66, 220053, Minsk, Belarus

First-trimester aborted fetuses with abdominal cysts (n=76) have been examined at anatomic-pathological investigation. A final diagnosis included choledochal cyst, duodenal and anorectal atresia, cloacal disgenesis syndrome and megacystis. Besides gastrointestinal atresia and lower urinary tract obstructions heterotaxy and diaphragmatic hernia have been revealed at morphological examination. In total 23,7% of fetal abdominal cysts in the first trimester of gestation were associated with chromosomal abnormalities.

Keywords: chromosomal abnormality, abdominal cysts, fetus, megacystis, first trimester.

For citation: Novikova I.V., Venchikova N.A. Chromosomal abnormalities in the first-trimester fetuses with abdominal cysts. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 51-52 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.51-52

Corresponding author: Novikova Irina Valentinovna; **e-mail:** i.novikova@mail.ru

Funding. Grant of the President of the Republic of Belarus

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

Accepted: 20.05.2020

С появлением сканеров экспертного класса и расширением возможностей пренатальной ультразвуковой диагностики появилась возможность раннего выявления атрезий желудочно-кишечного тракта и обструкций мочевых путей, проявляющихся в I триместре беременности анэхогенными, кистозными образованиями в брюшной полости и области малого таза плода. Абдоминальные кисты, мегацистис или pelvic translucency – мар-

кер аноректальной атрезии, представляют проблему при медико-генетическом консультировании и ведении беременности вследствие различной этиологии и эволюции [1, 2].

Целью данного исследования явилось определение частоты и спектра хромосомных аномалий (ХА), проявляющихся кистозными образованиями брюшной полости и области малого таза плода в I триместре беременности.

Материал и методы

Материалом послужили 76 плодов с кистозными образованиями брюшной полости и малого таза, выявленными в I триместре при ультразвуковом исследовании (УЗИ) беременных в РНПЦ «Мать и дитя» в 2007–2018 гг. Кариотип получен при цитогенетическом исследовании фибробластов биоптата ворсин хориона или постабортного материала.

Результаты

В зависимости от локализации, при УЗИ в I триместре кистозные образования расценивались как кисты брюшной полости (КБП) (22 случая) и мегацистис (54). Спектр образований, расцениваемых как КБП, составили кистозные образования области печени (киста холедоха), верхнего этажа брюшной полости (атрезия двенадцатиперстной кишки) и малого таза (атрезия прямой кишки/ануса) с признаками кишечной непроходимости. Наряду с обструкциями и атрезиями желудочно-кишечного тракта, в I триместре выявлялись и другие патологические состояния: гетеротаксия и правосторонняя диафрагмальная грыжа. Во всех 22 случаях, расцененных при УЗИ как КБП, максимальный диаметр кистозного образования не превышал 15 мм. Среди 19 случаев КБП с нормальным кариотипом было преобладание мужского пола в соотношении 13♂:6♀. Частота ХА в этой группе составила 13,6% (3/22), в т.ч. выявлены трисомия 18 (1 случай), трисомия по маркерной хромосоме (1) и триплоидия (1). В 77,3% случаев беременности плодами с КБП закончились прерыванием в I-II-ом триместрах, а в каждом пятом случае (22,7%) при динамическом наблюдении наступило разрешение кистозного образования. В этих случаях при контрольных УЗИ в 16–19,5 недель гестации определялись кальцинаты. 71,0% (54/76) случаев составили кистозные образования, расцениваемые как мегацистис. В 29,3% случаев мегацистиса дополнительно при УЗИ выявлялись сопутствующие пороки развития: кисты пуповины, омфало-

целе, полидактилия/лучевая косорукость/аномалии конечностей, аномалии позвоночника /spina bifida, единственная артерия пуповины и расщелина губы и неба. В большинстве случаев (39/54) мегацистиса кариотип был нормальный, с преобладанием мужского пола в соотношении 30♂:9♀. Частота ХА составила 27,8% (15/54): трисомия 13 (7 случаев), трисомия 18 (3), трисомия 21 (1), моносомия X (1) и 3 случая хромосомного дисбаланса – der(1), der (13;14) и inv(1). Частота ХА была выше при продольном диаметре мегацистиса до 15 мм, в этой группе она составила 38,7% (12/31). При продольном диаметре более 15 мм частота ХА была 5,26% (1/19). В 48,1% (26/54) случаев мегацистиса беременность закончилась прерыванием в I-II-ом триместрах, в 3 случаях – спонтанными абортми. Разрешение мегацистиса у плодов с нормальным кариотипом и мегацистисом менее 15 мм было отмечено в 5 (33,3%) случаях, в которых беременность закончилась рождением детей без пороков моче-выводящей системы.

Выводы

В каждом 4-ом случае (23,7%) кистозные образования брюшной полости и малого таза в ранние сроки беременности связаны с ХА. Таким образом, кистозные аномалии (мегацистис) могут быть маркером хромосомной патологии при проведении ультразвукового скрининга в I триместре беременности. Частота ХА выше при продольном диаметре мегацистиса до 15 мм, где она составляет 38,7%, при продольном диаметре более 15 мм частота ХА – 5,26%.

Литература/References

1. Liao A.W., Sebire N.J., Geerts L., Cicero S., Nicolaidis K.H. Megacystis at 10-14 weeks of gestation: Chromosomal defects and outcome according to bladder length. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2003; 21(4): 338–341.
2. Khalil A., Cooke P.C., Mantovani E., Bhide A., Papageorghiou A.T., Thilaganathan B. Outcome of first-trimester fetal abdominal cysts: cohort study and review of the literature. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2014; 43: 413-419.

Клинический случай пренатального выявления трисомии 2

Талантова О.Е., Серебрякова Е.А., Малышева О.В., Тихонов А.В.,
Шабанова Е.С., Ефимова О.А., Чиряева О.Г., Прохорова В.С., Готов А.С.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», Санкт-Петербург
199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д.3

Представлен редкий случай трисомии 2, подтверждённый пренатально на сроке 18/19 недель беременности методом хромосомного микроматричного анализа (arrayCGH) ворсин плаценты.

Ключевые слова: трисомия 2, пренатальная диагностика, хромосомный микроматричный анализ (arrayCGH), синдром задержки развития плода (СЗРП), маловодие, долихоцефалия, вентрикуломегалия

Для цитирования: Талантова О.Е., Серебрякова Е.А., Малышева О.В., Тихонов А.В., Шабанова Е.С., Ефимова О.А., Чиряева О.Г., Прохорова В.С., Готов А.С. Клинический случай пренатального выявления трисомии 2. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 53-54.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.53-54

Автор для корреспонденции: Талантова О.Е.; e-mail: olga_talantova@mail.ru

Финансирование: Финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Поступила: 20.05.2020

A clinical case of prenatal trisomy 2

Talantova O.E., Serebryakova E.A., Malysheva O.V., Tikhonov A.V.,
Shabanova E.S., Efimova O.A., Chiryayeva O.G., Prokhorova V.S., Glotov A.S.

D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology
Mendeleev line, 3, 199034, St-Petersburg, Russia

A rare case of trisomy 2 is presented. Prenatally at 18/19 weeks of pregnancy, confirmed by the method of chromosome microarray analysis (arrayCGH) of placental villi.

Key words: trisomy 2, prenatal diagnosis, chromosomal microarray analysis (arrayCGH), fetal growth retardation syndrome (FGR), oligohydramnios, dolichocephaly, ventriculomegaly.

For citation: Talantova O.E., Serebryakova E.A., Malysheva O.V., Tikhonov A.V., Shabanova E.S., Efimova O.A., Chiryayeva O.G., Prokhorova V.S., Glotov A.S. A clinical case of prenatal trisomy 2. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 53-54 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.53-54

Author for correspondence: Talantova O.E.; e-mail: olga_talantova@mail.ru

Funding: No financial support has been provided for this work.

Conflict of interest: The authors report no conflicts of interest.

Accepted: 20.05.2020

Введение

Трисомия по хромосоме 2 в ходе комплексной дородовой диагностики на стадии внутриутробного развития встречается крайне редко. Полная трисомия 2 летальна. Её выявляют в 1–6% случаев самопроизвольных аборт в первом триместре [1]. По данным литературы зарегистрированы единичные случаи мозаичной формы трисомии по хромосоме 2, которые сопровождаются изменением биохимических маркеров хромосомной патологии, а также ультразвуковыми маркерами и врождёнными пороками развития (ВПР), такими как синдром задержки развития

плода (СЗРП), олигогидрамнион, врожденные пороки сердца, вентрикуломегалия, расщелина позвоночника и гидронефроз [2]. Помимо этого, зарегистрирован случай рождения ребенка с однородительской гетеродисомией по хромосоме 2. Пренатально были выявлены ультразвуковые особенности: СЗРП и олигогидрамнион. У новорожденного с ОРД отмечалась гипоспадия и признаки, являющиеся последствиями олигогидрамниона. При биопсии ворсин плаценты был обнаружен мозаицизм по трисомии 2. Ребенок умер вскоре после рождения от тяжелой легочной гипоплазии [3].

Клиническое наблюдение

Пациентка 29 лет обратилась в медико-генетический центр ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта» за консультацией к врачу акушеру-гинекологу по пренатальной диагностике. Настоящая беременность вторая, первая беременность закончилась срочными родами, родился здоровый мальчик без особенностей развития. Хронических заболеваний и профессиональных вредностей беременная не имеет. Брак не родственник. Семейный анамнез супругов не отягощен. Из анамнеза беременности известно, что ультразвуковое скрининговое исследование в I триместре проведено при сроке 11 недель 5 дней. При этом исследовании: копчико-теменной размер плода (КТР) 54,0 мм, толщина воротникового пространства (ТВП) – 1,90 мм, носовая кость – присутствует. По данным биохимического скрининга: свободная бета-субъединица ХГЧ составила 3,490 МоМ, РАРР-А–0,366 МоМ. Расчетный риск по трисомии 21 составил 1:24 – высокий. По желанию пациентки проведен таргетный неинвазивный пренатальный скрининг методом секвенирования с подсчетом хромосомных фрагментов с целью исключения трисомий 13, 18, 21, а также моносомии X. В результате проведенного анализа были рассчитаны низкие риски для всех вышеперечисленных синдромов. Повторное ультразвуковое исследование (УЗИ) проведено в 13 недель 6 дней беременности: КТР – 79,6 мм. Отмечено увеличение толщины хориона. В остальном морфология плода выглядит типично. При проведении межскринингового УЗИ на сроке 16 недель 6 дней выявлено: СЗРП? 1 степени, симметричная форма; гиперэхогенный кишечник; затрудненная визуализация почек; увеличение толщины плаценты; выраженное маловодие.

С этими результатами беременная обратилась для проведения пренатального кариотипирования. При проведении УЗИ перед пренатальной диагностикой дополнительно выявлено: выраженная долихоцефалия и вентрикуломегалия. Учитывая выраженное маловодие, особенности строения плаценты, а также СЗРП невозможно было осуществить забор амниотической жидкости или пуповинной крови, ввиду чего был выбран метод плацентобиопсии с последующим проведением хромосомного микроматричного анализа. В результате молекулярно-генетического исследования ворсин плаценты была выявлена трисомия по хромосоме 2. В последующем проведено исследование плодного материала методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), в ходе которого исключен мозаицизм в тканях плаценты и обнаружен нормальный диплоидный набор в тканях плода. Предполагается проведение исследования на однородительскую дисомию по хромосоме 2 в материале плода.

Литература/ References

1. Chen C.P., Su Y.N., Chern S.R., Chen Y.T., Wu P.S., Su J.W., Pan C.W., Wang W. Mosaic trisomy 2 at amniocentesis: prenatal diagnosis and molecular genetic analysis. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2012; 51(4): 603–611.
2. Chen C.P., Chen Y.Y., Chern S.R., Wu P.S., Su J.W., Chen Y.T., Lee C.C., Chen L.F., Wang W. Prenatal diagnosis of mosaic trisomy 2 associated with abnormal maternal serum screening, oligohydramnios, intrauterine growth restriction, ventricular septal defect, preaxial polydactyly, and facial dysmorphism. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2013; 52(3):395–400.
3. Hansen W.F., Bernard L.E., Langlois S., Rao K.W., Chescheir N.C., Aylsworth A.S., Smith D.I., Robinson W.P., Barrett I.J., Kalousek D.K. Maternal uniparental disomy of chromosome 2 and confined placental mosaicism for trisomy 2 in a fetus with intrauterine growth restriction, hypospadias, and oligohydramnios. *PrenatDiagn.* 1997; 17(5): 443–450.

Пренатальная диагностика оро-фацио-дигитального синдрома I типа у плода с частичной моносомией Xp22.2

Минайчева Л.И., Сеитова Г.Н., Филиппова М.О., Кашеварова А.А., Скрыбин Н.А., Лопаткина М.Е., Яковлева Ю.С., Назаренко Л.П., Лебедев И.Н.

Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН 634050, г. Томск, Набережная реки Ушайки, 10

Представлен первый случай пренатальной диагностики оро-фацио-дигитального синдрома I типа (OMIM 311200) у плода с частичной моносомией Xp22.2. Причиной оро-фацио-дигитального синдрома I типа являются мутации в гене *OFDI*, случаи заболевания вследствие хромосомных микроделеций, затрагивающих ген *OFDI* встречаются редко. При ультразвуковом исследовании плода во втором триместре беременности выявлены врожденный порок развития головного мозга и множественные эхографические маркеры хромосомной и синдромальной патологии. Биологический образец плода (пуповинная кровь) получен в 21 неделю гестации посредством кордоцентеза. Молекулярно-цитогенетический анализ ДНК, выделенной из лимфоцитов пуповинной крови плода, с применением матричной сравнительной геномной гибридизации выявил частичную моносомию региона Xp22.2, размером 2,6 млн п.н.: arr[hg19] Xp22.2(11135472_13798048)x1. Наличие перестройки, а также ее *de novo* происхождение, подтверждено количественной ПЦР в режиме реального времени.

Ключевые слова: пренатальная диагностика, частичная моносомия Xp22.2, оро-фацио-дигитальный синдром

Для цитирования: Минайчева Л.И., Сеитова Г.Н., Филиппова М.О., Кашеварова А.А., Скрыбин Н.А., Лопаткина М.Е., Яковлева Ю.С., Назаренко Л.П., Лебедев И.Н. Пренатальная диагностика оро-фацио-дигитального синдрома I типа у плода с частичной моносомией Xp22.2. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 55-57

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.55-57

Автор для корреспонденции: Минайчева Лариса Ивановна; **e-mail:** larisa.minaycheva@medgenetics.ru

Финансирование. Исследование выполнено при финансовом обеспечении НИИ медицинской генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (регистрационный номер научной темы АААА-А19-119020890005-5).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Поступила: 20.05.2020

Prenatal diagnosis of oral-facial-digital type I syndrome in a fetus with partial monosomy of Xp22.2

Minaycheva L.I., Seitova G.N., Filippova M.O., Kashevarova A.A., Skryabin N.A., Lopatkina M.E., Yakovleva Y.S., Nazarenko L.P., Lebedev I.N.

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center RAS
Naberejnaya Ushaiki st., 10, Tomsk, 634050, Russia

The first case of prenatal diagnosis of type I oro-facio-digital syndrome (OMIM 311200) in fetus with partial monosomy Xp22.2 is presented. The cause of type I oro-facio-digital syndrome is mutations in the *OFDI* gene, cases of disease due to chromosomal microdeletions affecting the *OFDI* gene are rare. Ultrasound examination of the fetus in the second trimester of pregnancy revealed congenital defect of brain development and multiple echographic markers of chromosomal and syndrome pathology. An umbilical cord blood was obtained in 21 weeks of gestation by cordocentesis. aCGH revealed partial monosomy Xp22.2 at 2.6 Mb in size: arr [hg19] Xp22.2(11135472_13798048) × 1. The presence of microdeletion, as well as its *de novo* origin, was confirmed by the quantitative real time PCR. The use of high-resolution molecular cytogenetic analysis significantly expands the possibilities of syndrome monogenic pathology diagnosis in the prenatal period.

Key words: prenatal diagnosis, partial monosomy of Xp22.2, oral-facial-digital syndrome.

For citation: Minaycheva L.I., Seitova G.N., Filippova M.O., Kashevarova A.A., Skryabin N.A., Lopatkina M.E., Yakovleva Y.S., Nazarenko L.P., Lebedev I.N. Prenatal diagnosis of oral-facial-digital type I syndrome in a fetus with partial monosomy of Xp22.2. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 55-57 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.55-57

Corresponding author. Minaycheva L.I.; **e-mail:** larisa.minaycheva@medgenetics.ru

Funding. The study was carried out with the financial support of the Research Institute of Medical Genetics (registration no. АААА-А19-119020890005-5).

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

Accepted: 20.05.2020

Оро-фацио-дигитальный синдром I типа (ОФД I типа) – X-сцепленное доминантное заболевание, связанное с летальностью у мужских эмбрионов (ОМIM 311200, синонимы: рото-лице-пальцевой синдром типа 1, ротопальцевидной дизостоз, синдром Папийон-Леаж-Псома). Клинические проявления ОФД I: комплекс врожденных пороков развития (ВПР) лица (гипертелоризм, гипоплазия крыльев носа, микрогнатия), ротовой полости (расщелины губы/неба, альвеолярного отростка, мягкого неба), аномалии ушных раковин, рук (синдактилии, клино- и брахидактилии), центральной нервной системы (агенезия мозолистого тела, гидроцефалия), почек (поликистозная болезнь), психические нарушения, эпилепсия, умственная отсталость разной степени тяжести [1]. Причина заболевания – мутации в гене *OFDI* (*CXORF5*), который расположен в регионе Xp22.2 и кодирует центросомный белок, локализованный в базальных телах у основания цилиарной аксонемы, а также делеции в гене *OFDI* [2,3]. В двух случаях у пациентов с ОФД I типа сообщено о наличии хромосомных микроделетий, затрагивающих ген *OFDI* [4]. Сведений о пренатальной диагностике данного синдрома в доступной литературе нами не обнаружено.

Цель: провести пренатальную диагностику у плода с ВПР и эхографическими маркерами синдромальной патологии с использованием молекулярно-цитогенетических методов.

Материалы и методы

Беременной А. в 20,6 недель гестации проведено расширенное ультразвуковое исследование (УЗИ) с применением УЗ системы экспертного класса Биологический образец плода (пуповинная кровь) получен посредством кордоцентеза. Пренатальная молекулярно-цитогенетическая диагностика проведена с использованием хромосомного микроматричного анализа на ДНК-микрочипах SurePrint G3 Human CGH Microarray Kit, 8×60K (Agilent Technologies, США).

Результаты

При УЗИ плода в 20,6 недель гестации обнаружен ВПР головного мозга (частичная агенезия червя мозжечка и частичная агенезия мозолистого тела) и подозрение на наличие дефекта верхнего неба (готическое небо). Выявлены множественные эхографические маркеры хромосомной патологии: профиль плода уплощен, гипоплазия нижней челюсти, гипоплазия костей носа, увеличение толщины преназальных тканей, гипертелоризм, низкое расположение гипоплазированной

ных ушных раковин, укорочение длины фаланг пальцев обеих кистей (нельзя исключить брахидактилию). При медико-генетическом консультировании беременной риск хромосомной патологии плода и вероятность моногенной синдромальной патологии оценены как высокие. Проведена инвазивная пренатальная диагностика (кордоцентез), хромосомный анализ лимфоцитов пуповинной крови установил нормальный женский кариотип (не содержит числовых и видимых структурных нарушений хромосом). Молекулярно-цитогенетический анализ ДНК, выделенной из лимфоцитов пуповинной крови плода, с применением матричной сравнительной геномной гибридизации выявил частичную моносомию региона Xp22.2, размером 2,6 млн п.н.: $arr[hg19] Xp22.2(11135472_13798048) \times 1$. Наличие перестройки, а также ее *de novo* происхождение, подтверждено количественной ПЦР в режиме реального времени с использованием праймеров на последовательности генов *AMELX* и *EGFL6*, входящих в область перестройки. Согласно Базе данных DGV, в области делеции Xp22.2 находится 21 ген, включая гены структурных белков, микроРНК и некодирующих РНК, из которых 3 гена патогенетически значимы и являются причиной ОФД I типа (*OFDI*), поздней спондилоэпифизарной дисплазии (*TRAPPC2*), несовершенного амелогенеза (*AMELX*). Учитывая результаты УЗИ плода и данные молекулярно-цитогенетического анализа, был поставлен диагноз: *частичная моносомия Xp22.2, оро-фацио-дигитальный синдром I типа*. Цитогенетический анализ не выявил числовых и видимых структурных нарушений хромосом в кариотипе супругов. При проведении молекулярно-цитогенетического анализа с применением матричной сравнительной геномной гибридизации у обоих супругов изменений числа копий хромосомного региона Xp22.2 не выявлено. Таким образом, с учетом результатов хромосомного микроматричного анализа и ПЦР в режиме реального времени, частичная моносомия Xp22.2, выявленная у плода, является мутацией *de novo*. Семейей было принято решение пролонгировать беременность.

Выводы

Диагностика моногенных синдромов сложна и в пренатальный период особенно затруднительна. Пренатальное УЗИ позволяет обнаружить у плода ВПР эхографические маркеры врожденных и наследственных заболеваний, однако возможности данного метода исследования ограничены, и некоторые признаки и аномалии развития могут быть не обнаружены в определенный срок гестации. Применение современных методов молекулярно-цитогенетического анализа позволяет уста-



новить диагноз в случае, когда причиной выявленных проявлений моногенного синдрома ВПР являются микроструктурные хромосомные нарушения. Точный диагноз позволяет эффективно провести медико-генетическое консультирование, обоснованно оценить прогноз.

Литература/References

1. Macca M., Franco B. The molecular basis of oral-facial-digital syndrome, type 1. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2009; 151C(4): 318–325.
2. Romio L., Fry A.M., Winyard P.J., Malcolm S., Woolf A.S., Feather S.A. OFD1 is a centrosomal/basal body protein expressed during mesenchymal-epithelial transition in human nephrogenesis. *J Am Soc Nephrol.* 2004; 15(10): 2556–2568.
3. Thauvin-Robinet C., Franco B., Saugier-veber P., et al. Genomic deletions of *OFD1* account for 23% of oral-facial-digital type 1 syndrome after negative DNA sequencing. *Hum Mutat.* 2009; 30(2): E320–E329.
4. Bisschoff I.J., Zeschnigk C., Horn D., et al. Novel mutations including deletions of the entire *OFD1* gene in 30 families with type 1 orofacioidigital syndrome: a study of the extensive clinical variability. *Hum Mutat.* 2013; 34(1): 237–247.



Медико-генетическое консультирование пациентов с абберациями половых хромосом у плода

Тарасова Ю.А.¹, Гнетецкая В.А.¹, Ижевская В.Л.², Мельникова Л.Л.¹

1 — Медико-генетический центр группы компаний «Мать и дитя»
127015, Москва, ул. Большая Новодмитровская, д.23, стр. 2

2 — ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»
115522, Москва, ул. Москворечье, д.1

Распространение НИПТ с оценкой риска аббераций половых хромосом привело к увеличению количества пациентов, нуждающихся в генетическом консультировании в отношении этих заболеваний. Анализ факторов, влияющих на репродуктивный выбор семьи, необходим для улучшения качества предоставляемой семье информации.

Ключевые слова: пренатальная диагностика, НИПТ, анеуплоидии половых хромосом, медико-генетическое консультирование.

Для цитирования: Тарасова Ю.А., Гнетецкая В.А., Ижевская В.Л., Мельникова Л.Л. Медико-генетическое консультирование пациентов с абберациями половых хромосом у плода. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 58-59.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.58-59

Автор для корреспонденции: Тарасова Ю. А.; e-mail: tarasova.gen@gmail.com

Финансирование. Исследование инициативное, финансирование не оказывалось.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Genetic counselling for patients with fetal sex chromosome aberrations

Tarasova J.A.¹, Gnetetskaya V.A.¹, Izhevskaya V.L.², Melnikova L.L.¹

1 — Medical Genetics center, Group of companies «Mother and child»
Bolshaya Novodmitrovskaya st., 23, bld. 2, 127015, Moscow, Russia

2 — Research Centre for Medical Genetics
Moskvorechye st., 1, 115522, Moscow, Russia

The spread of NIPTs with risk assessment of sex chromosome aberrations has led to an increase in the number of patients requiring genetic counselling for these pathologies. Analysis of factors influencing family reproductive choices is necessary to improve the quality of information provided to families.

Keywords: prenatal diagnosis, NIPT, sex chromosome aneuploidy, genetic counseling.

For citation: Tarasova J.A., Gnetetskaya V.A., Izhevskaya V.L., Melnikova L.L. Genetic counselling for patients with fetal sex chromosome aberrations. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 58-59 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.58-59

Correspondence author: Tarasova J.A., e-mail: tarasova.gen@gmail.com

Funding: proactive research, no funding provided

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

Accepted: 20.05.2020

Введение

Широкое применение неинвазивного пренатального теста (НИПТ) с высокой чувствительностью в отношении численных аномалий половых хромосом привело к повышению их выявляемости. Однако фенотипические проявления анеуплоидий половых хромосом переменны, в связи с чем особое значение приобретает корректное и полное как до-, так и послетестовое консультирование беременных женщин.

Целью данной работы является оценка влияния различных факторов на репродуктивный выбор семьи.

Материалы и методы

На первом этапе были проанализированы медицинские данные 49 пациенток, сдавших НИПТ в ГК «Мать и дитя» в период с 01.01.2016 по 31.12.2018 г., получивших результат с высоким или неопределенным риском анеуплоидий половых хромосом и прошедших медико-генетическое консультирование. Был выявлен высокий риск следующих аномалий: 45,X — 25 случаев, 47,XXX — 2 случая, 47,XXY — 14 случаев, 47,XYY — 3 случая, 48,XXYY — 1 случай. У 4 пациенток риск патологии половых хромосом не был определен. На втором этапе работы проведен анализ исходов 47 беременностей с выявленными

О компании Takeda Pharmaceutical Company Limited

Takeda Pharmaceutical Company Limited — глобальная биофармацевтическая компания, приверженная ценностям, с фокусом на научные разработки.

Компания, с головным офисом в Японии, занимает лидирующие позиции на фармацевтическом рынке мира. Takeda стремится заботиться о здоровье и будущем пациентов, используя последние достижения науки для создания инновационных лекарственных средств. Научно-исследовательская деятельность компании направлена на разработку новых препаратов в ряде терапевтических областей: онкологии, гастроэнтерологии, неврологии и лечении редких заболеваний. Целевые инвестиции осуществляются также в разработку вакцин и препаратов плазмы крови. В фокусе внимания компании — разработка инновационных лекарственных средств, способствующих изменению жизни пациентов.

Мы создаём передовые методы лечения на объединённой научно-исследовательской платформе компании, формируя перспективный портфель продуктов. Наши сотрудники, работающие более чем в 80 странах и регионах мира, преданы идее улучшения качества жизни пациентов.

ООО «Такеда Фармасьютикалс» («Такеда Россия») входит в состав Takeda Pharmaceutical Company Limited, Осака, Япония. Центральный офис расположен в Москве. Более подробную информацию о «Такеда» в России вы можете найти на сайте: www.takeda.com/ru-ru.

Better Health,
Brighter Future



при инвазивной пренатальной диагностике (ИПД) анеуплоидиями половых хромосом в тот же период. Показаниями к ИПД явились ЭХО-маркеры хромосомной патологии плода (22 случая), результаты НИПТ (18 случаев), результаты НИПТ и наличие ЭХО-маркеров хромосомной патологии плода (4 случая), и настойчивое желание пациентки (2 случая). В 2 наблюдениях диагностирована неразвивающаяся беременность. 45 пациенткам был проведен амниоцентез, амниоциты исследовались методами стандартного цитогенетического кариотипирования и/или флюоресцентной гибридизации *in situ*. Были выявлены следующие анеуплоидии: 45,X – 30 наблюдений, 47,XXY – 13 наблюдений, 47,XYY – 2 наблюдения и по одному наблюдению 47,XXX, 48,XXYY и 47,XYY.

Также проводилось анонимное анкетирование 39 практикующих акушеров-гинекологов. Анкета состояла из одного вопроса: «К вам обратилась пациентка с диагнозом патологии половых хромосом у плода и спрашивает ваше мнение о протонировании или прерывании беременности». По каждой из выявленных на предыдущем этапе аномалий половых хромосом были предоставлены следующие варианты ответа: «Можно протонировать», «Показано прерывание», «Оставлю на усмотрение пациентки», «Не знаю». Первые два варианта ответа оценивались как директивные, вторые два – как недирективные.

Результаты

При консультировании по данным НИПТ пациентка информировалась об основных характеристиках предполагаемой анеуплоидии, возможностях и ограничениях ИПД, а также риске осложнений. На основании полученных данных пациентками были приняты следующие решения: 35 пациенток согласились на ИПД (71,5%), 12 от проведения ИПД отказались (24,5%). В зависимости от типа анеуплоидии были получены следующие результаты: 45,X – 19 пациенткам проведена ИПД, 4 от ИПД отказались; 47,XXY – 4 согласия на ИПД, 3 отказа; 47,XYY – проведена 1 ИПД, 2 отказа; 47,XXX – 1 ИПД, 1 отказ, 48,XXYY – проведена ИПД. Из 4 пациенток, у которых риск анеуплоидий половых хромосом не был определен, в 2 случаях была проведена ИПД в связи с настойчивым желанием пациенток, в 2 случаях от ИПД было решено воздержаться. Таким образом, большая часть пациенток вне зависимости от типа предполагаемой патологии предпочла пренатальное кариотипирование.

На втором этапе анализировались факторы, влияющие на решение пациентки протонировать или прервать беременность при подтверждении диагноза. По данным литературы, наиболее значимыми являются следующие факторы: тип анеуплоидии, возраст пациентки, особенности послетестового консультирования [1], а также показания к ИПД [2]. При анализе исходов

беременности в зависимости от типа анеуплоидии были получены следующие результаты: при 45,X 22 беременности были прерваны, 6 закончились родами; при 47,XXY прервано 7 беременностей, 6 протонировано; при 47,XXX и 47,XYY все беременности завершились родами (3 наблюдения) и пациентка с кариотипом плода 48,XXYY приняла решение беременность прервать. Прослеживается тенденция к прерыванию беременности при наличии постоянных патологических фенотипических особенностей, характерных для выявленной анеуплоидии, в то время как при переменном или доброкачественном фенотипе беременность чаще протонирована. Из 25 женщин младше 35 лет в 21 случае беременность была прервана, в 4 случаях – протонирована. Среди женщин 35 лет и старше соотношение было другим: 11 родов, 9 прерываний беременности (всего 21 наблюдение). Наличие ЭХО-маркеров хромосомной патологии в качестве показания к ИПД ассоциировано с большим количеством прерываний беременности: из 26 наблюдений 21 пациентка приняла решение беременность прервать. Было показано, что при послетестовом консультировании семьи акушером-гинекологом решение о прерывании беременности принималось чаще, чем при консультировании генетиком [3].

Одним из факторов, влияющих на репродуктивный выбор, является директивность консультирования [4]. Согласно результатам нашего анкетирования, вне зависимости от типа аномалии, более половины из опрошенных акушеров-гинекологов дали ответы директивного характера (69% при 45,X и 47, XXY и 59% при 48, XXYY, 47, XXX, 47, XYY). Тщательная оценка факторов, влияющих на репродуктивный выбор семьи, постоянная актуализация информации, взаимодействие врачей смежных специальностей позволяют улучшить качество консультирования семей и дать возможность принять решение, в наибольшей степени отвечающее потребностям и желаниям пациентов.

Литература/References

1. Jeon, K. C., Chen, L.-S., & Goodson, P. Decision to abort after a prenatal diagnosis of sex chromosome abnormality: a systematic review of the literature. *Genetics in Medicine* 2011; 14(1): 27–38
2. Nishiyama M. et al. Factors affecting parental decisions to terminate pregnancy in the presence of chromosome abnormalities: a Japanese multicenter study. *Prenat Diagn.* 2016 Dec;36(12):1121–1126.
3. Hall S, Marteau TM, Limbert C, Reid M, Feijoo M, Soares M, et al. Counselling following the prenatal diagnosis of Klinefelter syndrome: comparisons between geneticists and obstetricians in five European countries. *Community Genet* 2001;4:233– 8.
4. Sagi M, Meiner V, Reshef N, Dagan J, Zlotogora J. Prenatal diagnosis of sex chromosome aneuploidy: possible reasons for high rates of pregnancy termination. *Prenat Diagn.* 2001 Jun;21(6):461–5.

Опыт применения сравнительной геномной гибридизации в пренатальной диагностике

Гнетецкая В.А.¹, Тарасова Ю.А.¹, Кузнецова Е.С.¹, Ермакова М.А.¹, Ижевская В.Л.²

1 — Медико-генетический центр группы компаний «Мать и дитя»
127015, Москва, ул. Большая Новодмитровская, д.23, стр. 2

2 — ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»
115522, Москва, ул. Москверечье, д.1

Молекулярное кариотипирование в нашем исследовании показало увеличение выявляемости хромосомных aberrаций на 6,4% по сравнению с классическими цитогенетическими методами, однако для определения и/или уточнения природы микроскопических или субмикроскопических аномалий и для выявления сбалансированных перестроек необходимо их совместное применение.

Ключевые слова: пренатальная диагностика, молекулярное кариотипирование, сравнительная геномная гибридизация, микроперестройки.

Для цитирования: Гнетецкая В.А., Тарасова Ю.А., Кузнецова Е.С., Ермакова М.А., Ижевская В.Л. Опыт применения сравнительной геномной гибридизации в пренатальной диагностике. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 60-61.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.60-61

Автор для корреспонденции: Гнетецкая В.А., **e-mail:** v.gnetetskaya@mcclinics.ru

Финансирование: исследование инициативное, финансирование не оказывалось.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Comparative genomic hybridization in prenatal diagnosis

Gnetetskaya V.A.¹, Tarasova J.A.¹, Kuznetsova E.S.¹, Ermakova M.A.¹, Izhevskaya V.L.²

1 — Medical Genetics center, Group of companies «Mother and child»
Bolshaya Novodmitrovskaya st., 23, bld. 2, 127015, Moscow, Russia

2 — Research Centre for Medical Genetics
Moskvorechye st., 1, 115522, Moscow, Russia

Molecular karyotyping in our study showed a 6.4% increase in the detectability of chromosomal aberrations compared to classical cytogenetic methods, but their combined application is necessary to determine and/or clarify the nature of microscopic or submicroscopic anomalies and to identify balanced rearrangements.

Keywords: prenatal diagnosis, array-based comparative genomic hybridization, microdeletion, microduplication.

For citation: Gnetetskaya V.A., Tarasova J.A., Kuznetsova E.S., Ermakova M.A., Izhevskaya V.L. Comparative genomic hybridization in prenatal diagnosis. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 60-61 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.60-61

Correspondence author: Gnetetskaya V.A., **e-mail:** v.gnetetskaya@mcclinics.ru

Funding: proactive research, no funding provided

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

Accepted: 20.05.2020

Введение

Новые высокочувствительные молекулярно-генетические методы выявления хромосомной патологии плода, появившиеся в последнее десятилетие, кардинально изменили подход к медико-генетическому консультированию пациентов. Молекулярное кариотипирование позволяет обнаружить микроперестройки хромосом у 6 % плодов с УЗ отклонениями у 1% плодов без структурных аномалий и нормальным кариотипом [1]. До 2014 г. для пренатальной

диагностики хромосомных аномалий мы применяли стандартное цитогенетическое исследование метафазных пластинок и флуоресцентную гибридизацию in situ (FISH). Инвазивная пренатальная диагностика проводилась пациенткам группы высокого риска хромосомных аномалий (по данным биохимического или комбинированного скрининга, в связи с возрастом пациентки более 35 лет, при наличии УЗ-маркеров хромосомной патологии плода или по данным семейного анамнеза), а также по желанию пациентки.

Материалы и методы

В 2014 г. мы начали применять сравнительную геномную гибридизацию на микрочипах (aCGH - array-based comparative genomic hybridization). При выявлении увеличения толщины воротникового пространства плода (ТВП) более 2,5 мм и/или наличии других УЗ-маркеров хромосомной патологии при проведении аспирации ворсин хориона или амниоцентеза на первом этапе проводилось кариотипирование плода и выделение ДНК, в случае нормального кариотипа обследование дополнялось aCGH. С 2013 г. по 2019 г. было проведено 4301 инвазивных диагностических процедур. В 3085 наблюдениях проведено стандартное цитогенетическое исследование, в 1216 – молекулярное кариотипирование. Для проведения сравнительной геномной гибридизации на микрочипах применялся модифицированный чип 60K CGXTM v2 (Agilent Technologies под брендом PerkinElmer), анализ данных проводился с помощью программного обеспечения Genoglyphix aCGH software.

Результаты

При цитогенетическом исследовании хромосомные aberrации были выявлены в 689 из 3085 наблюдений (22%): 519 – анеуплоидии аутосом, 52 – анеуплоидии половых хромосом, 27 – полиплоидии, 63 – структурные перестройки, 54 – мозаицизм по разным хромосомам. Среди 906 плодов с УЗ-маркерами и нормальным кариотипом в 58 наблюдениях выявлены микроперестройки хромосом методом aCGH, что составило 6,4%. В 20 наблюдениях одновременно присутствовали микроделеция и микродупликация, а в одном случае были детектированы одновременно две микроделеции. Выявленные перестройки были подтверждены с помощью цитогенетического исследования и/или FISH-анализа. Причиной подобных структурных перестроек у плода может быть сбалансированная хромосомная перестройка у одного из родителей. Только в 3 случаях о наличии сбалансированных изменений кариотипа одного из родителей было известно до проведения анализа, в остальных наблюдениях было рекомендовано кариотипирование обоих супругов после обследования плода. Четыре пары отказались от кариотипирования, в 13 случаях у одного из супругов были выявлены сбалансированные структурные перестройки соответствующих хромосом. В 4 наблюдениях был отмечен атипичный профиль, позволивший заподозрить триплоидию, в дальнейшем подтвержденную с помощью FISH-анализа. Варианты неясной клинической значимости получены в 7 случаях, в связи с чем родителям было рекомендовано проведение молекулярного кариотипирования для оценки патогенности данной

вариации числа копий (CNV – copy number variation). В 4 наблюдениях у одного из родителей была найдена CNV, аналогичная выявленной у плода, что позволило сделать вывод об отсутствии клинической значимости данного варианта.

Использование молекулярного кариотипирования позволило увеличить выявляемость хромосомных aberrаций на 6,4% по сравнению со стандартными методами, однако наибольшую эффективность в определении природы aberrации показывает комплексное применение различных технологий. Неинвазивный пренатальный тест (НИПТ) на 5 хромосом применяется в наших клиниках с 2015 г., что позволило снизить количество инвазивных диагностических процедур более чем в два раза. Несмотря на высокую стоимость, НИПТ был положительно воспринят пациентками благодаря безопасности и высокой точности детекции наиболее частых трисомий (с. Патау, с. Эдвардса и с. Дауна). Однако в отношении микроделеционных синдромов НИПТ показал высокий процент ложноположительных результатов: из 11 наблюдений с высоким риском по НИПТ только в 1 случае была подтверждена делеция 22q11. В большинство НИПТ включено ограниченное количество микроделеционных синдромов, и, следовательно, может быть пропущено большинство клинически значимых хромосомных аномалий, включая субмикроскопические. По данным Wang J и соавт. неинвазивные тесты пропускают до 30% хромосомных перестроек [2].

Заключение

Таким образом, при наличии УЗ-маркеров хромосомной патологии или пороков развития плода оптимальным методом обследования является инвазивная пренатальная диагностика с применением молекулярного кариотипирования. Согласно нашему опыту применения современных молекулярно-генетических методов диагностики хромосомной патологии плода, существование плацентарного мозаицизма не позволяет НИПТ заменить ультразвуковой скрининг плода и инвазивную пренатальную диагностику. Пренатальное медико-генетическое консультирование играет решающую роль в выборе оптимальной стратегии обследования при беременности.

Литература/References

1. Levy B., Wapner R. Prenatal diagnosis by chromosomal microarray analysis. *Fertility and Sterility*. 2018;2(109):201
2. Wang J., Wang Z.W., Zhou Q., et al. Lower detectability of non-invasive prenatal testing compared to prenatal diagnosis in high-risk pregnant women. *Ann Transl Med*. 2019;7(14):319.

Изучение хромосомных аномалий у плодов с УЗ-маркерами и пороками развития

Киевская Ю.К., Канивец И.В., Пьянков Д.В.

ООО Геномед

115093, г. Москва, Подольское шоссе, дом 8, стр. 5

Микроделеционные и микродупликационные синдромы выявляются примерно у 8% плодов с врожденными пороками развития (ВПР), однако диагностика патогенных CNVs в пренатальном периоде в данный момент не регламентирована и зачастую основана на технических возможностях лаборатории. Представлены результаты исследования плодов, которые имели ВПР и/или маркеры хромосомной патологии, установленные по УЗИ, методом хромосомного микроматричного анализа (ХМА). В выборке (N=1048) у 10,3% плодов были обнаружены числовые аномалии хромосом и у 7,4% плодов были выявлены патогенные хромосомные аномалии, которые невозможно выявить при стандартном кариотипировании из-за их малого размера. Результаты нашего анализа согласуются с данными литературы, демонстрирующей большую эффективность SNP-микроматриц по сравнению с классическими цитогенетическими методами.

Ключевые слова: хромосомный микроматричный анализ, анализ кариотипа, пренатальная диагностика, врожденные пороки развития.

Для цитирования: Киевская Ю.К., Канивец И.В., Пьянков Д.В. Изучение хромосомных аномалий у плодов с УЗ-маркерами и пороками развития. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 62–63.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.62-63

Автор для корреспонденции: Киевская Юлия Кирилловна; **e-mail:** jk@genomed.ru

Источники финансирования: исследование инициативное, финансирование не оказывалось.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

The study of chromosomal abnormalities in fetuses with ultrasound markers and malformations

Kievskaya J.K., Kanivets I.V., Pyankov D.V.

Genomed ltd

Podolskoe highway, 8, b. 5, 115093, Moscow, Russia

Microdeletion and microduplication syndromes are detected in approximately 8% of fetuses with congenital malformations, however, the diagnosis of pathogenic CNVs in the prenatal period, at the moment, is unregulated and often based on the technical capabilities of the laboratory. The thesis presents the result of a study of fetuses that had congenital malformations and / or markers of chromosomal abnormalities, determined by ultrasound, by the method of chromosomal microarray analysis. Using chromosomal microarray analysis in our sample (N = 1048), numerical chromosome abnormalities were detected in 10.3% of the fetuses and pathogenic chromosome imbalance was revealed in 7.4% of the fetuses, which cannot be detected by standard karyotyping. The results of our analysis are consistent with the data of the scientific literature, which demonstrates the greater efficiency of using SNP microarrays in comparison with classical cytogenetic methods.

Key words: chromosomal microarray analysis, karyotype, prenatal diagnosis, congenital malformations.

For citation: Kievskaya J.K., Kanivets I.V., Pyankov D.V. The study of chromosomal abnormalities in fetuses with ultrasound markers and malformations. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 62–63 (In Rus).

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.62-63

Corresponding author. Kievskaya Julia Kirillovna; **e-mail:** jk@genomed.ru.

Funding: proactive research, no funding provided

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

Accepted: 20.05.2020

Введение

По данным ВОЗ, доля хромосомных синдромов среди причин младенческой и детской смертности составляет 5–7%, среди детей с умствен-

ной отсталостью — 25–30%, у лиц с нарушениями полового развития — 25–27%. [1]

На сегодняшний день в России отсутствуют рекомендации по выбору теста первой линии при наличии

множественных врожденных пороков развития (ВПР) и/или аномалий развития у плода. Многие микроделеционные и микродупликационные синдромы сопровождаются пороками развития одной или нескольких систем органов. Например, пороки сердца наблюдаются примерно у 77% плодов с синдромом делеции 22q11.21, причем только в 11% пороки сердца сочетаются с расщелиной губы/неба. На сегодняшний день доступно несколько методик для диагностики анеуплоидий, таких как стандартное цитогенетическое исследование, MLPA (Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification), КФ-ПЦР (количественная флуоресцентная полимеразная цепная реакция), FISH, с помощью которых можно быстро получить ответ о количестве и структуре отдельных хромосом или региона, однако они не могут заменить полногеномный анализ во всех случаях, требующих инвазивной пренатальной диагностики. Поскольку стандартное кариотипирование предоставляет информацию о количестве и структуре хромосом, его можно использовать для выявления анеуплоидий, делеций, дупликаций, которые имеют размер от 8 млн п.н. [2]. Преимуществом метода является возможность определения сбалансированных хромосомных аномалий, однако у плодов с УЗ-маркерами и пороками развития они встречаются крайне редко.

Цель — изучить распространенность и спектр несбалансированных хромосомных аномалий (ХА) у плодов с УЗ-маркерами и ВПР с использованием хромосомного микроматричного анализа (ХМА).

Материалы и методы

Мы оценили эффективность ХМА для выявления анеуплоидий, вариаций числа копий участков ДНК в виде делеций и дупликаций/трипликаций у плодов, имеющих пороки развития и/или эхографические маркеры хромосомной патологии.

Результаты

Методом ХМА в нашей выборке (N=1048) у 10,3% плодов были обнаружены числовые аномалии хромосом. Среди выявленных анеуплоидий, самой частой была трисомия хромосомы 21 — 63% случаев, трисомия хромосомы 18 была обнаружена в 10% случаев, трисо-

мия хромосомы 13 и моносомия X — по 7,5%. Другие анеуплоидии, в том числе мозаичные формы, были выявлены в 12% случаев. У 7,4% плодов был выявлен патогенный хромосомный дисбаланс, который невозможно выявить методом стандартного кариотипирования. CNVs двух негомологичных хромосом составили 25,6%, множественный дисбаланс одной хромосомы — 16,6%, синдром ДиДжорджи диагностирован у 11,2% плодов, патогенные дупликации и делеции, не классифицируемые как синдром, — по 7,9%, синдром делеции 15q11.2 был выявлен у 6,7% плодов, синдром делеции 8p23.1 у 2,5%, синдром дупликации 22q11.2 выявлен у 2,5%, делеция 22q13 (Фелан-МакДермид синдром) — 2,5%. Остальные патогенные CNVs, которые выявлены в единичных случаях, в совокупности составили 16,6%

Выводы

Результаты нашего анализа согласуются с данными литературы [3], демонстрирующей большую эффективность в выявлении CNVs, метода SNP-микроматрицы по сравнению с классическими цитогенетическими методами.

Литература

1. Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Альбицкий В.Ю. Терлецкая Р.Н. Тенденции младенческой и детской смертности в условиях реализации современной стратегии развития здравоохранения РФ. Вестник Российской академии медицинских наук 2017; 72 (5): 375-382. doi: 10.15690/vramn867
2. Callaway J.L., Shaffer L.G., Chitty L.S., Rosenfeld J.A., Crolla J.A.. The clinical utility of microarray technologies applied to prenatal cytogenetics in the presence of a normal conventional karyotype: a review of the literature. Prenat Diagn 2013;33:1119-1123

References

1. Baranov A.A., Namazova-Baranova L.S., Albitsky V.Y., Terletskaya R.N. Tendentsii mladencheskoy i detskoy smertnosti v usloviyakh realizatsii sovremennoy strategii razvitiya zdravookhraneniya RF [Tendencies of infantile and child mortality in the conditions of implementation of the modern strategy of development of health care of the Russian Federation]. Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk [Annals of the Russian academy of medical sciences] 2017; 72 (5): 375-382. doi: 10.15690/vramn867 (In Russ.)
2. Callaway J.L., Shaffer L.G., Chitty L.S., Rosenfeld J.A., Crolla J.A.. The clinical utility of microarray technologies applied to prenatal cytogenetics in the presence of a normal conventional karyotype: a review of the literature. Prenat Diagn 2013;33:1119-1123



Хромосомный микроматричный анализ абортивного материала

Панченко Е.Г.¹, Канивец И.В.^{1,2}, Романова И.И.^{1,3}, Киевская Ю.К.¹, Кудрявцева Е.В.^{1,4}, Пьянков Д.В.¹, Коростелев С.А.¹

- 1 — Медико-генетический центр «Геномед»
115093, г. Москва, Подольское ш., 8 корпус 5
- 2 — ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» МЗ РФ
123242, г. Москва, Баррикадная ул., 2/1, стр. 1
- 3 — ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»
420008, Республика Татарстан, г. Казань, Кремлевская улица, 18
- 4 — ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет»
620014, Екатеринбург, ул. Репина, 3.

Цель исследования – оценить распространенность и типы хромосомных аномалий (ХА) в абортивном материале за период с 2015 по 2019 гг. Методом хромосомного микроматричного анализа был исследован 2201 образец ДНК, выделенной из абортивного материала при неразвивающейся беременности. ХА были обнаружены в 49,57% случаев, из них анеуплоидии, в том числе нескольких хромосом и мозаичные формы, составляют 79,65%, триплоидия – 10,72%, другие ХА, возможно имеющие клиническое значение, – 8,62%, тетраплоидия – 1,01%. Таким образом, хромосомный микроматричный анализ может быть рекомендован как рутинный метод для поиска несбалансированных ХА в абортивном материале при невынашивании беременности.

Ключевые слова: хромосомный микроматричный анализ, абортивный материал, невынашивание беременности

Для цитирования: Панченко Е.Г., Канивец И.В., Романова И.И., Киевская Ю.К., Кудрявцева Е.В., Пьянков Д.В., Коростелев С.А. Хромосомный микроматричный анализ абортивного материала. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 64-65.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.64-65

Автор для корреспонденции: Панченко Елизавета Григорьевна; **e-mail:** panchenko@genomed.ru

Финансирование: Финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Поступила: 20.05.2020

The chromosomal microarray analysis of abortive material in pregnancy loss

Panchenko E. G.¹, Kanivets I. V.^{1,2}, Romanova I. I.^{1,3}, Kievskaya Yu. K.¹, Kudryavtseva E. V.^{1,4}, Pyankov D. V.¹, Korostelev S. A.¹

- 1 — Genetic Center «Genomed» LTD
Podolsk sh., 8, Building 5, 115093, Moscow, Russia
- 2 — Russian medical Academy of continuing professional education of the Ministry of health of the Russian Federation
Barrikadnaya Str., 2/1, p.1, 123242, Moscow, Russia
- 3 — Kazan (Volga region) Federal University
Kremlin Str., 18, 420008, Kazan, Republic of Tatarstan, Russia
- 4 — Ural State Medical University
Repin St., 3, 620014, Yekaterinburg, Russia

Study objective is to assess the prevalence and pattern of chromosomal abnormalities (CAs) in products of conception (POC) for the period from 2015 to 2019. Materials and Methods: 2201 samples of POC were studied by the chromosomal microarray analysis. Study Results: CAs were detected in 49.57% of cases, of which aneuploidy, including several chromosomal and mosaic forms, were detected in 79.65%, triploidy – 10.72%, other CAs with possible clinical significance – 8.62%, tetraploidy – 1.01%. Conclusion: chromosomal microarray analysis can be recommended as a routine method for searching of unbalanced CAs in POC.

Keywords: chromosome microarray analysis, POC, miscarriage, chromosomal abnormality.

For citation: Panchenko E. G., Kanivets I. V., Romanova I. I., Kievskaya Yu. K., Kudryavtseva E. V., Pyankov D. V., Korostelev S. A. The chromosomal microarray analysis of abortive material in pregnancy loss. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 64-65 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.64-65

Corresponding author: Elizaveta G. Panchenko, e-mail panchenko@genomed.ru

Funding: No financial support has been provided for this work.

Conflict of interest: The authors report no conflicts of interest.

Accepted: 20.05.2020

Невынашивание беременности (НБ) является актуальной проблемой и встречается с частотой от 15–25% до 55%, достигая в первом триместре 80% [1]. Привычная ранняя потеря беременности (ППБ) наблюдается в 2–5% случаев [2]. Хромосомные аномалии (ХА) являются причиной НБ в 50–60% случаев [1]. При ППБ аномальный кариотип выявляют в 41% образцов abortивного материала [3]. Выявление причин невынашивания беременности позволяет избежать необоснованного назначения дополнительных обследований, а также выявить значимые факторы риска потери следующей беременности.

Цель: оценить распространенность и структуру ХА в abortивном материале за период с 2015 по 2019 гг.

Материалы и методы

Нами было проведено исследование 2201 образца ДНК, выделенной из ворсин хориона, а также тканей плодов при неразвивающихся беременностях. Исследование ДНК проводилось методом хромосомного микроматричного анализа с использованием SNP-олигонуклеотидных микроматриц CytoScan Optima (ThermoFisher Scientific, США), каждая из которых содержит 315608 маркеров.

Результаты

В результате исследования в 49,57% случаев в abortивном материале обнаружены клинически значимые аномалии, в 46,25% образцов не выявлены несбалансированные хромосомные аномалии размером более 800 т.п.н., неинформативный паттерн, указывающий на высокую вероятность контаминации материнским материалом, был выявлен в 4,18% образцов. Спектр хромосомных аномалий, являющихся причинами НБ, включает в себя анеуплоидии, в том числе нескольких хромосом и мозаичные формы, частота которых составляет 79,65%, триплоидию – 10,72%, другие ХА, включая субмикроскопические делеции и дупликации, – 8,62% (из них 15,95% составили терминальные делеции и дупликации, указывающие на высокую ве-

роятность несбалансированной транслокации), тетраплоидию – 1,01%.

Выводы

В нашем исследовании хромосомный микроматричный анализ выявил 49,57% клинически значимых хромосомных аномалий в abortивном материале, в том числе 8,62% субмикроскопических хромосомных аномалий. Это больше, чем позволяет выявить стандартное цитогенетическое исследование, FISH или КФ-ПЦР. Внедрение этого метода диагностики в рутинную практику позволит избежать неоправданных назначений при потере беременности и дать правильный прогноз для последующей беременности, а также, в ряде случаев, избежать рождения ребенка с хромосомными аномалиями.

Литература

1. Глинкина Ж. И., Курцер М. А., Будник И. В. Исследование хромосомной патологии в клетках неразвивающегося хориона методом высокопроизводительного секвенирования. *Доктор.Ру*. 2017. № 7 (136). С. 43–45.
2. Hady E Hachem, Vincent Crepau, Pascale May-Panloup, Philippe Descamps, Guillaume Legendre, and Pierre-Emmanuel Bouet. Recurrent pregnancy loss: current perspectives. *Int J Womens Health*. 2017; 9: 331–345.
3. Sugiura-Ogasawara M., Ozaki Y., Katano K., Kitaori T. Contemporary Prevention and Treatment of Recurrent Pregnancy Loss. *Bashiri A., Harlev A., Agarwal A. (eds) Recurrent Pregnancy Loss. Springer, Cham. 2016; 155–163*

References

1. Glinkina J.I., Kurtser M.A., Budnik I.V. Issledovaniye khromosomnoy patologii v kletkakh nerazvivayushchegosya khoriona metodom vysokoproizvoditel'nogo sekvenirovaniya. [Next-Generation Sequencing for Evaluation of Chromosomal Abnormalities in the Cells of Non-Viable Chorionic Villi]. *Doktor.Ru [Doktor.Ru.]* 2017. № 7 (136). S. 43–45. (In Russ.)
2. Hady E Hachem, Vincent Crepau, Pascale May-Panloup, Philippe Descamps, Guillaume Legendre, and Pierre-Emmanuel Bouet. Recurrent pregnancy loss: current perspectives. *Int J Womens Health*. 2017; 9: 331–345.
3. Sugiura-Ogasawara M., Ozaki Y., Katano K., Kitaori T. Contemporary Prevention and Treatment of Recurrent Pregnancy Loss. *Bashiri A., Harlev A., Agarwal A. (eds) Recurrent Pregnancy Loss. Springer, Cham. 2016; 155–163*



Применение неинвазивного пренатального ДНК-скрининга анеуплоидий при оказании акушерско-гинекологической помощи

Барков И.Ю., Шубина Е., Каретникова Н.А., Трофимов Д.Ю.

ФГБУ «Научный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова»
117997, Москва, ул. Академика Опарина, д.4,

Используемый в настоящее время в России пренатальный скрининг хромосомной патологии основан на косвенных маркерах и имеет ограничение по чувствительности и специфичности. Поэтому более перспективным является применение неинвазивного пренатального ДНК-скрининга анеуплоидий (НИПС). Целью данной работы являлась оценка возможности применения полногеномного НИПС при оказании акушерско-гинекологической помощи. Проведена валидация ДНК-скрининга на образцах с известными результатами пренатальной инвазивной диагностики (N=1134). Доказана возможность транспортировки и хранения образцов (N=477). Проведено отсроченное исследование аликвот плазмы через год после первоначального исследования (N=70). Оценены факторы, которые могут влиять на результаты НИПС - доля плодовой ДНК, индекс массы тела (ИМТ), срок беременности, мозаицизм и другие.

Ключевые слова: ДНК-скрининг, анеуплоидии, НИПС, НИПТ, синдром Дауна.

Для цитирования: Барков И.Ю., Шубина Е., Каретникова Н.А., Трофимов Д.Ю. Применение неинвазивного пренатального ДНК-скрининга анеуплоидий при оказании акушерско-гинекологической помощи. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 66-68.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.66-68

Автор для корреспонденции: Барков Илья Юрьевич; **e-mail:** i@barkov.ru

Финансирование: исследование инициативное, финансирование не оказывалось

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy (NIPS): usage for obstetric and gynecological care

Barkov I.Yu., Shubina J., Karetnikova N.A., Trofimov D.Yu.

National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I.Kulakov
Oparina street 4, Moscow, 117997, Russia,

Widely performed in Russia prenatally first-trimester screening is based on secondary markers of pathology and has limited sensitivity and specificity. The most promising alternative is the use of noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy (NIPS). This study aims to validate the possibility of NIPS usage for obstetric and gynecological care. DNA screening was validated on samples with known results of invasive prenatal diagnostics (N=1134). It was proven that it is possible to store and transport the samples (N=477). We studied plasma aliquot samples after one year of storage (N=70). Factors that can influence the NIPS results were also evaluated: the proportion of fetal DNA, body mass index (BMI), gestational age, mosaicism, and other

Keywords: NIPS, NIPT, Down Syndrome, Trisomy 21.

For citation: Barkov I.Yu., Shubina J., Karetnikova N.A., Trofimov D.Yu. Noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy (NIPS): usage for obstetric and gynecological care. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 66-68(In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.66-68

Correspondence author: Barkov Ilya Yu.; **e-mail:** i@barkov.ru

Funding: proactive research, no funding provided

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

Accepted: 20.05.2020

Введение

В настоящее время в целях профилактики хромосомных анеуплоидий (ХА) в России внедрено обязательное пренатальное обследование

женщин в период беременности, которое включает два этапа [1]. Сначала проводится выявление беременных группы риска путём массового комбинир

ванного скрининга с применением анализа биохимических маркеров ХА и ультразвукового исследования (УЗИ). В случае установления высокого риска хромосомной патологии у плода (риск 1/100 и выше), на втором этапе осуществляется проведение инвазивных диагностических процедур с последующим определением кариотипа плода. Существующий скрининг основан на косвенных маркерах и имеет ограничение по чувствительности и специфичности в связи с чем более перспективным является применение неинвазивного пренатального ДНК-скрининга анеуплоидий (НИПС), основанного на анализе внеклеточной ДНК плода в крови матери [2,3]. Внеклеточная ДНК состоит из коротких двухцепочечных сильно фрагментированных участков ДНК длиной менее 200 п.н. и в среднем концентрация ДНК плода составляет 10–12% от общей ДНК в плазме крови матери. Фрагменты фетальной ДНК равномерно представляют геном плода и выводятся из организма матери непосредственно после родов. Выявление ХА с использованием внеклеточной ДНК плода крови матери на принципиально новом уровне стало возможным с появлением методов высокопроизводительного секвенирования (NGS) [4]. В настоящее время проведение НИПС осуществляется с использованием двух подходов - полногеномного и таргетного. В первом случае производится исследование всего генома, во втором случае секвенирование производится выборочно.

Целью данной работы являлась оценка возможности применения полногеномного НИПС при оказании акушерско-гинекологической помощи [5].

Материалы и методы

Впервые в России нами проведена лабораторная валидация ДНК-скрининга на контрольной выборке из 1134 образцов с известными результатами пренатальной инвазивной диагностики.

Результаты

Полученные с помощью кариотипирования плода результаты в 99% процентах случаев совпадают с результатами НИПС. На контрольной выборке из 477 образцов доказано, что при соответствующих условиях образцы крови, подлежащие анализу, могут транспортироваться и сохраняться значительное время. Качество ДНК, полученной из замороженной плазмы, не отличалось от ДНК, полученной из не подвергавшейся заморозке крови, забор которой производился в пробирки Cell-Free DNA

ВСТ (Streck, США), а доставка на исследование осуществлялась не позднее 14 дней после забора крови. Отсроченное исследование 70 контрольных аликвот плазмы, проведенное через год после первоначального исследования, продемонстрировало полное совпадение результатов. С помощью использования однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) разработаны и апробированы подходы, позволяющие оценивать долю плодовой ДНК независимо от наличия хромосомы Y. Это позволяет избегать ложноотрицательных результатов при проведении НИПС у беременных плодом женского пола, связанных с низкой долей плодовой ДНК.

Также определены факторы, которые влияют на результаты ДНК-скрининга анеуплоидий: ложноположительные результаты могут быть обусловлены особенностями кариотипа женщины, мозаицизмом плаценты и плода; ложноотрицательные результаты – мозаицизмом плода, снижением доли плодовой ДНК. Несмотря на то, что с ростом ИМТ наблюдается снижение доли плодовой ДНК (коэффициент корреляции -0,18), по нашим данным, высокий индекс массы тела (ИМТ выше 30 кг/м²) не является серьезным ограничением к проведению исследования при определении в процессе исследования доли плодовой ДНК. При этом образцы, для которых доля ДНК плода была ниже необходимого минимума (4%), наблюдались среди женщин с различной массой тела, что может быть связано, в том числе и с приемом лекарственных препаратов. Нами не выявлено значимой корреляции доли плодовой ДНК со сроком беременности в рекомендованный для проведения НИПС период с 10–11 по 18 неделю беременности.

При выборе тактики ведения беременности следует учитывать риск наличия плацентарного мозаицизма и мозаицизма плода. В случае, если анеуплоидии ограничены плацентой, может потребоваться профилактика плацентарной недостаточности. Нами разработаны методические подходы, позволяющие различать мозаицизм плодового и материнского происхождения и тем самым минимизировать количество ложноположительных результатов ДНК-скрининга. В настоящее время при оказании акушерско-гинекологической помощи ДНК-скрининг может рассматриваться в качестве уточняющего риск скринингового исследования перед инвазивной диагностикой для беременных с высоким риском по результатам комбинированного скрининга. Это позволит снизить число проводимых инвазивных процедур, что особенно актуально для женщин с отягощенным акушерским анамнезом, а также при ведении беременных с ВИЧ-инфекцией.

ПОЛНЫЙ КОНТРОЛЬ НАД ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ ДЛЯ ВСЕХ ТРИМЕСТРОВ



Скрининг на преэклампсию в 1-ом триместре

Компания PerkinElmer имеет 30-летний опыт пренатального тестирования, и наше комплексное решение включает тест на выявление риска ранней преэклампсии – измерение фактора PIGF 1-2-3™.

Международные исследования ASPRE показали, что программа комбинированного скрининга на преэклампсию в первом триместре беременности (11-13+6) с последующим приемом Аспирина дозировкой 150 мг пациентками с высоким риском уменьшает случаи преэклампсии недоношенного срока (требующие родоразрешения ранее 37 недель) на 62%. Лечение беременных женщин с высоким риском, начатое после скрининга, может помочь предотвратить большую часть случаев преэклампсии недоношенного срока [1].

f u n d e d b y E U F P 7
ASPRE
project


PerkinElmer
For the Better



Контроль над преэклампсией во 2-ом и 3-ем триместрах

Мы также предлагаем набор DELFIA® Xpress sFlt-1 для скрининга преэклампсии во 2-ом и 3-ем триместрах беременности. Соотношение sFlt-1/PIGF может быть использовано для диагностики и мониторинга развития преэклампсии наряду с симптомами и другими клиническими данными.

Соотношение sFlt-1/PIGF, которое измеряется и анализируется в образце крови на анализаторе DELFIA® Xpress может быть использовано для ведения беременных женщин с выявленной преэклампсией, позволяя принять решение по курсу лечения и избежать ненужной госпитализации.

Больше информации о прогнозе преэклампсии и ее контролю во время беременности:
prenataltesting.perkinelmer.com

Представительство
в России АО "ПРИБОРЫ"

 **Pribori Oy**

109028, г. Москва, Певческий пер.,
д. 4, стр. 1, пом. I, комн. 10
Тел.: +7 495 937 4594. Факс: +7 937 4592
E-mail: info@pribori.com
Web Site: www.pribori.com

[1] ASPRE клинические исследования: Эффективность скрининга преэклампсии недоношенного срока: Rolnik DL, Wright D, Poon LCY, Syngelaki A, O’Gorman N, de Paco Matallana C, Akolekar R, Cicero S, Janga D, Singh M, Molina FS, Persico N, Jani JC, Plasencia W, Papaioannou G, Tenenbaum-Gavish K, Nicolaides KH.



Литература

1. Анализ результатов раннего пренатального скрининга в Российской Федерации «АУДИТ-2018». Информационно-справочные материалы. – М., 2018. 111 с.
2. Казаков В.И., Божков В.М., Линде В.А. и др. Внематочная ДНК в крови беременных женщин. Цитология 1995; 37(3): 232-236.
3. Lo Y.M., Corbetta N., Chamberlain P.F., et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. Lancet 1997; 9076(350):485-487.
4. Ребриков Д.В., Коростин Д.О., Шубина Е.С., Ильинский В.В. NGS: высокопроизводительное секвенирование. – М: БИНОМ, 2014. – 232 с.
5. Сухих Г.Т., Трофимов Д.Ю., Барков И.Ю. и др. Неинвазивный пренатальный ДНК-скрининг анеуплоидий плода по крови матери методом высокопроизводительного секвенирования. Клинические рекомендации. Акушерство и гинекология 2016; 6:129-153

References

1. Analiz rezul'tatov rannego prenatal'nogo skrininga v Rossiyskoy Federatsii AUDIT-2018. Informatsionno-spravochnyye materialy [Anal-

ysis of the results of early prenatal screening in the Russian Federation AUDIT-2018. Information and reference materials]. Moscow. 2018.111 p. (In Russ.)

2. Kazakov V.I. Bozhkov V.M., Linde V.A. Vnekletchnaya DNK v krovi beremennykh zhenshchin Extracellular DNA in the blood of pregnant women. Tsitologiya Cytology 1995; 37 (3): 232-236 (In Russ.)
3. Lo Y.M., Corbetta N., Chamberlain P.F., et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. Lancet 1997; 9076(350): 485-487.
4. Rebrikov D.V., Korostin D.O., Shubina J.S., Il'inskiy V.V. NGS: vysokoproizvoditel'noye sekvenirovaniye. NGS: high throughput sequencing. – М: BINOM, 2014. – 232 s (In Russ.)
5. Sukhikh G.T., Trofimov D.Yu., Barkov I.Yu. et al. Neinvazivnyy prenatal'nyy DNK-skrining aneuploidiy ploda po krovi materi metodom vysokoproizvoditel'nogo sekvenirovaniya. Klinicheskiye rekomendatsii [Non-invasive prenatal DNA screening of fetal aneuploidy by maternal blood using high throughput sequencing. Clinical recommendations]. Akusherstvo i ginekologiya [Obstetrics and Gynecology] 2016; 6: 129-153 (In Russ.)



Неинвазивный пренатальный ДНК-скрининг – возможности и перспективы полногеномного подхода

Шубина Е., Барков И.Ю., Гольцов А.Ю., Мукозей И.С., Кочеткова Т.О., Ступко О.К., Трофимов Д.Ю.

ФГБУ «Научный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И.Кулакова»

117997 Москва ул. Академика Опарина 4

Неинвазивный пренатальный ДНК-скрининг (НИПС) начал использоваться в клинической практике в 2011 г. и в настоящее время широко применяется, как и в мире, так и в России. Проанализирована встречаемость «редких» анеуплоидий при проведении полногеномного НИПС у 2061 пациенток и исходы беременностей при наличии таких результатов. Показано, что при анализе всего генома для полногеномного варианта НИПС можно получить дополнительную информацию, важную как для прогноза течения беременности, так и для прогноза плода. Это позволяет выделить дополнительную небольшую группу беременных, которым может быть рекомендовано более пристальное наблюдение в течение беременности или проведение дополнительных диагностических процедур. Однако для определения чувствительности и специфичности определения «редких» анеуплоидий и CNV в настоящий момент недостаточно данных.

Ключевые слова: НИПС, НИПТ, редкие анеуплоидии, синдром Прадера-Вилли.

Для цитирования: Шубина Е., Барков И.Ю., Гольцов А.Ю., Мукозей И.С., Кочеткова Т.О., Ступко О.К., Трофимов Д.Ю. Неинвазивный пренатальный ДНК-скрининг – возможности и перспективы полногеномного подхода. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 69-70.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.69-70

Автор для корреспонденции: Шубина Екатерина; **e-mail:** jekaterina.shubina@gmail.com

Финансирование: исследование инициативное, финансирование не оказывалось

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Noninvasive prenatal DNA-screening the scope and the prospects of whole-genome sequencing

Shubina J. Barkov I.Yu., Goltsov A.Yu., Mukosey I.S., Kochetkova T.O., Stupko O.K, Trofimov D.Yu.

FBSI «National medical research center for obstetrics, gynecology and perinatology named after academician V.I. Kulakov»

Oparina street 4, 117997 Moscow, Russia

Noninvasive prenatal DNA screening (NIPS) is getting more widespread in clinical practice in Russia and all around the world. The use of shallow whole-genome sequencing for NIPS allows analysis of all chromosome aneuploidies; hence there are large-scale studies only on test performance on common trisomies. This study aimed to analyze the prevalence of «rare» aneuploidies using whole-genome NIPS and pregnancy outcomes in case of a high risk of «rare» aneuploidy. Noninvasive prenatal DNA screening was performed using in house developed protocol. We have analyzed 2061 samples. In 8 cases (0.4%) high-risk of rare trisomy was detected (3 – trisomy 7, 2 – trisomy 8, 1 – trisomy 10, 2 – trisomy 15). We have identified two cases of a high risk of large copy number variations (CNV). For all of the high-risk cases, we have information about pregnancy outcomes. Thereby whole-genome analysis will enable us to get the additional information and reveal pregnancies in need of further observation or testing. Hence there is not enough data for the estimation of sensitivity and specificity of detection of «rare» aneuploidies.

Keywords: NIPS, NIPT, rare aneuploidy, Prader Willi syndrome.

For citation: Shubina J. Barkov I.Yu., Goltsov A.Yu., Mukosey I.S., Kochetkova T.O., Stupko O.K, Trofimov D.Yu. Noninvasive prenatal DNA-screening the scope and the prospects of whole-genome sequencing. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 69-70. (In Rus).

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.69-70

Correspondence author: Shubina Jekaterina; **e-mail:** jekaterina.shubina@gmail.com

Funding: proactive research, no funding provided

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

Accepted: 20.05.2020

Введение

Неинвазивный пренатальный ДНК-скрининг (НИПС) начал использоваться в клинической практике в 2011 г. и в настоящее время широко

применяется, как и в мире, так и в России. Ряд стран применяют его наряду со скринингом 1-го триместра как тест первой линии для скрининга анеуплоидий. Существует 2 принципиально разных подхода к проведению НИПС – полногеномный и таргетный. В пер-



вом случае теоретически возможен анализ всего генома, однако крупномасштабные исследования эффективности исследования проводились только для определения анеуплоидий по 5 хромосомам (13, 18, 21, X и Y). При этом частота встречаемости «редких» анеуплоидий, то есть анеуплоидий по аутосомам отличным от трисомий по хромосомам 13, 18 и 21 в совокупности может превышать частоту встречаемости трисомии по 13 хромосоме [1]. Значимость таких находок остается спорной [2] из-за того, что встречаемость анеуплоидий по каждой отдельной хромосоме остается крайне редкой

Целью данной работы было проанализировать встречаемость «редких» анеуплоидий при проведении полногеномного НИПС и исходы беременностей при наличии таких результатов.

Материалы и методы

НИПС проводили с использованием секвенаторов Ion S5 и Ion S5XL, приготовление библиотек и анализ данных проводили согласно протоколу, разработанному в лаборатории.

Результаты

Всего было проведено 2061 исследований, в 8 (0,4%) случаях был определен высокий риск «редкой» трисомии (3 трисомии по 7 хромосоме, 2 трисомии по 8 хромосоме, 1 трисомия по 10 хромосоме, 2 трисомии по 15 хромосоме). Кроме того, в 2-х случаях был определен риск наличия крупных делеций и дупликаций. Для всех случаев были известны исходы беременностей, для некоторых удалось отследить течение беременности и исследовать образцы плаценты. При наличии высокого риска трисомий по 7, 8 и 10 хромосомам родились дети без фенотипических особенностей. В 2 случаях трисомии по 7 хромосоме было проанализировано течение беременности, в обоих случаях наблюдалась угроза прерывания беременно-

сти, маловодие и малый к сроку гестации вес плода. При исследовании плаценты, подтверждено наличие трисомии по 7 хромосоме в мозаичной форме в плаценте. При наличии высокого риска трисомии по 15 хромосоме в 1 случае у плода была обнаружена однородительская дисомия по 15 хромосоме, которая приводит к синдрому Прадера-Вилли. При исследовании плаценты подтверждено наличие трисомии по 15 хромосоме в мозаичной форме плаценте. Во втором случае произошла внутриутробная гибель плода, образцы плода и плаценты не были доступны для анализа. Из 2-х случаев риска наличия крупных делеций и дупликаций в 1 наличие дупликации не было подтверждено при инвазивной диагностике, а образцы плаценты не были доступны для анализа. Во втором случае инвазивная диагностика подтвердила наличие делеции и дупликации, риск которых был обнаружен при проведении НИПС. Результаты НИПС позволили обнаружить наличие хромосомной патологии у плода в более ранние сроки. Таким образом, при анализе всего генома для полногеномного варианта НИПС возможно получить дополнительную информацию, важную как для прогноза течения беременности, так и для прогноза плода. Это позволяет выделить дополнительную небольшую группу беременных, которым может быть рекомендовано более пристальное наблюдение в течение беременности или проведение дополнительных диагностических процедур. Однако для определения чувствительности и специфичности определения «редких» анеуплоидий и CNV в настоящий момент недостаточно данных.

Литература/ References

1. Scott F., Bonifacio M., Sandow R., Ellis K., Smet M.E., McLennan A. Rare autosomal trisomies: Important and not so rare. *Prenat Diagn.* 2018;38(10):765–71.
2. Gregg A.R., Skotko B.G., Benkendorf J.L., Monaghan K.G., Bajaj K., Best R.G., et al. ACMG StAteMent Noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy, 2016 update: a position statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med.* 2016;18.



Опыт применения NGS секвенирования для проведения НИПТ на базе ФГНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта»

Козюлина П.Ю.^{1,2,3}, Вашукова Е.С.^{1,2}, Моршнева А.В.², Двойнова Н.М.², Тарасенко О.Е.^{1,2},
Талантова О.Е.¹, Коротеев А.Л.⁴, Иванов Д.О.⁴, Серебрякова Е.А.¹, Шабанова Е.С.¹,
Пендина А.А.¹, Тихонов А.В.¹, Чиряева О.Г.¹, Ефимова О.А.¹, Иващенко Т.Э.¹, Баранов В.С.¹, Глотов А.С.¹

1 — ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта»
199034, г. Санкт-Петербург, Менделеевская линия 3

2 — ООО «НИПТ»,
199106, г. Санкт-Петербург, проспект Большой В.О., д.90, корп. 2 лит. 3

3 — ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии»
196608, Санкт-Петербург, г. Пушкин, шоссе Подбельского, 3

4 — Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет
194100, Санкт-Петербург, Литовская улица, 2

Представлены результаты оригинальной технологии использования неинвазивного пренатального скрининга на основе полногеномного секвенирования внеклеточной ДНК (вкДНК) плода в материнской крови. Охарактеризованы основные параметры технологии и предложены новые возможности ее использования.

Ключевые слова: пренатальная диагностика, хромосомная патология, НИПТ.

Для цитирования: Козюлина П.Ю., Вашукова Е.С., Моршнева А.В., Двойнова Н.М., Тарасенко О.Е., Талантова О.Е., Коротеев А.Л., Иванов Д.О., Серебрякова Е.А., Шабанова Е.С., Пендина А.А., Тихонов А.В., Чиряева О.Г., Ефимова О.А., Иващенко Т.Э., Баранов В.С., Глотов А.С. Опыт применения NGS секвенирования для проведения НИПТ на базе ФГНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта». *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 71-73.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.71-73

Автор для корреспонденции: Глотов А.С.; e-mail: anglotov@mail.ru

Финансирование: Министерство науки и высшего образования РФ, проект № АААА-А20-120041390028-0

Конфликт интересов: Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов

Поступила: 20.05.2020

Application of nipt by NGS sequencing in D.O. Ott research institute for obstetrics, gynaecology and reproductology

*Kozyulina P. Y.^{1,2,3}, Vashukova E.S.^{1,2}, Morshneva A.V.², Dvoynova N.M.², Tarasenko O.E.^{1,2},
Talanta O.E.¹, Koroteev A.L.⁴, Ivanov D.O.⁴, Serebryakova E.A.¹, Shabanova E.S.¹,
Pendina A.A.¹, Tikhonov A.V.¹, Chiryayeva O.G.¹, Efimova O.A.¹, Ivashchenko T.E.¹, Baranov V.S.¹, Glotov A.S.¹*

1 — D.O. Ott Research Institute for Obstetrics, Gynaecology and Reproductology
Mendeleevskaya line 3, St. Petersburg, 199034 Russia,

2 — Ltd NIPT
Bolshoi V.O., 90, building. 2 lit. 3, St. Petersburg, 199106, Russia

3 — Federal State Budget Scientific Institution «All-Russian Scientific Research Institute of Agricultural Microbiology»
Podbelsky shosse, 3, 196608, Pushkin, St. Petersburg, Russia

4 — St. Petersburg State Pediatric Medical University
2 Litovskaya st., Saint Petersburg, 194100 Russia,

The results of the original technology of non-invasive prenatal screening based on genome-wide fetal DNA (cfDNA) sequencing of the fetus in maternal blood are presented. The main parameters of the technology are characterized and new possibilities for its use are proposed.

Key words: prenatal diagnosis, chromosomal pathology, NIPT.

For citation: Kozyulina P. Y., Vashukova E.S., Morshneva A.V., Dvoynova N.M., Tarasenko O.E., Talantova O.E., Koroteev A.L., Ivanov D.O., Serebryakova E.A., Shabanova E.S., Pendina A.A., Tikhonov A.V., Chiryayeva O.G., Efimova O.A., Ivashchenko T.E., Baranov V.S., Glotov A.S. Application of NIPT by NGS sequencing in D.O. OTT Research institute for obstetrics, gynaecology and reproductology. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 71-73 (In Rus).

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.71-73

Corresponding author. Glotov A.S.; e-mail: anglotov@mail.ru

Funding. Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, project number № АААА-А20-120041390028-0

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

Accepted: 20.05.2020

Введение

Для определения хромосомных аномалий плода в последние годы активно используют технологию неинвазивного пренатального тестирования (НИПТ) [1,2]. НИПТ позволяет выявлять хромосомные патологии плода путем анализа внеклеточной ДНК (вкДНК) плода в материнской крови без проведения инвазивного вмешательства. В настоящем сообщении суммированы результаты разработки [3], апробации и применения НИПТ-технологии в НИИ АГиР им.Д.О. Отта.

Цель работы: оценка эффективности использования данной технологии для диагностики аномалий развития плода в группе беременных женщин.

Материалы и методы

В рамках валидации нового метода обследовано 185 женщин с высоким риском хромосомной патологии плода, обусловленным возрастом беременной, изменениями в уровнях сывороточных маркеров, особенностями фенотипа плода. У всех женщин было получено информированное согласие на взятие крови из вены для использования образцов в научно-исследовательской работе. Средний возраст женщин на момент беременности составлял $34,5 \pm 5,8$ (21–48 лет). Женщины проходили стандартное обследование на сроке беременности 10–25 недель, которое включало: скрининг I–II триместра беременности – эхография, определение содержания сывороточных маркеров, компьютерный анализ, по результатам исследований определяли высокий риск анеуплоидий и врач назначал цитогенетическое исследование биоматериала плода (инвазивное пренатальное исследование). Неинвазивный пренатальный скрининг (НИПС) основных трисомий хромосом плода осуществляли следующим образом. На первом этапе из крови женщины выделяли плазму, на втором – внеклеточную ДНК, содержащую материнскую и плодовую фракции. В последующем осуществляли приготовление библиотеки ДНК для высокопроизводительного (NGS) секвенирования на приборе Ion Torrent S5 (Thermo Fisher Scientific, США). Данные секвенирования обрабатывали с использованием оригинального биоинформатического программного обеспечения и собственных разработок лаборатории, на которые получен патент [3, 4]. Достаточным считали содержание плодовой ДНК не менее 4%. Оценку достоверности полученных результатов проводили путем сравнения с данными о кариотипе плода. Цитогенетическое исследование тканей плодового происхождения проводили у всех беременных. Среди обследованных 185 беременных было выявлено

40 (21,6%) случаев анеуплоидии плода. Специфичность скрининга определяли как долю правильно определенных анеуплоидий (при сравнении с клиническими данными и данными кариотипирования). Оценка диагностической ценности неинвазивного пренатального скрининга проведена в соответствии с «Правилами оценки клинической информативности лабораторных тестов. ГОСТ Р 53022.3-2008».

Результаты

У 98,4% женщин был отмечен риск анеуплоидии по результатам комбинированного скрининга первого триместра, у 1,6% – риск трисомии 21 по результатам биохимического скрининга второго триместра. 3,2% женщин имели отягощенный акушерско-гинекологический анамнез (привычное невынашивание и т.д.), у 2,7% женщин были беременности с анеуплоидиями в анамнезе, у 1,1% – врожденные пороки развития плода в анамнезе. 9,8% женщин были направлены на инвазивную пренатальную диагностику моногенных заболеваний. У 18,4% женщин были выявлены пороки развития плода по результатам УЗИ (не считая ультразвуковых маркеров хромосомных аномалий в первом триместре). У 3,8% женщин беременность наступила после ЭКО. В 2,2% случаев один из родителей являлся носителем хромосомной перестройки. Средний срок беременности на момент взятия образцов плазмы крови составлял $14,5 \pm 1,2$ недель (9/10–25/1 недель). Среднее содержание доли ДНК плода в образцах составило 10,6%. Для всех 185 образцов периферической крови беременных женщин отсутствие или наличие основных трисомий плода было определено при помощи НИПС. Отсутствие анеуплоидий у плода по крови матери было определено в 145 наблюдениях, что было подтверждено результатами инвазивного цитогенетического исследования, показавшего в этих случаях нормальный кариотип. Патология кариотипа была определена в 40 наблюдениях: 26 случаев трисомии по 21 хромосоме, 9 случаев трисомии по 18 хромосоме, 3 случая трисомии по 13 хромосоме, 1 случай трисомии по X хромосоме, и 1 случай моносомии по X хромосоме. Все 40 определенных неинвазивным методом ДНК-скрининга анеуплоидии совпали с результатами инвазивной пренатальной диагностики. Во всех 40 случаях данные, полученные как цитогенетическим методом, так и при НИПС, были идентичны.

Необходимо отметить, что НИПС, проведенный с использованием разработанного нами биоинформатического анализа, смог выявить не только регулярные трисомии по хромосомам 13, 18, 21, X, но и частичную трисомию по хромосоме 13, мозаичную форму синдрома Дауна, не реципрокные перестройки [5].

По результатам испытаний выявлены 40 анеуплоидий по 21, 18, 13 и X хромосомам, не получено ложноотрицательных или ложноположительных результатов. Таким образом, чувствительность метода составила 100,00% (91,19%–100,00%), специфичность – 100% (97,49%–100,00%). PPV составила 100%, NPV – 100%.

На данный момент этот метод введен в клиническую практику в институте, и нами было проанализировано 490 образцов плазмы крови беременных женщин из 20 городов России.

Необходимо отметить, что молекулярно-генетический метод определения анеуплоидий по крови матери, в основе которого лежит высокопроизводительное секвенирование, позволяет расширить область применения неинвазивного молекулярно-генетического скрининга не только на анеуплоидии, полные или частичные, но и на другие потенциальные факторы риска при беременности. Так, нами было показано, что в образцах плазмы крови матери можно обнаружить фрагменты вирусов, потенциально способных влиять на течение беременности, таких как *Varicella zoster*, *Human betaherpesvirus 5 (CMV)* и *Human parvovirus B19*.

Выводы

Полученные результаты свидетельствуют о том, что ДНК-скрининг анеуплоидий плода по крови матери обладает не только значительно более высокими чувствительностью и специфичностью по сравнению с применяемыми в настоящее время стандартными комбинированными скринингами первого и второго триместров беременности, но и имеет перспективы как метод оценки риска определенных патологий у матери.

Литература

1. Баранов В.С., Кузнецова Т.В., Кашеева Т.К., Иващенко Т.Э. Пренатальная диагностика наследственных болезней. Состояние и перспективы. *Издательство ЭКО ВЕКТОР Санкт-Петербург* 2017: 469

2. Nicolaides K.H. Screening for fetal aneuploidies at 11 to 13 week. *Prenat. Diagn.* 2011; 31: 7–15.
3. Иващенко Т.Э., Вашукова Е.С., Козюлина П.Ю., Двойнова Н.М., Талантова О.Е., Коротеев А.Л., Серебрякова Е.А., Шабанова Е.С., Пендина А.А., Тихонов А.В., Чиряева О.Г., Петрова Л.И., Дудкина В.С., Ефимова О.А., Баранов В.С., Глотов А.С. Первый опыт применения NGS секвенирования для проведения НИПТ на базе НИИ АГи Р им.Д.О.Отта. *Генетика* 2019; 55. (10): 1151–1157.
4. Козюлина П.Ю., Вашукова Е.С., Глотов А.С., Баранов В.С., Гладких Н.А. Способ неинвазивного пренатального скрининга анеуплоидий плода Пат. 2712175 Рос. Федерации, №201913664; заявл. 14.11.2019; опубл. 24.01.2020, Бюл. № 3.
5. Pendina A.A., Shilenkova Y.V., Talantova O.E., et al. Reproductive history of a woman with 8p and 18p genetic imbalance and minor phenotypic abnormalities. Case Report, *Front. Genet. – Genetic Disorders*, Submitted on: 28 Jul 2019, DOI: 10.3389/fgene.2019.01164

References

1. Baranov V.S., Kuznetsova T.V., Kashcheeva T.K., Ivashchenko T.E. Prenatal'naya diagnostika nasledstvennykh bolezney. Sostoyaniye i perspektivy [Prenatal diagnosis of hereditary diseases. Status and prospects]. *Izdatel'stvo EKO VEKTOR [ECO VECTOR Publishing House] St. Petersburg* 2017: 469 (In Rus.)
2. Nicolaides K.H. Screening for fetal aneuploidies at 11 to 13 week. *Prenat. Diagn.* 2011; 31: 7–15.
3. Ivaschenko T.E., Vashukova E.S., Kozyulina P.Yu., Dvoynova N.M., Talantova O.E., Koroteev A.L., Serebryakova E.A., Shabanova E.S., Pendina A.A., Tikhonov A.V., Chiryayeva O.G., Petrova L.I., Dudkina V.S., Efimova O.A., Baranov V.S., Glotov A.S. Pervyy opyt primeneniya NGS sekvenirovaniya dlya provedeniya NIPT na baze NII AGi R im.D.O.Otta. [The first experience with the use of NGS sequencing for NIPT on the basis of the Research Institute of Obstetrics, Gynaecology and Reproductology named after D.O. Ott]. *Genetika [Genetics]* 2019; T. 55. (10): 1151–1157. (In Rus.)
4. Kozyulina P.Yu., Vashukova E.S., Glotov A.S., Baranov V.S., Gladkikh N.A. Sposob neinvazivnogo prenatal'nogo skringinga aneuploidiy ploda [Method for non-invasive prenatal screening of fetal aneuploidy] Pat. 2712175 ROS. Federation, No. 201913664; declared 11/14/2019; publ. 01/24/2020, Bull. Number 3. (In Rus.)
5. Pendina A.A., Shilenkova Y.V., Talantova O.E., et al. Reproductive history of a woman with 8p and 18p genetic imbalance and minor phenotypic abnormalities. Case Report, *Front. Genet. – Genetic Disorders*, Submitted on: 28 Jul 2019, DOI: 10.3389/fgene.2019.01164



Результаты опроса беременных об их предпочтениях пренатальных тестов с разными характеристиками

Баранова Е.Е.¹, Заяева Е.Е.¹, Жученко Л.А.¹, Щелькалина С.П.², Ижевская В.Л.³

1 — ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» МЗ РФ
125993, г. Москва, ул. Баррикадная, д.2/1, стр.1

2 — ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» МЗ РФ
117997, г. Москва, ул. Островитянова, дом 1

3 — ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»
115522, Москва, ул. Москворечье, д.1

Проанализировано мнение 800 беременных женщин, проходящих ранний пренатальный скрининг (РПС) врожденных пороков развития и хромосомных аномалий у плода, относительно различных характеристик пренатальных тестов. Проведенный опрос позволит сравнить результаты с другими странами, где НИПТ используется в РПС, и выработать собственные рекомендации.

Ключевые слова: анкетирование, пренатальный скрининг, НИПТ.

Для цитирования: Баранова Е.Е., Заяева Е.Е., Жученко Л.А., Щелькалина С.П., Ижевская В.Л. Результаты опроса беременных об их предпочтениях пренатальных тестов с разными характеристиками. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 74-75

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.74-75

Автор для корреспонденции: Баранова Елена Евгеньевна; **e-mail:** medgen@rmapo.ru

Финансирование. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №18-013-01175.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

A survey of pregnant women about their preferences for prenatal tests with different characteristics

Baranova E.E.¹, Zayeva E.E.¹, Zhuchenko L.A.¹, Shchelykalina S.P.², Izhevskaya V.L.³

1 — Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation
Barrikadnaya st., 2/1 Moscow, 125993 Russia

2 — Pirogov Russian National Research Medical University
Ostrovitianov str. 1, Moscow, 117997, Russia

3 — Research Centre for Medical Genetics,
Moskvorechye st., 1, Moscow, 115478 Russia

Relatively different characteristics of prenatal tests, the opinion of 800 pregnant women undergoing early prenatal screening (EPS) of congenital malformations and chromosomal abnormalities in the fetus was analyzed. The survey will allow you to compare the results with other countries where NIPT is used in the EPS, and to develop our own recommendations.

Key words: questionnaire, prenatal screening, NIPT.

For citation: Baranova E.E., Zayeva E.E., Zhuchenko L.A., Shchelykalina S.P., Izhevskaya V.L. A survey of pregnant women about their preferences for prenatal tests with different characteristics. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 74-75 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.74-75

Correspondence author: Baranova Elena; **e-mail:** medgen@rmapo.ru

Funding. This work was supported by the RFBR grant No. 18-013-01175.

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

Accepted: 20.05.2020

Цель исследования — оценка мнения о различных характеристиках пренатальных тестов беременных, проходящих ранний пренатальный скрининг врожденных пороков развития и хромосомных аномалий у плода.

Материалы и методы

Для исследования информированности и отношения к проводимым пренатальным скрининговым исследованиям, включая неинвазивный пренатальный

ДНК-тест (НИПТ), был использован метод анкетирования. Анкетирование проводилось с февраля по сентябрь 2019 г. Все беременные, включенные в исследование, представляли собой безвыборочную группу (без отбора по возрасту, месту проживания, образованию, другим параметрам) и были осведомлены врачами акушерами-гинекологами об установленном регламенте акушерского наблюдения за беременными, в том числе о раннем пренатальном скрининге (РПС) и его целях. Все участники опроса дали согласие на участие в исследовании. Опрос проводился в женских консультациях по месту жительства. Всего было собрано 800 анкет от беременных, проживающих в 16 регионах России. Использовались описательные методы статистики в виде абсолютных и относительных частот для качественных признаков и медианы и квартилей для количественных признаков. При сравнении по качественным признакам пользовались критерием Хи-квадрат Пирсона, при сравнении по количественным признакам – критерием Манна-Уитни. Различия признавались статистически значимыми при $p < 0,05$. Расчеты выполнялись в среде статистического программирования R.

Результаты и обсуждение

С утверждением «Каждая беременная женщина должна пройти комбинированный скрининг в 1 триместре» согласие выразили подавляющее большинство опрошенных – 90,16%, при этом более половины не считают, что на женщин оказывается социальное давление (54,35%) или давление со стороны врачей женских консультаций (55,39%), заставляющее их проходить такое обследование. Выбирая дискретные характеристики, беременные предпочли тесты, позволяющие получить результаты в как можно более раннем сроке гестации (84,67%), дающие как можно больше информации о плоде (90,97%) и оплачиваемые за счет государства/страховых фондов (75,6%). Несмотря на высокий уровень образования и проживание в крупных городах, большинство опрошенных (63,38%) не знало до нашего опроса о НИПТ. Однако после разъяснения его возможностей 74,74% считают, что его надо использовать для выявления нескольких синдромов.

Около половины опрошенных (47,8%) считает, что инвазивная пренатальная диагностика (ИПД) должна проводиться вне зависимости от намерений семьи прервать или сохранить беременность плодом с аномалиями, 58,19% женщин отметили, что, скорее всего, будут проходить ИПД при повышенном риске хромосомных аномалий (ХА) у плода, что согласуется с данными [1]. Четверть опрошенных бере-

менных женщин была готова прервать беременность при ХА у плода, а 81 женщина приняла решение не прерывать беременность в таком случае. Женщины, готовые прервать беременность, по сравнению с решившими не прерывать её, были статистически значимо старше, имели больше беременностей в анамнезе, находились на более позднем сроке гестации. При этом эти группы не различались по отношению к религии и самооценке материальной обеспеченности, однако имелись значимые различия по семейному положению, образованию и важности религии в их жизни.

Выводы

Полученные результаты показывают, что, несмотря на высокую комплаентность РПС беременных в целом, только чуть более половины женщин были готовы проходить ИПД при повышенном риске ХА у плода и только четверть беременных была готова прервать беременность при ХА у плода. Проведенный опрос позволит сравнить результаты с другими странами, где НИПТ используется в РПС [2,3], и выработать собственные рекомендации.

Литература

1. Анализ результатов раннего пренатального скрининга в Российской Федерации АУДИТ-2018. Информационно-справочные материалы. Москва. 2018. 111 с
2. van Schendel, R.V., Page-Christiaens, G.C.M.L., Beulen, L. et al. Women's Experience with Non-Invasive Prenatal Testing and Emotional Well-being and Satisfaction after Test-Results. *J Genet Counsel* 26, 1348–1356 (2017). <https://doi.org/10.1007/s10897-017-0118-3>
3. F Gurtner, M Fleury-Siegenthaler, Noninvasive prenatal test (NIPT): Evolving screening strategy and first real world experience: Felix Gurtner, *European Journal of Public Health*, Volume 27, Issue suppl_3, November 2017, cxx187.242, <https://doi.org/10.1093/eurpub/ckx187.242>

References

1. Analiz rezul'tatov rannego prenatal'nogo skringinga v Rossiyskoy Federatsii AUDIT-2018. Informatsionno-spravochnyye materialy [Analysis of the results of early prenatal screening in the Russian Federation AUDIT-2018. Information and reference materials]. Moscow. 2018.111 p. (In Russ.)
2. van Schendel, R.V., Page-Christiaens, G.C.M.L., Beulen, L. et al. Women's Experience with Non-Invasive Prenatal Testing and Emotional Well-being and Satisfaction after Test-Results. *J Genet Counsel* 26, 1348–1356 (2017). <https://doi.org/10.1007/s10897-017-0118-3>
3. F Gurtner, M Fleury-Siegenthaler, Noninvasive prenatal test (NIPT): Evolving screening strategy and first real world experience: Felix Gurtner, *European Journal of Public Health*, Volume 27, Issue suppl_3, November 2017, cxx187.242, <https://doi.org/10.1093/eurpub/ckx187.242>

Тенденции раннего пренатального скрининга хромосомных аномалий и врожденных пороков развития плода в России в 2018 г.

Калашникова Е.А.¹, Андреева Е.Н.^{1,2}, Голошубов П.А.^{1,4}, Одегова Н.О.^{1,2}, Юдина Е.В.^{1,3}, Жученко Л.А.¹

1 — ФГБОУ ДПО Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования МЗ РФ
125993, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1

2 — ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии
101000, Москва, ул. Покровка, 22 А

3 — клиника «Мать и Дитя Ходыньское поле»
125252, ул. Авиаконструктора Микояна, д.12

4 — ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» МЗ РФ
117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, д. 4

В ходе анализа результатов раннего пренатального скрининга (РПС) в России за 2018 г. (Аудит-2019) дана оценка качества мероприятий, общей эффективности и тенденций развития системы РПС в субъектах РФ посредством сравнения рассчитанных основных организационных, методологических и интегральных показателей с международными референтными значениями.

Ключевые слова: ранний пренатальный скрининг, хромосомные аномалии, врожденные пороки развития плода.

Для цитирования: Калашникова Е.А., Андреева Е.Н., Голошубов П.А., Одегова Н.О., Юдина Е.В., Жученко Л.А. Тенденции раннего пренатального скрининга хромосомных аномалий и врожденных пороков развития плода в России в 2018 г. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 76-78.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.76-78

Автор для корреспонденции: Калашникова Е.А.; **e-mail:** elenakalash@yandex.ru

Источники финансирования: исследование инициативное, финансирование не оказывалось.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Trends in early prenatal screening for chromosomal abnormalities and congenital malformations in Russia in 2018

Kalashnikova E.A.¹, Andreeva E.N.^{1,2}, Golosubov P.A.^{1,4}, Odegova N.O.^{1,2}, Yudina E. V.^{1,3}, Zhuchenko L.A.¹

1 — Russian medical Academy of continuing professional education of the Russian Ministry of health
Barricadnaya st., 2/1, b. 1, 125993, Moscow, Russia

2 — Moscow Regional Research Institute for Obstetrics and Gynecology
Pokrovka st., 22 A, 101000, Moscow, Russia

3 — Clinic "Mother and Child Khodynskoe pole"
Mikoyan st., 12, 125252, Moscow, Russia

4 — National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after academician V. I. Kulakov
Akademika Oparina str., 4, 117997, Moscow, Russia

In the course of analyzing the results of early prenatal combined first-trimester screening (FTS) in Russia for 2018 (Audit-2019) the assessment of the quality of measures, the overall effectiveness and trends in the development of the FTS system in the regions of Russia. They are presented by comparing the calculated main organizational, methodological and integral indicators with international reference values.

Keywords: first-trimester screening, chromosomal abnormalities, congenital malformations.

For citation: Kalashnikova E.A., Andreeva E. N., Golosubov P.A., Odegova N.O., Yudina E. V., Zhuchenko L. A. Trends in early prenatal screening for chromosomal abnormalities and congenital malformations in Russia in 2018. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 76-78(In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.76-78

Correspondence author: Kalashnikova E. A.; **e-mail:** elenakalash@yandex.ru

Funding: proactive research, no funding provided

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

Accepted: 20.05.2020

НУТРИГЕН®



Специализированное лечебное питание для больных фенилкетонурией и болезнями обмена аминокислот

Разработано
и произведено
в России

**РАЗВИТИЕ
И РОСТ**

- идеально сбалансированный состав
- многоуровневый контроль качества
- соответствие современным требованиям к составу
- уверенность в успехе диетотерапии



Фенилкетонурия
Нутриген -phe
14/20/40/70



**Изовалериановая
ацидемия**
Нутриген 14/20/40/70



Глутаровая ацидурия
Нутриген 14/20/40/70



Тирозинемия
Нутриген 14/20/40/70



Лейциноз
(болезнь «кленового сиропа»)
Нутриген 14/20/40/70



**Метилмалоновая
и пропионовая ацидемия**
Нутриген 14/20/40/70



Гомоцистинурия
Нутриген 14/20/40/70



Гистидинемия
Нутриген 14

Министерством здравоохранения Российской Федерации в порядке внешнего аудита с 2014 года проводится ежегодный мониторинг и оценка качества реализации в субъектах РФ мероприятий раннего пренатального скрининга (РПС) для выявления хромосомных аномалий (ХА) и врожденных пороков развития (ВПР) плода. **Задача** – определить тенденции РПС за последний завершённый отчетный период – 2018 г.

Материалы и методы

Мониторинг РПС в регионах РФ предполагает анализ данных из унифицированного программного обеспечения системы РПС (программа «Астрай»), которые должны содержать электронные сведения обо всех проведенных за отчетный год пренатальных скрининговых мероприятиях и их результатах, включая:

1. Данные анамнеза каждой беременной женщины, достоверно значимые для расчета риска ХА из стандартного талона-направления.
2. Результаты УЗИ, проведенного в межтерриториальных кабинетах пренатальной диагностики (КПД) врачами специалистами, прошедшими специальную подготовку и имеющими допуск на проведение ультразвукового скринингового обследования в I триместре беременности.
3. Результаты биохимического исследования материнских сывороточных маркеров I триместра (fβ-hCG и PAPP-A).
4. Программные данные комплексного индивидуального расчета риска ХА.
5. Информацию обо всех выявленных врожденных пороках развития.
6. Информацию о проведении медико-генетического консультирования в случаях выявления ВПР и в группе высокого риска ХА.
7. Информацию о проведении инвазивного обследования беременных, прошедших РПС.
8. Результаты лабораторного исследования инвазивного плодного материала.
9. Исходы беременности и родов с заключительными диагнозами ВПР и ХА по МКБ-10, установленными пре- и постнатально у всех женщин, прошедших РПС.

Анализ организационных мероприятий РПС в регионах РФ включал: процент охвата беременных женщин скринингом, число централизованных КПД, число врачей, выполняющих УЗИ в КПД и их среднюю нагрузку, число и структуру инвазивных процедур (ИПД), участие биохимической и цитогенетической лабора-

торий в системе внешней оценки качества лабораторных исследований.

Соответствие методологии РПС отражали показатели: качество измерения врачами УЗД КПД основного эхо-маркера ХА у плода толщины воротникового пространства (ТВП), величина группы высокого риска ХА у плода ($\geq 1:100$), эффективность пренатального кариотипирования и структура выявленных ХА в группе риска, величина медиан МоМ материнских сывороточных маркеров fβ-hCG и PAPP-A и их корректировка в течение отчетного года.

Для оценки общей эффективности системы РПС в субъектах РФ проанализированы интегральные показатели: процент выявленных ХА и ВПР от общего числа беременных, прошедших РПС, число пре- и постнатально установленных случаев синдрома Дауна, соотношение ожидаемой частоты синдрома Дауна для беременных, прошедших РПС, рассчитанной с учетом их распределения по возрасту, и фактической, установленной в субъекте в рамках скрининга, как показатель полноты ввода данных в информационную систему программного обеспечения РПС.

Результаты

Мониторинг МЗ РФ за отчетный период 01.01.2018 – 31.12.2018 гг. (Аудит-2019) проводился в 82 из 85 субъектов РФ и 4 регионах/учреждениях, имеющих отдельные централизованные лаборатории и базы данных. За период 2018 г. по сравнению с 2017 г. отмечена положительная динамика раннего выявления ВПР (0,28% против 0,25%) и ХА (0,32% против 0,29%) у прошедших РПС в целом по Российской Федерации. 24 субъекта РФ из 82 (30%) показали высокий уровень реализации системы РПС. В 17 субъектах результаты неудовлетворительные, их них в 3-х регионах отсутствует централизованная система РПС на экспертном уровне. Не отмечено роста количества лучших регионов и снижения худших по сравнению с 2017 г. Не уменьшается количество регионов (n=16) с охватом РПС <80%, что в основном обусловлено неоптимальной маршрутизацией беременных в КПД и отсутствием непрерывного контроля исполнения алгоритмов РПС. Большим остается число регионов с невысокой долей обследованных беременных из группы высокого риска (ИПД <40%, n=34). Не растет доля ранних инвазий (аспирации ворсин хориона) в структуре всех ИПД по сравнению с поздними биопсиями плаценты (<40%, 30 регионов). Полное стандартное кариотипирование амниоцитов в рамках РПС проводят лишь в 6 регионах, а в 18 субъектах ХА определяют лишь молекулярно-генетическими методами с тестированием основных анеу-



плоидий по 5 хромосомам. В 49 регионах отмечена низкая нагрузка врачей УЗД с экспертным допуском для скрининга (<50% от норматива нагрузки на ставку). В 16 регионах среднее качество измерения ТВП врачами УЗД было ниже нормы. В 36 регионах отмечено низкое выявление количества пренатальных ВПР I триместра (<0,25% от обследованных). Практически не увеличивается число регионов, адекватно корректирующих региональные медианы сывороточных материнских маркеров I триместра. Доля централизованных лабораторий, участвующих в системе внешнего контроля качества упала в 2018 г. до 78% по сравнению с 83% в 2017 г. В 25 регионах РФ в 2018 г. отмечен низкий процент пренатального выявления ХА (<0,25% от обследованных). 47 регионов не обеспечивают достаточную полноту ввода сведений в программное обеспечение РПС (<80% по соотношению ожидаемой и фактической частоты случаев синдрома Дауна у плодов и новорожденных).

Выводы

Для повышения эффективности РПС и диагностики ХА и ВПР необходимо: 1) строго придерживаться международных алгоритмов [1,2]; 2) усилить организационную региональную поддержку алгоритмов РПС и постоянного обучения кадров в субъектах с неудовлетворительными результатами; 3) обеспечить соблюдение

контроля качества всех уровней РПС путем проведения непрерывного внутреннего регионального аудита с использованием возможностей программного обеспечения «Астрайя»; 4) определить в регионах ответственных лиц, контролирующих ввод данных по скринингу и исходам беременностей и родов в программное обеспечение РПС.

Литература

1. Nicolaidis K.H. Screening for fetal aneuploidies at 11 to 13 weeks. *Prenat Diagn.*, 2011. 31(1): 7–15.
2. Жученко Л.А., Голошубов П.А., Андреева Е.Н., Калашникова Е.А., Юдина Е.В., Ижевская В.Л. Анализ результатов раннего пренатального скрининга, выполняющегося по национальному приоритетному проекту «Здоровье» в субъектах РФ. Результаты мультицентрового исследования «Аудит-2014». *Медицинская генетика*. 2014; (6): 3–43

References

1. Nicolaidis K.H. Screening for fetal aneuploidies at 11 to 13 weeks. *Prenat Diagn.*, 2011. 31(1): 7–15.
2. Zhuchenko L.A., Golosubov P.A., Andreeva E.N., Kalashnikova E.A., Yudina E.V., Izhevskaya V.L. Analiz rezul'tatov rannego prenatal'nogo skringinga, vpolnyayushchegosya po natsional'nomu prioritetnomu proektu «zdorov'e» v subektakh rossiyskoy federatsii. rezul'taty rossiyskogo mul'titsentrovogo issledovaniya «Audit-2014». [Analysis of the results of early prenatal screening performed under the national priority project «health» in the subjects of the Russian Federation. results of the Russian multicenter study «Audit-2014»]. *Meditsinskaya genetika [Medical genetics]* 2014; (6): 3–43 (In Russ.)



Анализ показателя риска трисомии 21 при раннем пренатальном скрининге

Зайцева Е.С., Жукова Т.П., Ратникова С.Ю., Артемичева И.Л.

ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В. Н. Городкова»
153045, г. Иваново, ул. Победы, 20, Россия

Важную роль в профилактике врожденной и наследственной патологии играет ранний пренатальный скрининг (РПС), включающий УЗИ, исследование сывороточных маркеров PAPP-A и β -ХГЧ, аудит. Обработка результатов обследования проводилась с помощью программы «Astraia». Анализ результатов РПС в Ивановской области за период 2013-2019 г.г. показал, что при охвате скринингом, в среднем, 85,3% беременных, вставших на учет до 14 недель гестации, выявлено 157 случаев хромосомной патологии и 126 случаев врожденных пороков развития. Однако в 55 случаях хромосомная патология плода не была заподозрена при скрининге, пациентки не попали в группу риска и родили больных детей (все дети имели трисомию 21). При этом в трети случаев (у 19 пациенток – 34,5%) риск трисомии 21 оценивался как промежуточный и находился в интервале от 1:100 до 1:1000, в том числе у 3 женщин (5,5%) – в интервале от 1:100 до 1:300. Мы полагаем, что пациентки с промежуточным значением риска хромосомной патологии плода нуждаются в дальнейшем обследовании с целью верификации диагноза, и их необходимо информировать о возможностях неинвазивного пренатального теста.

Ключевые слова: пренатальный скрининг, хромосомная патология, трисомия 21 хромосомы, беременность

Для цитирования: Зайцева Е.С., Жукова Т.П., Ратникова С.Ю., Артемичева И.Л. Анализ показателя риска трисомии 21 при раннем пренатальном скрининге. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 79-80

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.79-80

Автор для корреспонденции: Зайцева Е.С.; e-mail: katya772635@yandex.ru

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

Поступила: 20.05.2020

Analysis of trisomy 21 risk in early prenatal screening

Zaytseva E.S., Zhukova T.P., Ratnikova S.Y., Artemicheva I.L.

Federal State Budgetary Institution "Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named after V.N. Gorodkov"
153045, Pobedy str. 20, Ivanovo, Russia

Early prenatal screening that includes ultrasound diagnostics, study of serum markers of PAPP-A and β -HCG, audit plays an important role in the prevention of congenital and hereditary diseases. The results of the study were processed with «Astraia». Analysis of the results of early prenatal screening in the Ivanovo region for the period 2013-2019 showed that when screening coverage, on average, 85.3% of pregnant women registered before 14 weeks of gestation, 157 cases of chromosomal pathology and 126 cases of congenital malformations were detected. However, in 55 cases, the diagnosis of fetal chromosomal pathology was not suspected during screening, and the patients were not at risk and gave birth to sick children (all children had trisomy 21). At the same time, in 1/3 of cases (in 19 patients – 34.5%), the risk of trisomy 21 was estimated as intermediate and was in the range from 1:100 to 1:1000, including in 3 women (5.5%) - in the range from 1:100 to 1:300. We suppose that patients with an intermediate risk of fetal chromosomal abnormalities need further examination to verify the diagnosis, and they should be informed about the possibilities of a non-invasive prenatal test.

Key words: prenatal screening, chromosomal pathology, trisomy 21 chromosomal, pregnancy.

For citation: Zaytseva E.S., Zhukova T.P., Ratnikova S.Y., Artemicheva I.L. Analysis of trisomy 21 risk in early prenatal screening. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 79-80 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.79-80

For correspondence: Zaytseva E.S.; e-mail: katya772635@yandex.ru

Financing. The study had no sponsor support.

Conflict of interest. The authors declare lack of the possible conflicts of interests.

Accepted: 20.05.2020

Несмотря на то, что ранний пренатальный скрининг (РПС) существенно повышает выявляемость врожденной и наследственной патологии на антенатальном этапе [1,2], в ряде случаев беременные, у плода которых имеются скринируемые хромосомные аномалии, не относятся к группе риска. Дополнительная оценка показателей риска в этих случаях целесообразна, и позволяет оптимизировать результативность РПС.

Цель – дать оценку показателей риска трисомии 21 у пациенток, не отнесенных к группе риска по данной патологии плода, но родивших детей с синдромом Дауна.

Материалы и методы

Источником информации для проведения настоящего исследования являлась база данных программы «Astraia» (55 тыс. женщин, обследованных в I триместре беременности). Анализ проводился с использованием аудита данной программы.

Результаты

Анализ результатов РПС в Ивановской области за период 2013–2019 г.г. показал, что при охвате скринингом, в среднем, 85,3% беременных, вставших на учет до 14 недель гестации, выявлено 157 случаев хромосомной патологии и 126 случаев врожденных пороков развития, что в сумме составляет, в среднем, 0,44% от числа обследованных. В динамике этот показатель из года в год увеличивался (от 0,32%, в 2013 г. до 0,74% в 2019 г.). Однако в 55 случаях хромосомная патология плода не была заподозрена при скрининге, пациентки не попали в группу риска и родили больных детей (все дети имели трисомию 21). При этом в трети случаев (у 19 пациенток – 34,5%) риск трисомии 21 оценивался как промежуточный и находился в интервале от 1:100

до 1:1000, в том числе у 3 женщин (5,5%) – в интервале от 1:100 до 1:300.

Выводы

Мы полагаем, что пациентки с промежуточным значением риска хромосомной патологии плода по данным РПС нуждаются в дальнейшем обследовании с целью верификации диагноза, и их необходимо информировать о возможностях неинвазивного пренатального теста, основанного на определении плодовой ДНК в крови матери. Учитывая, что данный метод характеризуется более высокой чувствительностью, целесообразно его использование у пациенток с промежуточным риском хромосомной патологии с целью уточнения показаний для инвазивной пренатальной диагностики.

Литература

1. Жученко Л. А., Голошубов П. А., Андреева Е. Н., Калашникова Е. А., Юдина Е. В., Ижевская В.Л. Анализ результатов раннего пренатального скрининга, выполняющегося по национальному приоритетному проекту «Здоровье» в субъектах Российской Федерации. результаты российского мультицентрового исследования «Аудит-2014». *Медицинская генетика*. 2014; (6): 3–43
2. Nicolaides K.N. Screening for fetal aneuploidies at 11–13 weeks. *Prenatal diagnosis*. 2011; (31): 7–15

References

1. Zhuchenko L. A., Goloshubov P. A., Andreeva E. N., Kalashnikova E. A., Yudina E. V., Izhevskaya V.L. Analiz rezul'tatov rannego prenatal'nogo skrininga, vypolnyayushchegosya po natsional'nomu prioritetnomu proektu «zdorov'e» v sub'ektakh rossiyskoy federatsii. rezul'taty rossiyskogo mul'titsentrovogo issledovaniya «Audit-2014». [Analysis of the results of early prenatal screening performed under the national priority project «health» in the subjects of the Russian Federation. results of the Russian multicenter study «Audit-2014»]. *Meditsinskaya genetika [Medical genetics]* 2014; (6): 3–43 (In Russ)
2. Nicolaides K.N. Screening for fetal aneuploidies at 11–13 weeks. *Prenatal diagnosis*. 2011; (31): 7–15



Программное обеспечение раннего пренатального скрининга врожденных пороков развития у детей

Матулевич С.А., Голихина Т.А., Горобинский С.В., Шумливая Е.О.

ГБУЗ «Научно-исследовательский институт - Краевая клиническая больница №1 имени профессора С.В. Очаповского»
Министерства здравоохранения Краснодарского края.
350086, Краснодар, ул.1 Мая, д. 167

Разработан программный комплекс «Пренатальный скрининг» для раннего пренатального скрининга врожденных пороков развития у детей в Краснодарском крае.

Ключевые слова: пренатальный скрининг, программное обеспечение.

Для цитирования: Матулевич С.А., Голихина Т.А., Горобинский С.В., Шумливая Е.О. Программное обеспечение раннего пренатального скрининга врожденных пороков развития у детей. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 81-82.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.81-82

Автор для корреспонденции: Голихина Татьяна Александровна; e-mail: tgoihina@mail.ru

Источники финансирования: исследование инициативное, финансирование не оказывалось.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

The software for early prenatal screening of congenital malformations in children

Matulevich S.A., Golikhina T.A., Gorobinskiy S.V., Shumlivaya E.O.

Scientific Research Institute – Ochapovsky Regional Clinical Hospital №1,
167, 1st May str., Krasnodar, 350086, Russia

The software package «Prenatal Screening» has been developed for early prenatal screening of congenital malformations in children in Krasnodar region.

Keywords: prenatal screening, software.

For citation: Matulevich S.A., Golikhina T.A., Gorobinskiy S.V., Shumlivaya E.O. The software for early prenatal screening of congenital malformations in children. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 81-82. (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.81-82

Corresponding author: Golikhina Tatiana Aleksandrovna; e-mail: tgoihina@mail.ru

Funding: proactive research, no funding provided

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

Accepted: 20.05.2020

С целью оптимизации раннего пренатального скрининга ВПР в крупном регионе проведены разработка и внедрение в практику программного комплекса «Пренатальный скрининг».

Материалы и методы

Программный комплекс «Пренатальный скрининг» разработан при помощи средств MS Access и включает в себя основную программу и программные модули для кабинетов УЗИ.

Полученные результаты

В Краснодарском крае скрининг беременных на врожденные пороки развития в I триместре проводит-

ся с 2012 г. На базе межрайонных перинатальных центров были организованы 14 межмуниципальных кабинетов пренатальной диагностики (МКПД), в которых проводится ультразвуковое исследование (УЗИ) и забор крови в сроке 11–14 недель беременности. В биохимической лаборатории медико-генетической консультации (МГК) ГБУЗ «Научно-исследовательский институт - Краевая клиническая больница №1 имени профессора С.В.Очаповского» организовано исследование образцов крови, поступающих из всех МКПД, на сывороточные маркеры (ПАПП-А и β ХГЧ) с последующим расчетом риска по хромосомной патологии у плода.

Для оптимизации процесса обследования беременных в крае с населением более 5,5 млн человек (до 70 тысяч родов в год) был разработан и внедрен программный комплекс «Пренатальный скрининг».



В МГК установлена основная программа «Скрининг беременных», а в МКПД – программные модули «Регистрация беременных», предназначенные для ввода информации о беременной, печати протокола УЗИ и направления для сдачи анализа крови. Первичная информация о беременных на электронных носителях доставляется в лабораторию МГК вместе с образцами крови. Сотрудники лаборатории контролируют качество поступивших образцов крови, экспортируют информацию с электронного носителя в программу «Скрининг беременных». Программа консолидирует информацию о всех беременных края, присваивает каждой уникальный номер и формирует список для исследований. Каждый образец крови получает свой уникальный штрих-код, которым маркируется пробирка.

Исследования сывороточных маркеров проводятся на автоматическом анализаторе «Автодельфия» (Perken Elmer), позволяющем одновременно работать с большим количеством образцов крови. Результаты отражаются в программе «Скрининг беременных». Расчет комбинированного риска осуществляется программами Life Cycle и Astraia с учетом ограничений и особенностей каждой из программ. Программа Life Cycle предназначена для работы с большим массивом данных, оптимальна для проведения массового скрининга беременных, позволяет импортировать все необходимые данные из программы «Скрининг беременных», автоматически рассчитывать риск одновременно для большого количества обследуемых по пяти хромосомным патологиям (трисомия 21, трисомия 18, трисомия 13, синдром Тернера, полиплоидии) при копчико-теменном размере (КТР) плода 41–79 мм. Программа Astraia предусматривает только индивидуальный расчет риска по трем хромосомным патологиям (трисомия 21, трисомия 18, трисомия 13) при наличии у врача УЗИ сертификата FMF (fetal medicine foundation) и КТР плода 45–84 мм [1]. Результаты расчетов объединяются в базе данных программы «Скрининг беременных». В индивидуальной карте беременной, прошед-

шей пренатальный скрининг, отражается вся необходимая информация о женщине, данные проведенных исследований, дата вызова и явки беременной высокого риска (1:100) в МГК, результаты инвазивной пренатальной диагностики (ИПД), исходы беременности. Предусмотрена возможность отследить исход родов через поиск в базе новорожденных программы «Неоскрин», которая была ранее разработана и внедрена на всей территории Краснодарского края. Программа также позволяет проводить статистический анализ и осуществлять контроль за проведением скрининга беременных. Расчет риска по двум программам (Life Cycle и Astraia) позволил охватить скринингом большее число беременных (2012 г. – 72,6%, 2019 г. 91,3%), пренатально диагностировать за 2012–2019 гг. 594 случая синдрома Дауна у плода. При расчете риска только в программе Life Cycle было бы диагностировано 446 случаев, только в программе Astraia – 442. Таким образом, 25% из числа выявленных случаев синдрома Дауна были бы пропущены при работе только с одной из программ.

Выводы

Внедрение программного комплекса «Пренатальный скрининг» позволило отказаться от большого массива бумажных носителей, значительно снизить трудозатраты сотрудников МКПД и МГК, минимизировать ошибки ввода данных, исключить неправильные трактовки полученных данных, оперативно вызывать беременных высокого риска в МГК для проведения уточняющей диагностики и инвазивной пренатальной диагностики, проводить регулярный анализ по организации скрининга, формировать отчеты.

Литература/References

1. Nicolaides K.H. Screening for fetal aneuploidies at 11 to 13 weeks. *Prenat Diagn.*, 2011. 31(1): 7–15.



Возможности генетической диагностики нарушений репродукции у супружеской пары

Курило Л.Ф., Сорокина Т.М., Штаут М.И., Андреева М.В., Хаят С.Ш., Брагина Е.Е., Добродеева Л.Т., Черных В.Б.

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»
115522, Москва, ул. Москворечье, д. 1

Приведена информация о необходимости использования современных генетических методов диагностики у пациентов с нарушением репродукции.

Ключевые слова: половая система, репродукция, бесплодие, гаметы, сперматозоид, яйцеклетка.

Для цитирования: Курило Л.Ф., Сорокина Т.М., Штаут М.И., Андреева М.В., Хаят С.Ш., Брагина Е.Е., Добродеева Л.Т., Черных В.Б. Возможности генетической диагностики нарушений репродукции у супружеской пары. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 83-84

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.83-84

Автор для корреспонденции: Курило Любовь Федоровна; e-mail: kurilo@med-gen.ru

Финансирование: Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Opportunities of genetic diagnostics of reproduction disorders in a married couple

Kurilo L.F., Sorokina T.M., Shtaut M.I., Andreeva M.V., Khayat S.Sh., Bragina E.E., Dobrodeeva L.T., Chernykh V.B.

Research Centre for Medical Genetics
Moskvorechie st. 1, Moscow, 115522, Russia

There is high relevance of medical genetics examination and genetic counseling in patients with reproductive pathology.

Keywords: reproductive system, reproduction, infertility, gametes, sperm, egg

For citation: Kurilo L.F., Sorokina T.M., Shtaut M.I., Andreeva M.V., Khayat S.Sh., Bragina E.E., Dobrodeeva L.T., Chernykh V.B. Opportunities of genetic diagnostics of reproduction disorders in a married couple. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 83-84 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.83-84

Corresponding author. Kurilo L.F.; e-mail: kurilo@med-gen.ru

Funding. The study was carried out as part of the state task of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation for Research Centre for Medical Genetics.

Conflict of interest: The authors declare that they have no conflict of interest.

Accepted: 20.05.2020

Проблема выявления причин нарушения репродукции возникает более чем у 15% супружеских пар. В среднем у 50% из них бесплодие является следствием нарушений в мужской половой системе, в 50% случаев оно возникает по причине нарушений функции органов женской половой системы. Часто отмечаются случаи сочетанного (мужского и женского факторов) нарушения фертильности у супружеской пары. Причины развития нарушений репродукции разнообразны, они могут быть индуцированы негативными воздействиями на репродуктивную систему различных факторов — химических, физических и биологических, в том числе — на гонадогенез и гаметогенез.

Среди супружеских пар с нарушением репродукции встречаются как пациенты с первичным бесплодием, так и с невынашиванием беременности. Супружеской паре в этих случаях необходимо комплексное обследование (акушера-гинеколога/репродуктолога уролога-ан-

дролога, эндокринолога, врача-генетика), в ходе которого в зависимости от клинической картины и тяжести нарушений деторождения будет определена дальнейшая схема обследования, тактика решения проблемы репродукции. Одним из первых этапов после сбора информации о проблемах репродукции у данной пары (характере менструального цикла, характеристике фолликулярной системы яичников и показателей сперматогенеза, отсутствию или наличию зачатия и др.) должно быть клинико-генетическое обследование, включая сбор семейного/генеалогического анамнеза от жены и мужа, проведение стандартного цитогенетического исследования (анализ кариотипа) на лимфоцитах периферической крови, которое должно быть выполнено обоим супругам.

Если беременность завершилась гибелью эмбриона (плода) или мертворождением, обязательно исследование его материала с патолого-анатомическим описанием и проведением цитогенетического анализа, а в случае

выявления хромосомных аномалий или при привычном невынашивании беременности — также и анализа кариотипа супружеской пары. При выявлении хромосомных аномалий в ряде случаев (например, при наличии маркерной хромосомы в кариотипе, при подозрении на скрытый мозаицизм, для уточнения типа перестройки и точек разрыва и др.) требуется дополнительное молекулярно-цитогенетическое исследование — флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH) на соматических клетках. У мужчин-носителей хромосомных аномалий по показаниям (например, при наличии аномалий кариотипа, химиотерапии в анамнезе, неудачи программ ВРТ неясного генеза и др.) показан FISH анализ на анеуплоидию в сперматозоидах (кроме пациентов с азооспермией, криптозооспермией и тяжелой формой олигозооспермии).

У пациентов с мужским бесплодием, обусловленным азооспермией или олигозооспермией тяжелой степени, выполняют стандартное цитогенетическое исследование, при необходимости дополняемое FISH, анализ на микроделеции Y-хромосомы в локусе AZF, поиск частых патогенных вариантов и 5T аллеля гена муковисцидоза (*CFTR*), определение количества CAG —повторов в экзоне 1 гена рецептора андрогенов.

В ряде случаев, и особенно мужчинам с выраженной астенозооспермией или тератозооспермией, а также астенотератозооспермией тяжелой степени, с неудачами программ ЭКО/ICSI рекомендовано проведение трансмиссионной электронной микроскопии сперматозоидов (ЭМИС) для выявления ультраструктурных нарушений мужских гамет (с оценкой состояния хроматина, аномалий акросомы и аксонемы, центромер, компонентов жгутика, митохондрий и др. структур) [1].

По показаниям (например, наличия азооспермии/криптозооспермии) при получении биопсийного материала яичек может быть выполнен анализ синаптонемного комплекса (СК) хромосом, обеспечивающего конъюгацию гомологичных родительских хромосом в зиготене профазы I мейоза и рекомбинацию (кроссинговер) в пахитене профазы I мейоза. СК — является важнейшим индикатором динамики мейоза и изменчивости хромосом в мужских половых клетках [2].

С учетом того, что последовательные этапы оогенеза до заключения ооцита в диплотене в примордиальный фолликул и формирование пула половых клеток в примордиальных фолликулах — овариальный резерв (достигающий в максимуме 2–7 млн в яичниках у плодов), протекает у женщин в ее антенатальном периоде [3], комплексное исследование состояния оогенеза женщины существенно ограничено. Остается нерешенной необходимостью реальной оценки состояния женских половых клеток и фолликулов яичника. При проведении УЗИ яичников возможно выявление и подсчет лишь полостных (антральных фолликулов размером более 2 мм в диаметре), т.е. недоступна оценка состава

пула примордиальных и растущих фолликулов. Подсчет количества примордиальных и растущих фолликулов возможен лишь на препаратах биоптата яичников, получаемых строго по медицинским показаниям.

Пациенты с нарушением формирования пола (НФП), тяжелыми формами нарушения репродукции, в том числе пациентки с преждевременной недостаточностью яичников (СПНЯ) требуют особенно тщательного комплексного медико-генетического обследования. Нарушение гонад и гаметогенеза имеет полиэтиологическую природу, а генетические нарушения высоко гетерогенны и могут быть обусловлены как хромосомными аномалиями, вариациями числа копий (CNV), так и генными и эпигенетическими нарушениями. Пациенткам с незрелыми ооцитами, неудачами оплодотворения, нарушением ранних стадий развития эмбрионов помимо анализа кариотипа могут быть рекомендованы анализ патогенных вариантов гена *TBB8*, исследование инактивации X-хромосомы, андрологическое и генетическое дообследование супруга.

Таким образом, в случае нарушения репродукции у супружеской пары, необходим тщательный сбор семейного анамнеза и комплексное клиническое и медико-генетическое обследование обоих супругов с учетом индивидуальных особенностей каждого из них и супружеской пары в целом.

Литература

1. Брагина Е.Е., Бочарова Е.Н. Количественное электронно-микроскопическое исследование сперматозоидов при диагностике мужского бесплодия. Андрология и генитальная хирургия. 2014;15(1):41–50.
2. Богданов Ю.Ф., Коломиец О.Л. Синаптонемный комплекс — индикатор динамики мейоза и изменчивости хромосом. М.: КМК, 2007. 358 с.
3. Курило Л.Ф. Закономерности овариогенеза и оогенеза млекопитающих: хронология и динамика развития гонад, гамет и фолликулов человека и млекопитающих животных. — Saarbrücken : Lambert acad. publ., 2012. — 282 с.

References

1. Bragina E.E., Bocharova E.N. Kolichestvennoye elektronno-mikroskopicheskoye issledovaniye spermatozoidov pri diagnostike muzhskogo besplodiya [Quantitative electron microscopic examination of spermatozoa in the diagnosis of male infertility]. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya* [Andrology and genital surgery]. 2014; 15 (1): 41–50. (In Russ.)
2. Bogdanov Yu.F., Kolomiyets O.L. Sinaptonemnyy kompleks — indikator dinamiki meyoza i izmenchivosti khromosom [The synaptonem complex is an indicator of the dynamics of meiosis and chromosome variability]. М.: КМК, 2007. 358 p. (In Russ.)
3. Kurilo L.F. Zakonomernosti ovariogeneza i oogeneza mlekopitayushchikh: khronologiya i dinamika razvitiya gonad, gamet i follikulov cheloveka i mlekopitayushchikh zhivotnykh [Patterns of ovario-genesis and oogenesis of mammals: the chronology and dynamics of the development of gonads, gametes and follicles of humans and mammals]. - Saarbrücken: Lambert acad. publ., 2012. 282 p. (In Russ.)



Современные возможности и подходы к диагностике генетических нарушений фертильности у мужчин

Сорокина Т.М., Курило Л.Ф., Черных В.Б.

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»
115522, Москва, ул. Москворечье, д.1

Рассмотрены современные возможности медико-генетического обследования мужчин с нарушением фертильности, а также приведены показания и алгоритмы диагностики генетических причин мужского бесплодия, связанного с различными формами патозооспермии.

Ключевые слова: азооспермия, мужское бесплодие, хромосомные аномалии, хромосомный микроматричный анализ, секвенирование экзома

Для цитирования: Сорокина Т.М., Курило Л.Ф., Черных В.Б. Современные возможности и подходы к диагностике генетических нарушений фертильности у мужчин. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 85-86

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.85-86

Автор для корреспонденции: Сорокина Татьяна Михайловна; **e-mail:** reprolab@med-gen.ru

Финансирование: Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования России на выполнение НИР.

Конфликт интересов: Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Modern opportunities and approaches to diagnosis of genetic male infertility

Sorokina T.M., Kurilo L.F., Chernykh V.B.

Research Center for Medical Genetics
Moskvoreche Street 1, Moscow, 115522, Russia

The current possibilities of a genetic examination of infertile men, as well as indications and diagnostic algorithms for the genetic causes of male infertility associated with various forms of pathozoospermia are presented.

Key words: azoospermia, male infertility, chromosome abnormalities, array comparative genomic hybridization, exome sequencing.

For citation: Sorokina T.M., Kurilo L.F., Chernykh V.B. Modern opportunities and approaches to diagnosis of genetic male infertility. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 85-86 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.85-86

Corresponding author: Sorokina Tatyana; **e-mail:** reprolab@med-gen.ru

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

Conflict interest: The authors declare no conflict of interest.

Accepted: 20.05.2020

Фертильность мужчины в значительной мере зависит от его репродуктивного здоровья, в частности от сперматологических показателей. Снижение количественных и/или качественных показателей эякулята диагностируют у 50–60% супружеских пар с бесплодием. Причины нарушений фертильности разнообразны, но наибольшую частоту генетически обусловленных нарушений фертильности отмечают при выраженной патозооспермии. Согласно данным исследования эякулята всех пациентов с бесплодием в браке можно стратифицировать согласно сперматологическим диагнозам. При этом использование различных методов лабораторной диагности-

ки генетически обусловленных нарушений репродуктивной функции у мужчин зависит от формы патозооспермии.

Вне зависимости от показателей спермограммы после клинко-генетического обследования всем пациентам с нарушением фертильности рекомендовано выполнение стандартного цитогенетического исследования (СЦИ). При отсутствии аномалий кариотипа мужчинам с азооспермией и олигозооспермией тяжелой степени неясного генеза необходимо проведение молекулярно-генетического исследования на делеции Y-хромосомы, патогенные варианты и 5T аллель гена *CFTR*. Параллельно может быть выполнено

ЗАМЕТЬ! ЗАПОДОЗРИ! ИСКЛЮЧИ!

ЭТО МОЖЕТ БЫТЬ БОЛЕЗНЬ ФАБРИ



Несмотря на то, что болезнь **Фабри** – редкое заболевание, она часто встречается среди родственников пациентов².

ОБРАТИТЕ ВНИМАНИЕ НА СЛЕДУЮЩИЕ НАСТОРАЖИВАЮЩИЕ ПРИЗНАКИ:



ПОЧКИ:⁵

- Микроальбуминурия, протеинурия
- Увеличенная экскреция GL-3 с мочой
- Изменение тубулярной реабсорбции, секреции и экскреции
- Поражение почек, которое может привести к ХПН и необходимости проведения диализа



СЕРДЦЕ:^{3, 5}

- Гипертрофия миокарда левого желудочка, аритмия
- Сердечная недостаточность
- Инфаркт миокарда
- Пороки сердца (митральная недостаточность)



КОЖА:²

- Ангиокератомы: скопление темно-красных пятен, которые не бледнеют при надавливании, располагаются в основном на ягодицах, в области паха, пупка и верхней части бедер
- Пониженное потоотделение / отсутствие потоотделения



НЕРВНАЯ СИСТЕМА:^{1, 4}

- Акропарестезии, характеризующиеся онемением, покалыванием, жгучей болью и дискомфортом в ладонях и подошвах стоп
- «Кризисы Фабри» – острые приступы, мучительная боль, которая обычно начинается в конечностях и иррадирует к центру, могут длиться от нескольких минут до нескольких недель
- Непереносимость жары, холода и физических нагрузок
- Снижение слуха и шум в ушах
- Ранние инсульты, гемиплегия, гемипарез
- Транзиторные ишемические атаки



ГЛАЗА:^{2, 6}

- Помутнение роговицы в виде завитка, которое не ослабляет зрение
- Повреждение сосудов конъюнктивы и сетчатки



ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫЙ ТРАКТ:^{2, 6}

- Метеоризм и боли, возникающие после приема пищи, спазмы, тошнота и диарея
- Другие признаки желудочно-кишечных расстройств

Узнайте больше на
DOCSFERA.RU



ПРИ ПОДОЗРЕНИИ НА БОЛЕЗНЬ ФАБРИ КРАЙНЕ ВАЖНО ПРОВЕСТИ ДИАГНОСТИКУ. ДЛЯ ЭТОГО ВЫ МОЖЕТЕ НАПРАВИТЬ ПАЦИЕНТА К ВРАЧУ-ГЕНЕТИКУ ИЛИ ПОЗВОНИТЬ НА ГОРЯЧУЮ ЛИНИЮ ДЛЯ УТОЧНЕНИЯ ЛАБОРАТОРИЙ, ПРОВОДЯЩИХ БЕСПЛАТНУЮ ДИАГНОСТИКУ 8 (800) 100-24-94

Санofi Джензайм, представительство АО «Санofi Авентис Групп»
125009, г. Москва, ул. Тверская, д. 22. Телефон 8 (495) 721-14-00

SANOFI GENZYME

ДАННАЯ ИНФОРМАЦИЯ ПРЕДНАЗНАЧЕНА ТОЛЬКО ДЛЯ СПЕЦИАЛИСТОВ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ.

1. Arning K, Naleschinski D, Maag R, et al. FabryScan: a screening tool for early detection of Fabry disease. J Neurol (2012) 259:2393–2400. 2. Robert J. Desnick, Roscoe Brady, John Barranger et al. Fabry Disease, an Under-Recognized Multisystemic Disorder: Expert Recommendations for Diagnosis, Management, and Enzyme Replacement Therapy. Ann Intern Med. 2003; 138:338–346. 3. Patel MR, Cecchi F, Cizmarik M, et al. Cardiovascular events in patients with Fabry disease: natural history data from the Fabry registry. J Am Coll Cardiol. 2011; 57(9):1093–1099. 4. Sims K, Politei J, Banikazemi M, et al. Stroke in Fabry disease frequently occurs before diagnosis and in the absence of other clinical events: natural history data from the Fabry Registry. Stroke. 2009; 40(3):788–794. 5. Schiffmann R, Warnock DG, Banikazemi M, et al. Fabry disease: progression of nephropathy, and prevalence of cardiac and cerebrovascular events before enzyme replacement therapy. Nephrol Dial Transplant. 2009; 24(7):2102–2111. 6. Mehta A, West ML, Pintos-Morell G et al. Therapeutic goals in the treatment of Fabry disease. Genet Med. 2010 Nov; 12(11):713–20

определение числа CAG-повторов гена *AR*. В случае подозрения на моногенные формы нарушений репродуктивной системы может быть выполнен таргетный анализ гена(ов), связанных с синдромальными формами азооспермии и олигозооспермии, с моногенными наследственными заболеваниями/формами нарушения формирования пола (НФП). При отсутствии синдромальных форм и не выявленных генетических нарушений в упомянутых выше исследованиях в качестве дополнительного углубленного исследования можно рекомендовать секвенирование экзома или генома, хромосомный микроматричный анализ (ХМА) для выявления вариаций числа копий (CNV), связанных с нарушением мужской фертильности.

При выраженной (тотальной и субтотальной) астенозооспермии, тератозооспермии и астенотератозооспермии тяжелой степени, а также при наличии в анамнезе неудачных программ ЭКО/ICSI рекомендовано электронно-микроскопическое исследование сперматозоидов (ЭМИС) для выявления ультраструктурных нарушений мужских гамет (например, синдрома «незрелого» хроматина, дисплазии фиброзного слоя, аномалий акросомы, аксонемы, центриоли и других структур сперматозоида, необходимых для оплодотворения/развития эмбриона). Для диагностики синдромальных форм тератозооспермии возможен таргетный анализ генов или небольших генных панелей (например, при глобулозооспермии – *DPY19L2*, *SPATA16*, *CSNK2A2*). В случаях мужского бесплодия с высоко гетерогенными выраженными нарушениями строения и функций сперматозоидов, например при первичной цилиарной дискинезии (ПЦД), показано секвенирование экзома/генома, которое при необходимости может быть дополнено таргетным анализом ответственных генов и анализом их копийности/CNV, например, методом МЛРА.

Пациентам с наличием синдромальных форм нарушений репродукции, вызванных генными мутациями, показан таргетный анализ генов (например, при синдроме Рейфенштейна и мягких формах нечувствительности к андрогенам – анализ мутаций гена *AR*). Исследование генных панелей путем экзомного секвенирования показан для генетически гетерогенных синдромальных форм, например, синдроме Кальмана и других вариантах гипогонадотропного гипонадизма.

При выявлении у плода или ребенка хромосомных аномалий, а также при повторных неудачах программ ЭКО/ICSI, в том числе связанных с выраженной анеуплоидией у эмбрионов при ПГТ-А, при наличии в анамнезе мутагенного воздействия, которое может увеличивать частоту анеуплоидии в гаметах (например, при химиотерапии, радиоактивном облучении), рекомендован анализ анеуплоидии в сперматозоидах методом флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH).

Использование дополнительных, в том числе геномных методов исследования, позволяет существенно повысить эффективность диагностики генетических нарушений фертильности, вызванных генными мутациями и CNV, а также расширять возможности профилактики наследственных заболеваний с помощью соответствующего преимплантационного генетического тестирования (ПГТ).

Литература

1. Ghedir H., Braham A., Viville S., et al. Comparison of sperm morphology and nuclear sperm quality in SPATA 16 and DPY19L2 mutated globozoospermic patients. *Andrologia* 2019; 13277.
2. Leigh M.W., Horani A., Kinghorn B. et al. Primary ciliary dyskinesia (PCD): a genetic disorder of motile cilia. *Transl. Sci. Rare Dis.* 2019; (4): 51–75.
3. Соловова О.А., Черных В.Б. Гены несиндромальных форм азооспермии и олигозооспермии тяжелой степени. *Андрология и генитальная хирургия* 2019; 20 (2): 16–28.
4. Черных В.Б., Яманди Т.А., Сафина Н.Ю. Новые молекулярные технологии в диагностике генетических причин мужского бесплодия. *Андрология и генитальная хирургия* 2017; 18 (1): 10–22.

References

1. Ghedir H., Braham A., Viville S., et al. Comparison of sperm morphology and nuclear sperm quality in SPATA 16 and DPY19L2 mutated globozoospermic patients. *Andrologia* 2019; 13277.
2. Leigh M.W., Horani A., Kinghorn B. et al. Primary ciliary dyskinesia (PCD): a genetic disorder of motile cilia. *Transl. Sci. Rare Dis.* 2019; (4): 51–75.
3. Solovova O.A., Chernykh V.B. Geny nesindromal'nykh form azoospermii i oligozoospermii tyazhelyy stepeni [Genes of non-syndromic forms of azoospermia and severe oligozoospermia]. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya [Andrology and genital surgery]* 2019; 20 (2): 16–28. (In Russ)
4. Chernykh V.B., Yamandi T.A., Safina N.Yu. Novyye molekulyarnyye tekhnologii v diagnostike geneticheskikh prichin muzhskogo besplodiya [New molecular technologies in the diagnosis of the genetic causes of male infertility]. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya [Andrology and genital surgery]* 2017; 18 (1): 10–22. (In Russ)

Влияние робертсоновских транслокаций на сперматологические показатели

Андреева М.В., Штаут М.И., Сорокина Т.М., Курило Л.Ф., Черных В.Б.

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»
115522, Москва, ул. Москворечье, д. 1

Обследованы 19 мужчин с нарушением фертильности, носителей транслокаций $rob(13;14)$ и $rob(13;15)$. Показано, что нарушение репродуктивной функции обусловлено блоком сперматогенеза в профазе I мейоза, приводящего к азооспермии или олигоастенотератозооспермии и мужскому бесплодию.

Ключевые слова: робертсоновские транслокации, микроделеции, патозооспермия, сперматогенез, мейоз, мужское бесплодие, AZF, Y-хромосома.

Для цитирования: Андреева М.В., Штаут М.И., Сорокина Т.М., Курило Л.Ф., Черных В.Б. Влияние робертсоновских транслокаций на сперматологические показатели. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 87-88

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.87-88

Автор для корреспонденции: Андреева Марина Владимировна; **e-mail:** m.v.andreeva@bk.ru

Финансирование: Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Поступила: 20.05.2020

The influence of Robertsonian translocations on semen parameters

Andreeva M.V., Shtaut M.I., Sorokina T.M., Kurilo L.F., Chernykh V.B.

Research Centre for Medical Genetics
Moskvorechie st.1, Moscow, 115522, Russia

We examined 19 infertile men, carriers of translocations $rob(13;14)$ and $rob(13;15)$. We assume that fertility problems are resulted from spermatogenesis impairment because of meiotic arrest at prophase I stages, that leads to azoospermia or oligoasthenoteratozoospermia and male infertility.

Key words: Robertsonian translocation, microdeletions, pathozoospermia, spermatogenesis, meiosis, male infertility, AZF, Y-chromosome

For citation: Andreeva M.V., Shtaut M.I., Sorokina T.M., Kurilo L.F., Chernykh V.B. The influence of Robertsonian translocations on semen parameters. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 87-88 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.87-88

Corresponding author: Andreeva Marina; **e-mail:** m.v.andreeva@bk.ru

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

Conflict interest: The authors declare no conflict of interest.

Accepted: 20.05.2020

Робертсоновские транслокации (РТ) являются одними из наиболее распространенных типов сбалансированных хромосомных перестроек. Среди мужчин с нарушением фертильности частота встречаемости носителей РТ в 8–10 раз выше общепопуляционной [1]. **Цель** – оценить состояние сперматогенеза и возможные причины его нарушения у мужчин-носителей РТ (13;14) и (13;15).

Материалы и методы

Обследованы 19 мужчин с нарушением фертильности, являющихся носителями РТ (rob), из них 16 муж-

чин с транслокацией $rob(13;14)$ и 3 носителя транслокации $rob(13;15)$. РТ выявлены в результате цитогенетического исследования (анализ кариотипа в лимфоцитах периферической крови с использованием GTG-окрашивания). Всем пациентам выполняли стандартное спермиологическое исследование (согласно Руководству ВОЗ). Кроме этого, пяти носителям РТ проведен количественный кариологический анализ незрелых половых клеток (ККА НПК) из осадка эякулята (патент Л.Ф. Курило №2328736). У 15 из 19 пациентов методом мультиплексной ПЦР выполнен поиск частых микроделетций длинного плеча Y-хромосомы в локусе AZF (azoospermia factor, локус Yq11.21-q11.23).

Результаты

По данным стандартного спермиологического исследования у всех обследованных пациентов обнаружена патозооспермия, при этом у 14 из 19 (74%) мужчин диагностированы ее тяжелые формы (азооспермия и олигозооспермия тяжелой степени). У 15 (79%) пациентов выявлена низкая концентрация сперматозоидов в сочетании со сниженным количеством прогрессивно подвижных и морфологически нормальных сперматозоидов (олигоастенотератозооспермия), у 3 (16%) мужчин сперматозоиды в эякуляте отсутствовали (азооспермия). Астенотератозооспермия (снижение количества прогрессивно подвижных и морфологически нормальных сперматозоидов) отмечена только у одного (5%) пациента.

У всех 5 пациентов, обследованных методом ККА НПК, в осадке эякулята выявлены признаки нарушения сперматогенеза на разных стадиях развития половых клеток, повышенное количество неидентифицированных (дегенерировавших) половых клеток, подвергшихся апоптозу. Признаки частичного блока сперматогенеза на допахитенных стадиях профазы I мейоза обнаружены у 4 пациентов с олигоастенотератозооспермией, а признаки нарушения спермиогенеза (увеличение количества неразшедшихся сперматид) выявлены у пациента с астенотератозооспермией и у одного из четырех пациентов с олигоастенотератозооспермией.

У 5 (33%) из 15 пациентов, у которых выполнили поиск частых микроделеций длинного плеча Y-хромосомы, обнаружены делеции региона AZFc. У 33% (4 из 12) мужчин с кариотипом 45,XY,der(13;14)(q10;q10) обнаружены частичные делеции региона AZFc – del 'b2/b3', del 'b1/b3', а у одного из трех пациентов с кариотипом 45,XY,der(13;15)(q10;q10) обнаружена полная делеция региона AZFc (del 'b2/b4'). Выявленная частота микроделеций Y-хромосомы у мужчин-носителей РТ превышает их частоту среди российских мужчин с бесплодием и нормальным кариотипом (33% против 19,1%) [2].

Не обнаружено статистически значимых различий концентрации, количества (%) морфологически нормальных и прогрессивно подвижных сперматозоидов у носителей РТ (13;14) с частичными делециями и без делеций в регионе AZFc.

Выводы

Для всех обследованных мужчин-носителей РТ характерна патозооспермия, варьирующая от умеренных (астенотератозооспермия) до тяжелых форм (азооспермия и олигоастенотератозооспермия тяжелой степени). У пациентов с олигоастенотератозооспермией выявлены признаки частичного блока сперматогенеза на допахитенных стадиях профазы I мейоза. Не выявлено влияния микроделеций региона AZFc на форму патозооспермии у мужчин носителей РТ.

Таким образом, у большинства мужчин-носителей РТ, проблемы с фертильностью обусловлены выраженным нарушением сперматогенеза, связанным с нарушением мейотического процесса, приводящего к азооспермии или олигоастенотератозооспермии и мужскому бесплодию.

Литература

1. Van Assche E., Bonduelle M., Tournaye H. et al. Cytogenetics of infertile men. *Human Reproduction* 1996; (11): 1–26.
2. Черных В.Б., Кузнецова И.А., Рыжкова О.П. и др. Делеции AZFc региона Y-хромосомы у мужчин с бесплодием и фертильных российских мужчин. // *Актуальные аспекты молекулярной генетики*. Материалы конференции. Суздаль, 2016; 35-37.

References

1. Van Assche E., Bonduelle M., Tournaye H. et al. Cytogenetics of infertile men. *Human Reproduction* 1996; (11): 1–26.
2. Chernykh V. B., Kuznetsova I. A., Ryzhkova O. P. et al. Delecii AZFc regiona Y-hromosomy u muzhchin s besplodiem i fertil'nyh rossijskih muzhchin [AZFc deletions of the Y chromosome region in men with infertility and fertile Russian men]. // *Aktual'nye aspekty molekulyarnoj genetiki* [Actual aspects of molecular genetics]. Conference proceedings. Suzdal, 2016; 35–37. (In Russ.)



Частота анеуплоидии в сперматозоидах у мужчин с нарушением фертильности

Тарлычева А.А., Маркова Ж.Г., Сорокина Т.М., Черных В.Б., Шилова Н.В.

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»,
115522, г. Москва, ул. Москворечье, д.1

Хромосомные аномалии (ХА), в том числе, анеуплоидии, являются одной из причин спонтанного прерывания беременности, бесплодия, рождения детей с нарушениями и пороками развития. Одним из способов оценки вероятности возникновения анеуплоидных зигот является анализ родительских гамет, однако информации об уровне анеуплоидии в таких клетках недостаточно. Была проведена оценка частоты анеуплоидии, совместимой с жизнеспособностью зигот, в ядрах сперматозоидов 82 фенотипически нормальных бесплодных мужчин с нормальным и нарушенным сперматогенезом.

Ключевые слова: нормозооспермия, олигоастенотератозооспермия, FISH сперматозоидов, анеуплоидия

Для цитирования: Тарлычева А.А., Маркова Ж.Г., Сорокина Т.М., Черных В.Б., Шилова Н.В. Частота анеуплоидии в сперматозоидах у мужчин с нарушением фертильности. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 89-90.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.89-90

Автор для корреспонденции: Тарлычева Анастасия Александровна; e-mail: atarlycheva@yandex.ru

Финансирование: Работа проведена в рамках темы НИР №115013070082 «Структурная организация генома при редких хромосомных аномалиях».

Конфликт интересов: Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов

Поступила: 20.05.20

The frequency of aneuploidy in sperm in men with impaired fertility

Tarlycheva A.A., Markova Zh.G., Sorokina T.M., Chernyh W.B., Shilova N.V.

Research Centre for Medical Genetics
Moskvorechie st.,1, Moscow, 115522, Russia

Chromosomal abnormalities (CA), including aneuploidy, are one of the causes of spontaneous abortion, infertility, developmental disorders and malformations. One way to evaluate probability of aneuploid zygotes occurrence is the analysis of parental gametes, however, information about the level of aneuploidy in such cells is insufficient. There was evaluated the frequency of aneuploidy compatible with the viability of the zygote in sperm nuclei of 82 phenotypically normal infertile men with normal and impaired spermatogenesis.

Key words: normozoospermia, oligoastenoteratozoospermia, FISH, sperm aneuploidy

For citation: Tarlycheva A.A., Markova Zh.G., Sorokina T.M., Chernyh W.B., Shilova N.V. The frequency of aneuploidy in sperm in men with impaired fertility. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 89-90 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.89-90

Corresponding author: Tarlycheva Anastasia Aleksandrovna; e-mail: atarlycheva@yandex.ru

Funding: The reported study was funded by research work №1 15013070082 "Structural organization of the genome with rare chromosomal abnormalities"

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest

Accepted: 20.05.2020

Исследование уровня анеуплоидии в гаметах мужчин с нарушением фертильности, обусловленной изменением количества и морфологии сперматозоидов, оценка вероятности формирования анеуплоидных зигот и, впоследствии, жизнеспособных эмбрионов позволяет оптимизировать медико-генетическое консультирование и тактику вспомогательных репродуктивных технологий при нарушении репродукции.

Цель и задачи исследования – провести сравнительную оценку уровня анеуплоидии при анализе

препаратов эякулята методом флуоресцентной in situ гибридизации (FISH) с использованием ДНК-зондов на хромосомы 13, 18, 21, X, Y в выборках пациентов с нормозооспермией и пациентов с различными нарушениями сперматогенеза.

Материалы и методы

Было проведено молекулярно-цитогенетическое исследование препаратов из эякулята 82 фенотипически нормальных мужчин. FISH проводили с ис-

пользованием ДНК-зондов на центромерные районы хромосом X, Y, 18 - SE X (DXZ1) / SE Y (DYZ3) / SE18(D18Z1), а также локус-специфичных ДНК-зондов на хромосомы 13 и 21 - PN 13(13q14) / 21(21q22) по протоколу производителя (Kreatech, Нидерланды). В каждом случае было проанализировано не менее 3000 клеток. Анализ осуществляли на эпифлуоресцентном микроскопе «AxioImager M.1» (CarlZeiss, Германия) с соответствующим набором светофильтров и использованием компьютерной программы обработки цифровых изображений «Isis» (MetaSystems, Германия). Полученные данные обрабатывали в программе STATISTICA 6.1.478 и Excel из пакета программ Microsoft Office 2007.

Результаты

При анализе результатов FISH в каждом случае оценивали уровни диплоидии (XY/18x2; XX/18x2; YY/18x2), дисомии по хромосомам 13, 18 и 21, а также дисомии по гомосомам (XX, YY и XY). У мужчин с нарушением фертильности частота аномальных сперматозоидов, в среднем, составляла 2,67%, что не превышает аналогичные показатели у фертильных мужчин с нормозооспермией, которая, по данным литературы составляет 3–5% [2]. По результатам спермиологического исследования пациенты были разделены на четыре группы: I – пациенты с нормозооспермией (n=37), II – пациенты с астенозооспермией (n=23), III – пациенты с астенотератозооспермией (n=11), IV – пациенты с олигозооспермией (n=11). При сравнительном анализе частоты клеток с числовыми хромосомными aberrациями наблюдались различия между исследуемыми группами пациентов. В сперматозоидах пациентов I группы отмечался самый низкий уровень анеуплоидии – 2,9%, из них доля клеток с диплоидией составила 0,4%, с дисомией по хромосоме 13 – 0,6%; по хромосоме 18 – 0,5%; по хромосоме 21 – 0,8%; с дисомией по гомосомам XX – 0,1%; YY – 0,2%; XY – 0,3%. Доля диплоидных сперматозоидов в III и IV группах была статистически значимо выше по сравнению с I группой и составила 0,7% и 1,3%, соответственно

($p < 0,05$). Доля сперматозоидов с анеуплоидией по хромосоме 13 оказалась выше во II и III группах по сравнению с таковыми у мужчин с нормозооспермией, и в каждой группе составила 0,8% ($p < 0,05$). В сперматозоидах мужчин с олигозооспермией (группа IV), по сравнению с I группой отмечается статистически значимое повышение доли клеток с анеуплоидией по хромосоме 21 – 1,3% и повышение уровня дисомии по хромосомам X и Y – 1,4% ($p < 0,05$). Доля сперматозоидов с анеуплоидией по хромосоме 18 статистически значимо не различалась во всех группах.

Выводы

Средние значения частоты анеуплоидии в сперматозоидах у бесплодных пациентов не превышают аналогичные показатели у здоровых мужчин. Однако при нарушениях сперматогенеза повышается частота сперматозоидов с анеуплоидией по хромосомам 13, 21, X, Y и с диплоидией. Таким образом, оценка анеуплоидии в сперматозоидах должна проводиться у отдельных групп пациентов с нарушением фертильности. Пациентам с тяжелыми нарушениями сперматогенеза, такими как олигозооспермия, рекомендовано применение вспомогательных репродуктивных технологий и преимплантационного генетического тестирования эмбрионов на анеуплоидии [2]. FISH сперматозоидов является быстрым и эффективным методом оценки вероятности возникновения анеуплоидных зигот и, впоследствии, жизнеспособных эмбрионов. По результатам нашего исследования самая высокая частота анеуплоидии выявлена у пациентов с бесплодием и олигозооспермией, что необходимо принимать во внимание при генетическом консультировании мужчин с нарушениями фертильности.

Литература/References

1. Calogero A., Burello N., De Palma A., et.al. Sperm aneuploidy in infertile men. *ReprodBioMed Online* 2003; 6: 310–317. [https://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483\(10\)61850-0/fulltext](https://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483(10)61850-0/fulltext) DOI:10.1016/S1472-6483(10)61850-0
2. Ioannou D., Fortun J., Tempest H.G. Meiotic nondisjunction and sperm aneuploidy in humans. *Reproduction* 2018; R15–R31.doi: 10.1530/REP-18-0318



ПЕРВЫЙ И ЕДИНСТВЕННЫЙ ПРЕПАРАТ ДЛЯ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ СМА, КОТОРЫЙ МОЖНО ПРИНИМАТЬ НА ДОМУ^{а,1-3}

ПАПА



>450 пациентов
от 2 мес. до 60 лет
приняли участие
в исследованиях³



Я

Теперь меня не остановить!

93%

составила **выживаемость** при СМА 1 типа^{b,1,4}

61%

пациентов смогли **сидеть без поддержки** 5 сек. и более при СМА 1 типа^{b,c,4}

Через 12 мес.

значительно **улучшилась или стабилизировалась двигательная функция** при СМА 2 и 3 типов по сравнению с плацебо^d

1. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Эврисди® (порошок для приготовления раствора для приема внутрь). Регистрационное удостоверение ЛП-006602 от 26.11.2020. 2. Dhillon S. Risdiplam: First Approval. Drugs. 2020 Nov;80(17):1853-1858. 3. FDA OKs First Oral Treatment for Spinal Muscular Atrophy - Medscape - Aug 07, 2020. [Электронный ресурс]: 6 ноября 2020 г. URL: <https://www.medscape.com/viewarticle/935384>. 4. Darras B.T., Masson R., Mazurkiewicz-Beldzinska M. et al. FIREFISH Part 2: 24-month Efficacy and Safety of Risdiplam in Infants with Type 1 Spinal Muscular Atrophy (SMA) (4126). Neurology Apr 2021. 96 (15 Supplement) 4126. Представлено на виртуальной конференции Американской Академии Неврологии (AAN), проходившей с 17 по 23 апреля 2021 г.

^aПоказания к применению: лечение спинальной мышечной атрофии (СМА) у взрослых и детей с 2 месяцев. ^bЧерез 24 месяца терапии. ^cШкала BSID-III (шкала развития младенцев Бейли, третья редакция), видеорегистрация, независимая оценка 2-мя экспертами. ^dПо шкале MFM-32 1,55 балла vs плацебо (95% ДИ: 0,30-2,81, p = 0,0156), RULM 1,59 балла vs плацебо (95% ДИ: 0,55-2,62, p = 0,0469).

СМА – спинальная мышечная атрофия. FIREFISH (NCT02913482) – открытое клиническое исследование, состоящее из двух частей, по оценке безопасности, переносимости, эффективности и фармакокинетики и фармакодинамики у пациентов в возрасте 2-7 месяцев со СМА 1-го типа. В первой части (n=21 пациент) исследователи оценивали несколько дозировок рисдиплама и определили терапевтическую дозу 0,2 мг/кг для второй части (n=41 пациент).

SUNFISH (NCT02908685) – многоцентровое рандомизированное плацебо-контролируемое клиническое исследование, состоящее из двух частей (1 часть, n=51 пациент; 2 часть, n=180 пациентов), по оценке по оценке безопасности, переносимости, эффективности и фармакокинетики и фармакодинамики у пациентов со СМА 2-го или 3-го типов в возрасте от 2 до 25 лет с разной степенью тяжести заболевания.

Вы можете помочь в осуществлении мониторинга безопасности препаратов компании «Рош», передав сообщение о нежелательном явлении (побочном действии) или особой ситуации (случай беременности, отсутствие эффективности и др.), ассоциированной с применением препарата, в компанию АО «Рош-Москва» по телефону +7(495) 229-29-99 (офис), электронной почте moscow_ds@roche.com или через форму обратной связи на сайте www.roche.ru.

Информация предназначена для медицинских работников.

M-RU-00002090



АО «Рош-Москва»
107031, Россия, г. Москва
Трубная площадь, д. 2,
МФК «Галерея Неглинная»
Тел./Факс: +7 (495) 229-29-99
www.roche.ru



Полная информация о препарате Эврисди® представлена в инструкции по медицинскому применению.

Чтобы ознакомиться с инструкцией по медицинскому применению препарата Эврисди®, **отсканируйте QR-код или перейдите по ссылке:**
<https://www.roche.ru/ru/produkty/katalog/evrsvdi.html>



Частота анеуплоидии в сперматозоидах при нормозооспермии и при бесплодии, связанном с патозооспермией

Мартемьянова А.И.¹, Штаут М.И.¹, Сорокина Т.М.¹, Опарина Н.В.², Курило Л.Ф.¹, Черных В.Б.¹

1 — ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»,
115522, Москва, ул. Москворечье, д. 1

2 — ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»
129110, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2

Методом FISH-анализа определена частота анеуплоидии по хромосомам 13, 18, 21, X и Y в сперматозоидах у фертильных мужчин с нормозооспермией и у мужчин с нарушенной фертильностью, связанной с патозооспермией. Частота анеуплоидии у мужчин с патозооспермией превосходит частоту встречаемости сперматозоидов с анеуплоидией среди мужчин с нормозооспермией в среднем в 2 раза. Статистически значимое различие между данными группами обнаружено по частоте дисомии по хромосомам 13 и 18 ($p=0,03$ и $p=0,01$, соответственно), нуллисомии по хромосомам 13 и 21 ($p=0,02$ и $p=0,03$, соответственно) и дисомии XY ($p=0,01$).

Ключевые слова: анеуплоидия, сперматозоиды, патозооспермия, мужское бесплодие, флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH).

Для цитирования: Мартемьянова А.И., Штаут М.И., Сорокина Т.М., Опарина Н.В., Курило Л.Ф., Черных В.Б. Частота анеуплоидии в сперматозоидах при нормозооспермии и при бесплодии, связанном с патозооспермией. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 91-92.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.91-92

Автор для корреспонденции: Мартемьянова Анастасия Ивановна; **e-mail:** anastasiya.martemyanova@yandex.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Sperm aneuploidy in normozoospermic men and infertile pathozoospermix patients

Martemianova A.I.¹, Shtaut M.I.¹, Sorokina T.M.¹, Oparina N.V.², Kurilo L.F.¹, Chernykh V.B.¹

1 — Research Centre for Medical Genetics
Moskvorechye st., 1, Moscow, 115522, Russia

2 — Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI)
Shchepkina st., 61/2, Moscow, 129110, Russia

FISH-analysis of sperm aneuploidy for chromosomes 13, 18, 21, X and Y was performed fertile normozoospermic men and infertile pathozoospermic men. The frequency of aneuploidy in pathozoospermic men twice exceeds the frequency of aneuploidy among normozoospermic men. A statistically significant difference between these groups was found the frequency of dysomies 13 and 18 ($p=0.03$ and $p=0.01$, respectively), nullisomies 13 and 21 ($p=0.02$ and $p=0.03$, respectively) and XY dysomy ($p=0.01$).

Key words: aneuploidy, sperm, pathozoospermia, male infertility, fluorescence in-situ hybridization (FISH)

For citation: Martemianova A.I., Shtaut M.I., Sorokina T.M., Oparina N.V., Kurilo L.F., Chernykh V.B. Sperm aneuploidy in normozoospermic men and infertile pathozoospermix patients. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 91-92 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.91-92

Corresponding author. Martemianova Anastasiia Ivanovna; **e-mail:** anastasiya.martemyanova@yandex.ru

Funding. The work was performed as part of the state task of the Ministry of Education and Science of Russia.

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

Accepted: 20.05.2020

Введение

Около 15% супружеских пар испытывают проблемы деторождения [1]. Основной причиной невынашивания беременности в большинстве

случаев являются хромосомные аномалии, которые диагностируют у 50–60% абортусов и 0,5–0,7% новорожденных [2]. Большинство эмбрионов с анеуплоидии

дией элиминируется на ранних стадиях развития еще до клинически распознанной беременности. Поэтому частота анеуплоидии при зачатии может быть косвенно оценена путем непосредственного изучения анеуплоидии в гаметах [3].

Цель и задачи исследования – определить частоту анеуплоидии по хромосомам 13, 18, 21, X и Y в сперматозоидах у фертильных мужчин с нормозооспермией и у пациентов с патозооспермией и нарушениями репродукции, имеющих нормальный мужской кариотип.

Материалы и методы

Группу обследованных составили 116 мужчин в возрасте от 25 до 58 лет (средний возраст 35 ± 7 лет) с бесплодием в браке, или отягощенным акушерско-гинекологическим анамнезом у супруги, или рождением ребенка с хромосомными аномалиями. Контрольную группу составили 11 мужчин в возрасте от 25 до 45 лет (средний возраст 32 ± 6 лет) с нормозооспермией и нормальным мужским кариотипом 46,XY (доноры спермы). Спермиологический анализ выполняли согласно стандартной методике, рекомендованной ВОЗ (WHO, 2010). Стандартное цитогенетическое исследование проводили на культивированных лимфоцитах периферической крови, используя метод GTG-окрашивания. Флуоресцентную *in situ* гибридизацию (FISH) на препаратах ядер сперматозоидов выполняли согласно стандартному протоколу с ДНК-зондами из набора AneuVysion® Multi-color 5 Probe Panel (Abbott Molecular Vysis Inc., США). Статистический анализ проведен с использованием программы Statistica, версия 8 (StatSoft.Inc., США). Для сравнения частот сперматозоидов с анеуплоидией использовали *U*-критерий Манна-Уитни, принимая уровень значимости (*p*) менее 0,05.

Результаты

У мужчин с нормозооспермией (контроль) количество сперматозоидов с диплоидным хромосомным набором, с дисомией по хромосомам 13, 18 и 21, с XX, XY и YY дисомией составило $0,37 \pm 0,20\%$, $0,11 \pm 0,04\%$, $0,05 \pm 0,02\%$, $0,20 \pm 0,08\%$, $0,04 \pm 0,02\%$, $0,17 \pm 0,11\%$ и $0,06 \pm 0,02\%$, соответственно; в группе пациентов с па-

тозооспермией – $0,61 \pm 0,90\%$, $0,31 \pm 0,70\%$, $0,21 \pm 0,25\%$, $0,38 \pm 0,45\%$, $0,30 \pm 1,50\%$, $0,76 \pm 2,32\%$ и $0,14 \pm 0,17\%$, соответственно. Частота встречаемости сперматозоидов с нуллисомным набором по хромосомам 13, 18, 21 и гоносомам в контрольной группе равнялась $0,13 \pm 0,03\%$, $0,09 \pm 0,01\%$, $0,22 \pm 0,07\%$ и $0,29 \pm 0,08\%$, соответственно; в группе пациентов с патозооспермией – $0,40 \pm 0,39\%$, $0,13 \pm 0,21\%$, $0,49 \pm 0,49\%$ и $0,43 \pm 0,77\%$. Значимое различие между группой мужчин с патозооспермией и контролем обнаружено по частоте дисомии по хромосомам 13 и 18 ($p=0,03$ и $p=0,01$, соответственно), нуллисомии по хромосомам 13 и 21 ($p=0,02$ и $p=0,03$, соответственно) и дисомии XY ($p=0,01$). У 16% пациентов с патозооспермией обнаружено повышенное количество сперматозоидов с некоторыми вариантами анеуплоидии, при этом у двух мужчин показатели превосходили референсные значения в несколько десятков раз. Так, у одного пациента с бесплодием и астенотератозооспермией дисомия по половым хромосомам отмечена в 20,8% гамет, а в 15% сперматозоидов обнаружена анеуплоидия по хромосомам 13 и 21. У другого пациента, имевшего олигоастенотератозооспермию, в 58% гамет выявлена дисомия по гоносомам.

Выводы

Частота анеуплоидии в сперматозоидах мужчин с нарушением репродукции и патозооспермией, имеющих нормальный мужской кариотип, превосходит частоту анеуплоидии в контрольной группе в среднем в 2 раза. Пациентам со значительно повышенным количеством анеуплоидных сперматозоидов рекомендовано проведение преимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии (ПГТ-А), либо использование донорских сперматозоидов.

Литература/References

1. Ioannou D., Fortun J., Tempest H.G. Meiotic nondisjunction and sperm aneuploidy in humans. *Reproduction* 2018; (1): 1470–1626.
2. Piomboni P., Rubino P., Vigano P. et al. The ICSI procedure from past to future: a systematic review of the more controversial aspects. *Human Reproduction Update* 2015; (0): 1–34.
3. Templado C., Uroz L., Estop A. New insights on the origin and relevance of aneuploidy in human spermatozoa. *Molecular Human Reproduction* 2013; (10): 634–643.



Сравнение вариантов гена *CFTR* и генотипов у российских пациентов с различными формами патозооспермии и с синдромом CBAVD

Марнат Е.Г.¹, Адян Т.А.^{1,2}, Степанова А.А.², Бескоровайная Т.С.², Поляков А.В.², Черных В.Б.^{1,2}

1 — ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России
117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1.

2 — ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»
115522, Москва, ул. Москворечье, д. 1

Приводятся данные исследования вариантов гена *CFTR* у российских мужчин с различными формами патозооспермии и пациентов с синдромом CBAVD, сравнение спектра генотипов в этих группах.

Ключевые слова: патозооспермия, ген *CFTR*, 5T аллель, мужское бесплодие, CBAVD

Для цитирования: Марнат Е.Г., Адян Т.А., Степанова А.А., Бескоровайная Т.С., Поляков А.В., Черных В.Б. Сравнение вариантов гена *CFTR* и генотипов у российских пациентов с различными формами патозооспермии и с синдромом CBAVD. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 93-95.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.93-95

Автор для корреспонденции: Черных В.Б.; **e-mail:** chernykh@med-gen.ru

Финансирование: Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Comparison of the *CFTR* gene variants and genotypes in Russian patients with various forms of pathozoospermia and CBAVD syndrome

Marnat E.G.¹, Adyan T.A.^{1,2}, Stepanova A.A.², Beskorovainaya T.S.^{1,2}, Polyakov A.V.², Chernykh V.B.^{1,2}

1 — Pirogov Russian National Research Medical University
Ostrovityanova st. 1, Moscow, 117997, Russia

2 — Research Centre for Medical Genetics
Moskvorechie st. 1, Moscow, 115522, Russia

The article presents data the *CFTR* gene variants in Russian men with various forms of pathozoospermia and patients with CBAVD syndrome, and a comparison of the spectrum of genotypes in these groups.

Key words: pathozoospermia, *CFTR* gene, 5N allele, male infertility, CBAVD

For citation: Marnat E.G., Adyan T.A., Stepanova A.A., Beskorovainaya T.S., Polyakov A.V., Chernykh V.B. Comparison of the *CFTR* gene variants and genotypes in Russian patients with various forms of pathozoospermia and CBAVD syndrome. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 93-95. (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.93-95

Author for correspondence: Vyacheslav B. Chernykh; **e-mail:** chernykh@med-gen.ru

Funding. The study was carried out as part of the state task of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation for Research Centre for Medical Genetics.

Conflict of interest: The authors declare that they have no conflict of interest.

Accepted: 20.05.2020

Введение

Во многих случаях мужское бесплодие неясного генеза имеет генетическую природу. Наиболее распространенными генетическими причинами нарушения фертильности у мужчин являются хромосомные аномалии (синдром Клайнфельтера, мозаицизм по половым хромосомам, структурные аномалии аутосом и половых хромосом), микроделеции Y-хромосомы в локусе AZF (Azoospermia factor, фак-

тор азооспермии), патогенные варианты гена *CFTR*. Патогенные варианты генов, контролирующих сперматогенез и репродуктивную функцию у мужчин, могут приводить к нарушению количества, подвижности, морфологических и фертильных качеств сперматозоидов. Мутации в гене *CFTR* могут приводить к развитию синдрома CBAVD (врожденной двусторонней аплазии семявыносящих протоков), который может

быть частью симптомокомплекса муковисцидоза или являться самостоятельным заболеванием, в 80% случаев связанным с патогенными вариантами гена *CFTR*. Частота встречаемости мутаций гена *CFTR* и их спектр существенно различаются в разных популяциях. В ряде исследований показано, что в различных выборках мужчин с бесплодием, в том числе без синдрома СБАВД, частота мутаций гена *CFTR* превышает таковую у фертильных мужчин. Однако влияние наличия гетерозиготного носительства мутаций и аллеля 5T (IVS8-5T) гена *CFTR* на сперматогенез, показатели семенной жидкости недостаточно изучены.

Цель: анализ спектра мутаций и IVS8-Tn полиморфизма гена *CFTR* у российских мужчин с синдромом СБАВД и с патозооспермией.

Материал и методы

Выборку обследованных составили 6432 неродственных мужчины репродуктивного возраста (от 25 до 50 лет) из российской популяции, имеющих бесплодие в браке, связанное с различными формами патозооспермии неясного генеза и 72 неродственных пациента с синдромом СБАВД (с обструктивной азооспермией). Пациенты с диагнозом муковисцидоз не включались в выборку.

Детектировали наличие частых мутаций в гене *CFTR* методами ПДАФ, ПДРФ и MLPA. Исследованная панель мутаций у мужчин с СБАВД включала 19 наиболее распространенных патогенных вариантов гена *CFTR*: CFTRdele2,3(21kb), 394delTT, 3944delTG, L138ins, R334W, F508del, I507del, 1677delTA, G542X, 2143delT, 2184insA, 3821delT, 3849+10kbC>T, 604insA, 621+1g>t, E92K, S1196X, W1282X и N1303K. IVS8 Tn (TT) - полиморфизм в 8 интроне гена *CFTR* анализировали методом гнездовой ПЦР.

Результаты

У мужчин с патозооспермией мутации в гене *CFTR* обнаружены у 131 (1,61%) пациента. Наиболее ча-

стым патогенным вариантом являлся F508del, частота которого составила 67,4% от всех мутаций. Мутации L138ins и 1677delTA обнаружены с частотой 7,6% и 4,5%, соответственно, остальные мутации встречались реже.

Аллель 5T детектирован у 575 (8,9%) мужчин, в том числе у 15 из 575 (2,6%) пациентов в гомозиготном состоянии. Также в единичных случаях (у 0,08% пациентов) обнаружены редкие аллели 6T и 11T у трех и двух мужчин, соответственно. Генотип CFTRmut/5T, характерный для обструктивной азооспермии/СБАВД, обнаружен у 28 пациентов (0,44%).

В выборке мужчин с синдромом СБАВД мутации выявлены у 47 из 72 пациентов (65,3%). Наиболее частыми из них являлись три патогенных варианта: F508del; CFTRdele2,3(21kb) и W1282X, которые составили 54,2%, 12,5% и 8,2% от всех детектированных в выборке патогенных мутаций, соответственно.

При анализе полиморфного варианта IVS8-Tn интрона 8 гена *CFTR* выявлено три его аллельных варианта: 5T, 7T и 9T. Аллельные варианты 6T и 11T не встречались в исследованной выборке. По результатам молекулярно-генетического исследования проведено сравнение генотипов пациентов с бесплодием, не имеющих и имеющих синдром СБАВД, данные которого представлены в **таблице**.

При сравнении *CFTR* генотипов выявлены статистически значимые различия ($p < 0,005$) по частоте генотипов между группами пациентов: у мужчин с СБАВД более высокая встречаемость их вариантов Mut/N, 5T/5T, Mut/5T и Mut/Mut и меньшая частота генотипа N/N.

Выводы

Полученные результаты свидетельствуют о высокой частоте мутаций и 5T аллельного варианта гена *CFTR* у российских мужчин с синдромом СБАВД. Частота мутации и 5T аллеля в гене *CFTR* у мужчин с патозооспермией составила 2,03% и 8,9%, соот-

Таблица

Генотипы по гену *CFTR* у мужчин с СБАВД и мужчин без СБАВД, имеющих патозооспермию

Генотип по гену <i>CFTR</i>	Различные формы патозооспермии без СБАВД (n=6432)	СБАВД (n=72)	p
N/N	89,30%	18,06%	<0,005
Mut/N	1,61%	26,39%	<0,005
5T/N	8,39%	11,11%	p=0,4
5T/5T	0,24%	5,56%	<0,005
Mut/5T	0,44%	37,50%	<0,005

Диета для жизни



Monogen® (Моноген) – уникальный продукт с низким содержанием ДЦТ* и высоким содержанием СЦТ** для полноценного питания пациентов с нарушением обмена жирных кислот, при хилотораксе, лимфангиэктазии.

* Длинноцепочечные триглицериды

** среднецепочечные триглицериды

Общество с ограниченной ответственностью «Нутриция»

Адрес: Россия, 143500, Московская обл., г. Истра, ул. Московская, 48.

Тел./факс: 8 (800) 555-87 08. Подробная информация содержится на сайте www.nutricia-medical.ru

Информация только для сотрудников системы здравоохранения.



ветственно. У пациентов с синдромом СВАВД существенно повышена частота 5Т аллеля в гомозиготном состоянии по сравнению с мужчинами с патозооспермией без данного синдрома. Сочетание мутации и 5Т аллеля является наиболее частым *CFTR* генотипом, характерным российских мужчин с синдромом СВАВД.

Литература

1. Черных В.Б., Степанова А.А., Бескорвайная Т.С., Сорокина Т.М., Шилейко Л.В., Курило Л.Ф., Поляков А.В. Частота и спектр мутаций и IVS8-Т полиморфизма гена *CFTR* среди российских мужчин с бесплодием. *Генетика* 2010; 46(6): 844–852.
2. Chillon M., Casals T., Mercier B. et al. Mutations in the cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens. *New Eng. J. Med.* 1995; 332: 1475–1480.

3. Claustres M., Guittard C., Bozon D. et al. Spectrum of *CFTR* mutations in cystic fibrosis and in congenital absence of the vas deferens in France. *Hum. Mutat.* 2000; 16: 143–156.

References

1. Chernykh V. B., Stepanova A. A., Beskorovainaya T. S., Sorokina T. M., Shileiko L. V., Kurilo L. F., Polyakov A. V. Chastota i spektr mutatsiy i IVS8-T polimorfizma gena *CFTR* sredi rossiyskikh muzhchin s besplodiyem [The Frequency and spectrum of mutations and the IVS8-T polymorphism of the *CFTR* gene in Russian infertile men]. *Genetika [Genetics]*. 2010; 46(6): 844–852. (In Russ.)
2. Chillon M., Casals T., Mercier B. et al. Mutations in the cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens. *New Eng. J. Med.* 1995; 332: 1475–1480.
3. Claustres M., Guittard C., Bozon D. et al. Spectrum of *CFTR* mutations in cystic fibrosis and in congenital absence of the vas deferens in France. *Hum. Mutat.* 2000; 16: 143–156.

Прогностические факторы получения сперматозоидов при биопсии тестикулярной ткани у мужчин с тяжелыми формами патозооспермии

Яманди Т.А.¹, Сафина Н.Ю.¹, Черных В.Б.^{2,3}, Акуленко Л.В.¹

1 — ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» МЗ РФ
127473, г. Москва, ул. Делегатская, д.20, стр.1

2 — ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»
115522, Москва, ул. Москворечье, д. 1

3 — ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России
117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1.

Приводятся данные обследования мужчин с азооспермией и олигозооспермией тяжелой степени, имеющих и не имеющих микроделеции длинного плеча Y-хромосомы, а также результаты биопсии тестикулярной ткани. Отсутствие делеций региона AZF, отсутствие гипоплазии яичек, а также нормальные показатели ФСГ, ЛГ и ингибина В являются прогностически благоприятными критериями в отношении успешности получения сперматозоидов при биопсии ткани яичка для проведения экстракорпорального оплодотворения (ЭКО).

Ключевые слова: биопсия яичек, ВРТ, делеции AZF, мужское бесплодие, репродукция человека.

Для цитирования: Яманди Т.А., Сафина Н.Ю., Черных В.Б., Акуленко Л.В. Прогностические факторы получения сперматозоидов при биопсии тестикулярной ткани у мужчин с тяжелыми формами патозооспермии. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 96-97.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.96-97

Автор для корреспонденции: Яманди Т.А.; **e-mail:** tiamandi@yandex.ru

Финансирование: Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Prognostic factors for the success of obtaining spermatozoa with a biopsy of testicular tissue in men with severe forms of pathozoospermia

Yamandi T.A.¹, Safina N.Yu.¹, Chernykh V.B.^{2,3}, Akulenko L.V.¹

1 — A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation
Delegatskaya St., 20, p. 1, 127473, Moscow, Russia

2 — Research Centre for Medical Genetics
Moskvorechie st. 1, Moscow, 115522, Russia

3 — Pirogov Russian National Research Medical University
Ostrovityanova st. 1, Moscow, 117997, Russia

The article presents the results of a survey of men with azoospermia and severe oligozoospermia, with and without microdeletion of the long arm of the Y chromosome, as well as the results of a testicular biopsy. The absence of deletions of the AZF region, the absence of testicular hypoplasia, as well as normal levels of FSH, LH and inhibin B are prognostically favorable criteria for the success of obtaining spermatozoa with a biopsy of testicular tissue for in vitro fertilization (IVF).

Keywords: testicular biopsy, AZF deletions, male infertility, human reproduction

For citation: Yamandi T.A., Safina N.Yu., Chernykh V.B., Akulenko L.V. Prognostic factors for the success of obtaining spermatozoa with a biopsy of testicular tissue in men with severe forms of pathozoospermia. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 96-97 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.96-97

Author for correspondence: Yamandi T.A.; **e-mail:** tiamandi@yandex.ru

Funding. The study was carried out as part of the state task of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation for Research Centre for Medical Genetics.

Conflict of interest: The authors declare that they have no conflict of interest.

Accepted: 20.05.2020

Введение

У 10–15% мужчин с бесплодием диагностируют азооспермию, до 50% случаев которой может быть обусловлено генетическими факторами [1]. Одной из наиболее частых генетических причин нарушения сперматогенеза являются делеции локуса AZF Y хромосомы [2, 3]. Для получения сперматозоидов при азооспермии используют разные методы биопсии тестикулярной ткани: аспирационную биопсию яичка (TESA), открытую биопсию яичка (TESE) или микродиссекционную TESE (micro-TESE).

Цель исследования: определить критерии успешности получения сперматозоидов в результате биопсии тестикулярной ткани у мужчин с тяжелыми формами патозооспермии.

Материал и методы

Группу обследованных составили 109 мужчин репродуктивного возраста (от 21 до 56 лет, средний возраст составил $32,7 \pm 0,2$ лет) с бесплодием в браке, обусловленным азооспермией или олигозооспермией тяжелой степени неуточненного генеза. Всем пациентам проводили комплексное обследование, включающее спермиологическое исследование, определение уровня гормонов (тестостерона, ФСГ, ЛГ, пролактина), УЗИ органов мошонки, а также медико-генетическое обследование — цитогенетическое и молекулярно-генетические исследования. Молекулярно-генетические исследования выполняли методом мультиплексной полимеразной цепной реакции (мПЦР). Для детекции полных типов делеций в локусе AZF исследовали 7 ДНК-маркеров, специфичных для длинного плеча Y-хромосомы: sY84, sY86 и sY615 (регион AZFa), sY127 и sY134 (регион AZFb), sY254 и sY255 (регион AZFc). Для выявления частичных AZF делеций дополнительно анализировали 14 ДНК-маркеров, специфичных для Y-хромосомы: sY1316, sY1234 (регион AZFa); sY1237, sY1283, sY1235, sY121, sY124 и sY1302 (регион AZFb); sY142, sY1192, sY1197, sY1206, sY1291 и sY1125 (регион AZFc). Биопсию тестикулярной ткани выполняли методами TESA и micro-TESE в соответствии со стандартными протоколами. Статистический анализ проводили с использованием критерия Пирсона и U-критерия Манна-Уитни. Значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты

Пациенты разделены на 2 группы по критерию успешности получения сперматозоидов при биопсии тестикулярной ткани. В первую группу вошли 54 пациента, у которых удалось получить сперматозоиды, во вторую — 55 мужчин с отрицательными результатами

получения сперматозоидов при биопсии яичка. В первой группе микроделеции Y хромосомы обнаружены у 7 (13%) мужчин. У 2 (3,7%) пациентов выявлена полная делеция региона AZFc (sY254, sY255), у 5 (9,3%) мужчин — частичные делеции AZFc (sY1192 и sY1291). Делеции региона AZFb и AZFb+c в данной группе не наблюдались. Во второй группе микроделеции Y хромосомы обнаружены у 27 (49%) мужчин. Полные делеции AZFb обнаружены у 1 (1,8%) пациента, делеции AZFb+c у 7 (12,7%) пациентов, делеции AZFc — у 15 (27,3%) обследованных. Обнаружены значимые статистические различия частоты встречаемости AZF делеций между данными группами пациентов ($p < 0,01$; $\chi^2 = 14,918$). Гипоплазия яичек диагностирована у 13 (24,1%) и у 37 (67,3%) мужчин первой и второй групп, соответственно ($p < 0,01$; $\chi^2 = 18,773$). Врожденные пороки развития органов мужской репродуктивной системы (крипторхизм, гипоспадия, монорхизм) обнаружены у 9 (16,7%) пациентов первой и у 5 (9,1%) мужчин второй группы ($p < 0,05$; $\chi^2 = 1,323$). В группе мужчин, у которых в результате биопсии тестикулярной ткани получены сперматозоиды, отмечены более низкие уровни ФСГ и ЛГ, и более высокий уровень ингибина по сравнению с группой мужчин с отрицательными результатами биопсии тестикулярной ткани ($p < 0,05$).

Выводы

Прогностически благоприятными критериями получения сперматозоидов можно считать отсутствие микроделений Y хромосомы, в частности полных делеций региона AZFb и AZFb+c, отсутствие гипоплазии яичек, а также нормальные показатели ФСГ, ЛГ и ингибина В.

Литература

1. Hamada AJ, Esteves SC, Agarwal A. A comprehensive review of genetics and genetic testing in azoospermia. Clinics 2013; 68 Suppl 1:39–60.
2. Черных В.Б. AZF делеции — частая генетическая причина бесплодия у мужчин: современное состояние исследований. Проблемы репродукции 2009; 1: 10–15.
3. Navarro-Costa P., Plancha C.E. and Goncalves J. Genetic dissection of the AZF regions of the human Y chromosome: thriller or filler for male (in) fertility? J Biomed Biotechnol 2010; 2010: 936569.

References

1. Hamada AJ, Esteves SC, Agarwal A. A comprehensive review of genetics and genetic testing in azoospermia. Clinics 2013;68 Suppl 1:39–60
2. Chernykh V. B. AZF deletions — chastaya geneticheskaya prichina besplodiya u muzhchin: sovremennoye sostoyaniye issledovaniy [AZF deletions are a common genetic cause of male infertility: the current state of research]. Problemy reproduktivii [Russian Journal of Human Reproduction] 2009; 1: 10–15. (In Russ.)
3. Navarro-Costa P., Plancha C.E. and Goncalves J. Genetic dissection of the AZF regions of the human Y chromosome: thriller or filler for male (in) fertility? J Biomed Biotechnol 2010; 2010: 936569.



Наши идеи
и разработки
для спасения жизни
и здоровья людей



Обладатель первой лицензии
на производство биомедицинских
клеточных продуктов в стране



 generium.ru



Generium
Pharmaceutical

Комплексное клиническое и генетическое обследование пациентов с транссексуализмом

Хаят С.Ш., Курило Л.Ф., Кузнецова И.А., Миронович О.Л., Поляков А.В., Черных В.Б.

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»,
115522, Москва, ул. Москворечье, д. 1

Транссексуализм – многофакторное нарушение формирования пола, этиология и патогенез которого, недостаточно изучены. В работе представлены результаты комплексного клинического и медико-генетического обследования 55 пациентов с транссексуализмом (ТС), проанализированы данные собственных цитогенетических исследований и исследования состояния гаметогенеза.

Ключевые слова: транссексуализм, нарушение формирования пола, половая аутоидентификация, гаметогенез.

Для цитирования: Хаят С.Ш., Курило Л.Ф., Кузнецова И.А., Миронович О.Л., Поляков А.В., Черных В.Б. Комплексное клиническое и генетическое обследование пациентов с транссексуализмом. *Медицинская генетика* 2020; 19(3): 98-100.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.98-100

Автор для корреспонденции: Хаят Сабина Шаукатовна; **e-mail:** sabina_hayat@mail.ru

Финансирование: Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Comprehensive clinical and genetic assessment of patients with transsexualism

Khayat S.Sh., Kurilo L.F., Kuznetsova I.A., Mironovich O.L., Polyakov A.V., Chernykh V.B.

Research Centre for Medical Genetics
Moskvorechie st. 1, Moscow, 115522, Russia

Transsexualism is a gender identity disorder with a multifactorial etiology and poor understood pathogenesis. The study presents the results of a comprehensive clinical and genetic examination of 55 patients with transsexualism, cytogenetic data and results of quantitative analysis of gametogenesis are evaluated.

Key words: transsexualism, disorders of sex development, gender identity, gametogenesis.

For citation: Khayat S.Sh., Kurilo L.F., Kuznetsova I.A., Mironovich O.L., Polyakov A.V., Chernykh V.B. Comprehensive clinical and genetic assessment of patients with transsexualism. *Medical genetics*. 2020; 19(3): 98-100 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.03.98-100

Corresponding author. Khayat Sabina; **e-mail:** e-mail: sabina_hayat@mail.ru

Funding. The study was carried out as part of the state task of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation for Research Centre for Medical Genetics.

Conflict of interest: The authors declare that they have no conflict of interest.

Accepted: 20.05.2020

Согласно международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10) транссексуализм относят к расстройству половой аутоидентификации, которое характеризуется стойким осознанием своей принадлежности к противоположному полу (F64.0). В МКБ-11 будет исключен диагноз «транссексуализм», появится новое понятие «гендерное несоответствие», которое не классифицируется как психическое расстройство, и будет относиться к новому разделу, который называется «состояния, относящиеся к сексуальному здоровью», также будут сокращены диагностические критерии ТС. Такой тренд на депатологизацию транссексуализма, а также развитие интернета и широкое освещение данной пробле-

мы в средствах массовой информации привело в последние годы к значительному увеличению числа индивидов, высказывающих желание изменить пол и лиц с нетрадиционной сексуальной ориентацией.

Один из предполагаемых механизмов развития ТС – нарушение дифференцировки структур головного мозга (гипоталамуса, его супрахиазмальных ядер, преоптической области и миндалевидного тела), ответственных за формирование половой аутоидентификации. Показано влияние на развитие ТС половых гормонов и их рецепторов. Исследуется вклад различных вариантов и полиморфизмов рецепторов андрогенов (AR), эстрогенов (ERβ), ароматазы (CYP19A1) и других генов, контролирующих процессы, необходимые для

полового диморфизма на уровне головного мозга, гормональной регуляции половой системы и поведения.

Дифференциальная диагностика ТС в ряде случаев представляется сложной задачей, поскольку это расстройство схоже с другими патологическими состояниями, в первую очередь – с психическими заболеваниями (чаще всего с шизофренией, расстройством личности и органическими поражениями головного мозга). ТС может быть диагностирован у пациентов с нарушениями формирования пола (НФП), не имеющих двойственного развития половых органов, от которых следует выполнять его дифференциальную диагностику. Как правило для пациентов с ТС не характерны хромосомные аномалии или несоответствие генетического пола анатомическому, однако транссексуализм обнаружен у 1,1% пациентов с синдромом Клайнфельтера (с кариотипом 47,XXY и другими цитогенетическими вариантами) [1], описан у пациентов с 46,XY-дисгенезией гонад и мозаичной формой синдрома Шерешевского-Тернера. У пациентов с ТС выявлены вариации числа копий (CNV) – микроудупликации в локусе 17q21.31 (30,4%), содержащие ген *KANSL1* (MIM612452) [1], а также микроделеции в локусе 15q11.2 (4,3%) [2]. Близнецовым методом показано, что 33% монозиготных близнецов мальчиков и 23% монозиготных близнецов девочек конкордантны по гендерной дисфории, при этом дизиготные близнецы одного пола (как мальчики, так и девочки) не конкордантны по этому признаку [3]. Это указывает на значимый вклад наследственных факторов в развитие ТС, а также влияние пола пациента. В этой связи, чрезвычайно актуальным является изучение вклада генетических, эпигенетических и средовых факторов в патогенез ТС.

Цель: Провести комплексное клиническое и генетическое обследование пациентов с транссексуализмом.

Задачи: Провести цитогенетическое обследование пациентов с ТС, проанализировать САG-полиморфизм в экзоне 1 гена андрогенового рецептора – *AR*.

Материалы и методы

Проведено комплексное клиническое и генетическое обследование 55 неродственных пациентов с ТС (Ж-М, n=34; М-Ж, n=21) в возрасте от 15 до 42 лет. Стандартное цитогенетическое исследование (анализ кариотипа) выполняли на культивированных лимфоцитах периферической крови с использованием GTG-окрашивания.

Анализ САG-полиморфизма в экзоне 1 гена андрогенового рецептора – *AR/HUMARA* (локус Xq13)

проведен у 6 пациентов (Ж-М, n=4; М-Ж, n=2). Количество САG-повторов определяли методом количественной флуоресцентной ПЦР. Путём анализа метил-чувствительной рестрикции определяли соотношение (%) инактивации различных аллелей гена андрогенового рецептора для выявления характера (случайного или неслучайного) инактивации X-хромосомы (ХСІ).

Поскольку у пациентов с ТС отмечают нарушения гаметогенеза, спермиологический анализ (согласно рекомендациям Руководства ВОЗ) проведен 12 пациентам, у которых был доступен материал. Кроме того, 5 мужчинам выполнен количественный кариологический анализ незрелых половых клеток (ККА НПК) из осадка эякулята по стадиям развития (патент на изобретение Л.Ф. Курило №2328736). У трех женщин с ТС путём светооптической микроскопии исследовано состояние фолликулярного аппарата яичников (патент на изобретение Л.Ф. Курило №2367949) на гистопрепаратах биопсий, полученных после курса гормональной терапии в течение одного года.

Результаты

По результатам клинико-генетического и цитогенетического обследования, у пациентов с ТС не обнаружено синдромальной патологии, не выявлено хромосомных аномалий, несоответствия кариотипа фенотипическому (анатомическому) полу, признаков двойственности развития половых органов, а также наличия подобных нарушений среди родственников.

При количественной флуоресцентной ПЦР, проведенной 6 пациентам, выявлены следующие аллели по САG-полиморфизму гена *AR*: у двух пациентов с М-Ж ТС – 22 и 24, у пациентов с Ж-М ТС установлены следующие генотипы по количеству САG-повторов (n): 20/21, 20/23, 12/24, 18/26. Соотношение инактивированных аллелей X-хромосом у пациентов с Ж-М ТС составило 62%/38%, 67%/33%, 79%/21% и 85%/15%, соответственно. Преимущественная инактивация X-хромосомы выявлена в одном (последнем) случае, в предпоследнем характер лайонизации был близок к неслучайному.

Во всех исследованных образцах эякулята обнаружены сниженная концентрация и подвижность сперматозоидов, а также повышенное количество (%) патологических форм сперматозоидов (олигоастенотератозооспермия). Согласно результатам ККА НПК выявлены признаки нарушения сперматогенеза в виде частичного блока на допахитенных стадиях профазы I мейоза, сопровождающегося интенсивной дегенерацией половых клеток.



У всех трех пациенток, у которых выполнен анализ состава фолликулов в биоптатах яичников, обнаружены единичные кистозно-перерожденные полостные фолликулы. На срезах биоптатов отмечено резко сниженное количество примордиальных фолликулов (определяющих овариальный резерв) с признаками дегенерации в ооцитах (n=1) или отсутствие примордиальных фолликулов (n=2). Выявленные нарушения оо- и сперматогенеза могут быть обусловлены изменением уровня половых гормонов в сыворотке крови пациентов с ТС, состоянием хронического стресса и другими неустановленными факторами.

Выводы

В обследованной выборке пациентов с ТС не обнаружены признаки двойственности развития половой системы, а также хромосомные аномалии и несоответствие кариотипа фенотипу, у части пациентов с Ж-М

ТС отмечена выборочная инактивация X-хромосомы. У всех пациентов выявлены признаки нарушения гаметогенеза на различных стадиях развития половых клеток. Необходимы дальнейшие исследования генетических, эпигенетических, средовых факторов в этиологии и патогенезе транссексуализма, а также изучение его влияния и связанных с ним нарушений на состояние репродуктивной, эндокринной, нервной и других систем организма.

Литература/References

1. Fernández R., Guillamon A., Cortés-Cortés J., et al. Molecular basis of Gender Dysphoria: androgen and estrogen receptor interaction. *Psychoneuroendocrinology* 2018; 98: 161–167.
2. Pang K.C., Feldman D., Oertel R., Telfer M. Molecular Karyotyping in Children and Adolescents with Gender Dysphoria. *Transgender Health* 2018; 3(1): 147–153.
3. Diamond M. Transsexuality among twins: Identity concordance, transition, rearing, and orientation. *International Journal of Transgenderism* 2013; 14(1): 24–38.

У ПАЦИЕНТОВ СО СМА С НАЧАЛОМ В МЛАДЕНЧЕСКОМ И БОЛЕЕ ПОЗДНЕМ ВОЗРАСТЕ ПРИМЕНЕНИЕ СПИПРАЗЫ ОБЕСПЕЧИВАЕТ ЗНАЧИМОЕ И СТОЙКОЕ УЛУЧШЕНИЕ ДВИГАТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ

София

возраст 2,5 года

СМА с манифестацией в младенческом возрасте (тип I)
при лечении препаратом СПИПРАЗА



РАСКРОЙТЕ ИХ ВНУТРЕННИЙ ПОТЕНЦИАЛ СО СПИПРАЗОЙ



КРАТКАЯ ИНФОРМАЦИЯ ПО МЕДИЦИНСКОМУ ПРИМЕНЕНИЮ СПИПРАЗЫ.

Регистрационный номер: ЛП-005730. **Торговое наименование:** Спипраза. **МНН:** нусинерсен. **Лекарственная форма:** раствор для интратекального введения. **Фармакотерапевтическая группа:** Прочие препараты для лечения заболеваний костно-мышечной системы. **Показания к применению:** Препарат Спипраза показан для лечения спинальной мышечной атрофии (СМА). **Противопоказания:** Гиперчувствительность к действующему или любому из вспомогательных веществ. **Меры предосторожности при применении:** Процедура люмбальной пункции сопровождается риском возникновения нежелательных реакций, таких как, головная боль, боль в спине, рвота. Могут быть использованы визуализационные техники для облегчения интратекального введения препарата Спипраза пациентам со сколиозом. При наличии клинических показаний, рекомендовано выполнять лабораторные тесты для определения количества тромбоцитов и показателей свертываемости крови перед введением препарата Спипраза. При наличии клинических показаний, рекомендовано выполнять количественное определение белка в моче (предпочтительно в первой утренней порции мочи). Преимущества и риски лечения нусинерсеном пациентов с вентрикулоперитонеальным шунтом в настоящее время неизвестны. **Способ применения и дозы:** Препарат Спипраза предназначен для интратекального введения. Рекомендованная доза составляет 12 мг (5 мл). Следует начинать терапию препаратом Спипраза как можно раньше после постановки диагноза. Режим введения: в первый день лечения (день 0), в день 14, 28, 63. Далее дозу следует вводить 1 раз в 4 месяца. В случае задержки или пропуска введения дозы препарат Спипраза следует ввести как можно ранее, при этом интервал между дозами должен быть не менее 14 дней; далее следует продолжить введение с назначенной частотой. Инструкции по приготовлению и введению дозы: 1. Необходимо визуально оценить состояние раствора до использования. Использовать можно только прозрачные и бесцветные растворы, не содержащие никаких частиц. Использовать внешние фильтры не требуется. 2. Приготовление и введение препарата Спипраза должны осуществляться в асептических условиях. 3. Перед введением флакон следует достать из холодильника и согреть до комнатной температуры, не прибегая к внешним источникам тепла. 4. Если флакон не был открыт и раствор не использовался, флакон может быть возвращен в холодильник. После извлечения из холодильника и картонной пачки флакон

может храниться при температуре не выше 25 °С в течение не более 30 ч. 5. Непосредственно перед введением, центр пробки флакона протыкают иглой шприца и извлекают требуемый объем раствора. Раствор не следует разводить. В случае, если раствор не использовался в течение 6 ч после его набора в шприц, раствор следует утилизировать. 6. Для введения препарата Спипраза может потребоваться седация, если это показано на основании клинического состояния пациента. 7. Можно рассмотреть вопрос о применении ультразвукового (или иного визуализационного) контроля при интратекальном введении препарата Спипраза, в особенности в более ранних возрастных группах и у пациентов со сколиозом. 8. Перед введением препарата Спипраза рекомендуется извлечь объем ЦСЖ, эквивалентный вводимому объему препарата Спипраза. 9. Препарат Спипраза вводится интратекально болюсно на протяжении 1-3 минут с помощью иглы для спинальной анестезии. Не допускается проводить инъекцию в тех участках кожи, где имеются признаки инфекционного или воспалительного процесса. 10. Любое неиспользованное содержимое флакона следует утилизировать. **Побочное действие.** Нежелательные реакции, связанные с люмбальной пункцией, зарегистрированные в исследовании CS4 (поздняя манифестация СМА), наблюдавшиеся с частотой как минимум на 5% выше у пациентов, получавших препарат Спипраза, по сравнению с пациентами из контрольной группы, получавшими плацебо: головная боль, рвота, боль в спине. В пострегистрационный период наблюдались серьезные инфекции, например, менингит. Имелись сообщения о случаях гидроцефалии. Частота возникновения подобных реакций неизвестна. **Условия хранения:** При температуре 2-8 °С в оригинальной упаковке (флакон в пачке) для защиты от света. Не замораживать. Допускается хранение в оригинальной упаковке (флакон в пачке) при температуре не выше 30 °С в течение не более 14 дней. В случае неиспользования в течение этих 14 дней повторное хранение при температуре 2-8 °С не допускается. Хранить в недоступном для детей месте. **Срок годности:** 3 года. **Условия отпуска:** Отпускают по рецепту. **Держатель (владелец) регистрационного удостоверения:** Биоген Айдек Лимитед, Великобритания. **Организация, уполномоченная держателем (владельцем) РУ принимать сведения о рекламе, нежелательных лекарственных реакциях и предоставлять потребителям дополнительные данные о препарате:** ООО «Джонсон&Джонсон», Россия, 121614, г. Москва, ул. Крылатская, д. 17 корп. 2. Тел.: +7 (495) 755-83-57, факс: +7 (495) 755-83-58

▼ Медицинских работников просят сообщать о любых подозреваемых нежелательных реакциях на лекарственный препарат через национальную систему отчетности. Чтобы сообщить о проблемах безопасности, обратитесь в ООО «Джонсон&Джонсон» или обратитесь к действующей инструкции по медицинскому применению лекарственного препарата.

Фотографии приведены исключительно в качестве иллюстраций и отражают результаты, достигнутые у конкретных пациентов. Индивидуальные результаты могут отличаться.

Инструкцию по применению препарата СПИПРАЗА Вы можете получить у представителя компании ООО «Джонсон & Джонсон».

1. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Спипраза РУ № ЛП-005730 от 28.02.2020.
2. Q4 & Full Year 2019 Biogen 2020, poster <https://investors.biogen.com/static-files/ce31eed8-8862-4bec-a63f-77c0fd6e15a1>

Материал предназначен для медицинских и фармацевтических работников
Дата выпуска: август 2020

CP-173826



Организация, принимающая претензии потребителей:
ООО «Джонсон & Джонсон»,
Россия, 121614, Москва, ул. Крылатская, д. 17 корп. 2.
Контактные телефоны: тел.: (495) 755-83-57, факс: (495) 755-83-58



ГЕНЕРАЛЬНЫЙ СПОНСОР



СПОНСОР РЕГИСТРАЦИИ



СПОНСОР ПОРТФЕЛЯ



СПОНСОРЫ





Технический организатор:

АНО ДПО «Институт непрерывного
медицинского образования»

117420, г. Москва, Профсоюзная, 57

Телефон: +7 (495) 174-70-01

Электронная почта: info@inmo.org.ru