

УДК 616-056.7-02

СЕМЕЙНЫЙ СЛУЧАЙ ВЫЯВЛЕНИЯ МАРКЕРНОЙ ХРОМОСОМЫ

Рыжкова А. И.¹, Серебрякова Е. Н.^{1, 2}, Солдаткина О. И.³,
Земцова Л. В.³, Гунбина И. В.¹

¹ ГБУЗ ЧОДКБ, г. Челябинск, Россия

² ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, г. Челябинск, Россия

³ ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, г. Москва, Россия

Ключевые слова: малая сверхчисленная маркерная хромосома (sSMC), стандартное цитогенетическое исследование, многоцветный FISH-анализ

FAMILY CASE OF MARKER CHROMOSOME DETECTION

Ryzhkova A. I.¹, Serebryakova E. N.^{1, 2}, Soldatkina O. I.³,
Zemtsova L. V.³, Gunbina I. V.¹

¹ CRCCH, Chelyabinsk, Russia

² FSBEI HE SUSMU MOH Russia, Chelyabinsk, Russia

³ National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology named after Dmitry Rogachev, Moscow, Russia

Keywords: a small supernumerary marker chromosome (sSMC), a standard cytogenetic study, a multicolor FISH analysis

Введение. Цитогенетическая эра началась с работ Арнольда и Флеминга (Arnold J., 1879; Flemming W., 1882), которые впервые изучили митотические хромосомы человека [1, 5]. Однако детальное исследование морфологии хромосом человека началось с 1956 года, после того, как Тихо и Леван улучшили методику приготовления препаратов с использованием гипотонизации и добавили колхицин для остановки клеточного цикла в стадии метафазы, чтобы увеличить количество клеток, пригодных для анализа [16, 17]. В своей классической статье они сообщили, что число хромосом человека составляло 46, а не 48, как считалось ранее. Их научное открытие было подтверждено Фордом и Хамертоном в том же году [17]. Две эти статьи пробудили интерес к цитогенетике, и вскоре несколько лабораторий занялись изучением хромосом человека, были предложены различные системы классификации и номенклатуры. Возникли путаница в литературе и необходимость создания общей системы номенклатуры, которая улучшала бы связь между работающими в этой области из разных стран. Исследовательской группой, которая была созвана в 1960 году в Денвере (США, штат

Колорадо), предложена стандартная система номенклатуры митотических хромосом человека. Этот отчет, более известный как Денверская конференция (1960), лег в основу всех последующих номенклатурных систем [12]. Интересно отметить, что определение правильного модального числа хромосом человека, обнаружение первых хромосомных аномалий, таких как синдром Дауна, произошло еще перед изобретением метода Q-banding (с использованием флюоресцентных красителей) доктором Лоре Захом из Уппсалы (Швеция) [3, 7, 16]. Возможность получения черно-белой исчерченной окраски хромосом позволила обнаружить больше аномалий, таких как транслокации, инверсии, делеции и инсерсии. В настоящее время G-banding — окрашивание с применением трипсина и красителя Гимза (GTG) — по-прежнему является отправной точкой и «золотым стандартом» всех цитогенетических методов [15]. Это относительно дешево, легко выполнимо и дает обзор всего человеческого генома, правда, разрешение ограничено примерно десятью миллионами пар оснований.

Эпоха исключительно «хромосомных полос» закончилась в 1986 году первым так на-

зываемым молекулярно-цитогенетическим экспериментом на человеческих хромосомах [10]. Основным методом молекулярной цитогенетики является флюоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) [9, 10]. FISH — это подход, позволяющий исследовать последовательности нуклеиновых кислот внутри клеток или на метафазных хромосомах и впервые описанный в 1986 году для людей [14]. Между 1986 и 1996 годами были выполнены одноцветные и трехцветные эксперименты с FISH, но с 1996 года многоцветные наборы зонда FISH становятся все более важными в рутинной цитогенетике [8, 11]. Для обнаружения и характеристики маркерных хромосом цитогенетический анализ почти во всех случаях является начальным этапом.

Маркерные хромосомы — это структурно измененные хромосомы, которые не могут быть идентифицированы или охарактеризованы общепринятой исчерченностью в цитогенетике [ISCN, 2016]. Если любая часть аномальной хромосомы может быть распознана, она считается дериватной хромосомой. Существует также понятие «малая сверхчисленная маркерная хромосома» (sSMC). До 2003 года в литературе отсутствовало четкое определение sSMC. «Минимальное определение» для sSMC состояло в том, что они представляют собой «небольшие структурно ненормальные хромосомы, которые встречаются в дополнение к нормальным 46 хромосомам» [4]. Часть проблемы с определением состоит в том, что фенотипы, связанные с sSMC, чрезвычайно разнообразны: от нормального до выражено аномального [13]. Кроме того, sSMC представляют собой морфологически гетерогенную группу структурно аномальных хромосом. В настоящее время sSMC можно определить цитогенетически как структурно ненормальные хромосомы, которые нельзя однозначно идентифицировать или охарактеризовать только обычной исчерченностью в цитогенетике и, как правило, равны по размеру или меньше, чем хромосома 20 той же метафазной пластинки. Малая сверхчисленная маркерная хромосома может присутствовать дополнительно в кариотипе 46 нормальных хромосом, в числовом аномальном кариотипе (например, синдром Тернера или синдром

Дауна), или в структурно ненормальном, но сбалансированном кариотипе, например Робертсонская транслокация, или при наличии кольцевой хромосомы [2, 18]. Напротив, маркерная хромосома, большая, чем хромосома 20, обычно может быть идентифицирована на основании характерной хромосомной исчерченности как дериватная.

Клинический случай. Пациентка В. поступила в эндокринологическое отделение Челябинской областной детской клинической больницы в возрасте 18 месяцев. Мать ребенка отмечала слабость, утомляемость ребенка. Из анамнеза стало известно, что в периоде новорожденности ребенку установлен диагноз «врожденная дисфункция коры надпочечников, сольтеряющая форма», ребенок постоянно получает заместительную терапию глюкокортикоидами и минералкортикоидами. За текущий год случилось несколько эпизодов декомпенсации заболевания на фоне острой респираторной инфекции. За год девочка выросла на 25 см, по данным рентгенологического исследования костей кисти костный возраст соответствует 2–3 годам, по данным ультразвукового исследования брюшной полости размеры печени и почек больше возрастной нормы. Ребенок от первой беременности, протекавшей на фоне угрозы прерывания беременности, первых своевременных и самостоятельных родов. Вес при рождении 3030 г, рост — 51 см. На первом году жизни пациентка перенесла несколько эпизодов острых респираторных заболеваний и острую внебольничную пневмонию. Наследственность по эндокринным заболеваниям со слов родителей — неотягощена.

При поступлении состояние оценили как среднетяжелое. Самочувствие не страдает, эмоционально лабильна. Телосложение правильное, показатели веса (9900 г), роста (75 см) в пределах возрастной нормы. Отмечается увеличение клитора. Осмотр по органам и системам не выявил патологических изменений.

Лабораторное и инструментальное обследование, проведенное в стационаре, не выявило патологических отклонений, ребенок выписан под наблюдение участкового педиатра и эндокринолога по месту жительства, рекомендовано проведение пластики наруж-

ных гениталий, продолжение заместительной терапии под контролем уровня электролитов и 17-гидроксипрогестерона, увеличение дозы глюкокортикоидов и минералкортикоидов при присоединении интеркуррентных заболеваний, плановая госпитализация в эндокринологическое отделение Челябинской областной детской клинической больницы через 6 месяцев. Ребенку проведена пластика наружных гениталий. При поступлении в возрасте 2 года рост (81 см), вес (10 700 г) в пределах возрастной нормы, лабораторное обследование не выявило патологических отклонений, выявлена гепатомегалия, размеры почек, яичников и матки на верхней границе

возрастной нормы. Костный возраст по данным рентгенологического исследования костей кисти 2–2,5 года. Картирование лимфоцитов периферической крови выявило наличие маркерной хромосомы в мозаичном варианте 47,XX,+mar[15]/46,XX[5] (рис. 1, 2).

При проведении стандартного цитогенетического обследования родителей хромосомной патологии у отца не выявлено, кариотип — 46,XY[11], у матери обнаружена маркерная хромосома в 100 % метафаз, кариотип — 47,XX,+mar[11]. На основании размеров по отношению к хромосоме 20 маркерная хромосома была отнесена к малым сверхчисленным маркерным хромосомам (sSMC).



Рис. 1. Кариограмма 47,XX,+mar, GTG-окраска



Рис. 2. Метафазная пластинка 47,XX,+mar, GTG-окраска

Для установления природы маркерной хромосомы был проведен многоцветный FISH-анализ. Многоцветный FISH-анализ (mFISH) — это метод, обеспечивающий анализ каждой отдельной хромосомы или ча-

стей хромосом в метафазе. Таким образом, маркерные хромосомы, сложные хромосомные перестройки и все многочисленные перестройки можно увидеть одновременно в одном эксперименте (рис. 3, 4).

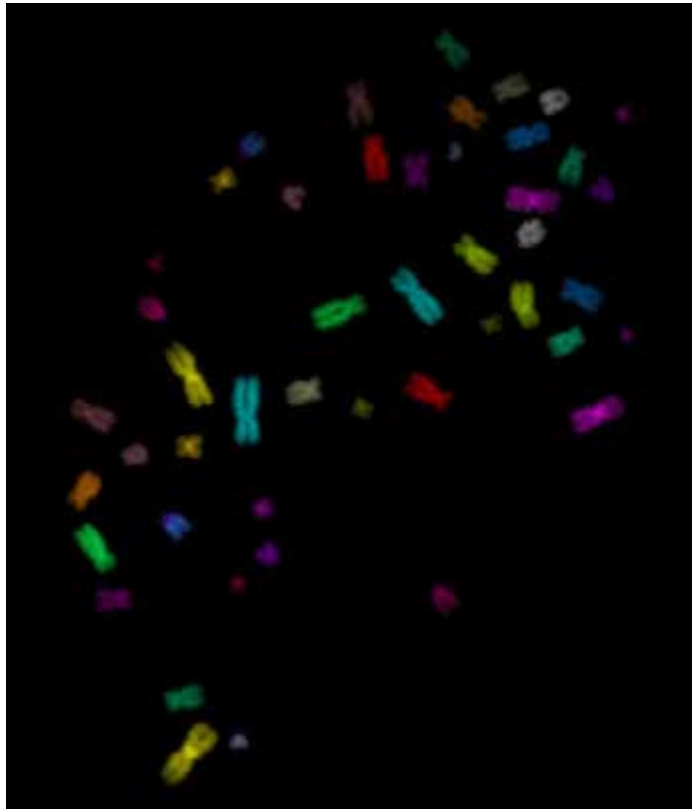


Рис. 3. Метафазная пластинка 47,XX,+mar, mFISH

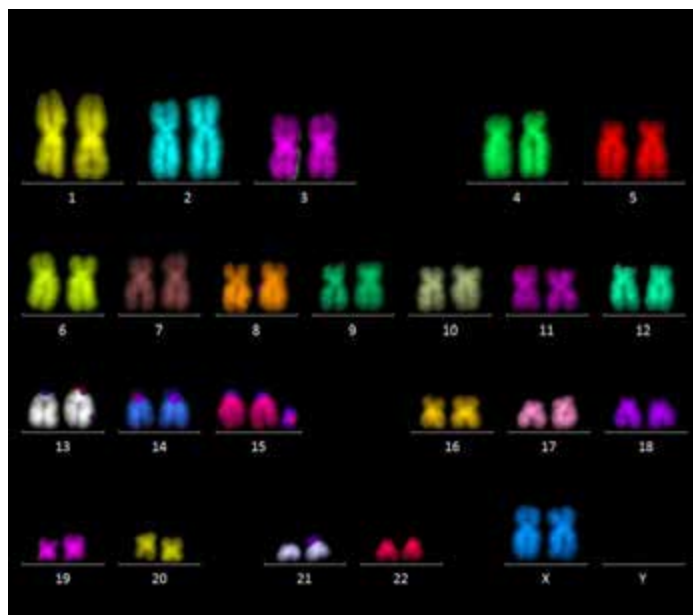


Рис. 4. Кариограмма 47,XX,+mar, mFISH

Таким образом, при проведении mFISH было выявлено, что маркерная хромосома, обнаруженная в кариотипе, является фрагментом хромосомы 15.

По данным литературных источников [12], среди индивидуумов с кариотипом 47,XN,+mar малая сверхчисленная маркерная хромосома чаще всего имеет происхож-

дение из хромосомы 15 (приблизительно в 30 %), за которой следует хромосома 22 (примерно в 20 %). В целом приблизительно в 60 % случаев sSMC происходят из акроцентрических хромосом. Для неакроцентрических sSMC наиболее часто встречаются хромосома 12 (приблизительно 9 %) и хромосома 18 (приблизительно 7 %). Остальная часть (34 %) малых сверхчисленных маркерных хромосом этой группы распределена по другим хромосомам человека.

Заключение. Около 70 % носителей sSMC de novo и более 98 % носителей sSMC, унаследованных от родителей, являются клинически нормальными [4, 6]. Таким образом, клинически нормальные носители малых сверхчисленных маркерных хромосом могут никогда не узнать, что у них это генетическое состояние.

Литература

1. Arnold J. Beobachtungen über Kernteilungen in den Zellen der Geschwülste // *Virchows. Arch. (Pathol. Anat.)*. — 1879. — № 78. — P. 279.
2. Baldwin E. L., May L. F., Justice A. N. et al. Mechanisms and consequences of small supernumerary marker chromosomes: from Barbara McClintock to modern genetic-counseling issues // *Am. J. Hum. Genet.* — 2008. — № 82. — P. 398–410.
3. Caspersson T., Farber S., Foley G. E. et al. Chemical differentiation along metaphase chromosomes // *Exp. Cell Res.* — 1968. — № 49. — P. 219–222.
4. Crolla J. A. FISH and molecular studies of autosomal supernumerary marker chromosomes excluding those derived from chromosome 15: II. Review of the literature // *Am. J. Med. Genet.* — 1998. — Vol. A, № 75. — P. 367–381.
5. Flemming W. Über die Chromosomenzahl beim Menschen // *Anat. Anz.* — 1897. — № 14. — P. 171.
6. Graf M. D., Christ L., Mascarello J. T. et al. Redefining the risks of prenatally ascertained supernumerary marker chromosomes: a collaborative study // *J. Med. Genet.* — 2006. — № 43. — P. 660–664.
7. Lejeune J. Chromosomic diagnosis

of mongolism // Ann. Genet. Sem. Hop. — 1959. — № 1. — P. 41–49.

8. Liehr T., Ewers E., Hamid A. B. et al. Small supernumerary marker chromosomes and uniparental disomy have a story to tell // *J. Histochem. Cytochem.* — 2011. — Vol. 59, № 9. — P. 842–848.
9. Liehr T., Ewers E., Kosyakova N. et al. How to handle small supernumerary marker chromosomes in prenatal diagnostics // *Expert. Rev. Mol. Diagn.* — 2009. — № 9. — P. 317–324.
10. Liehr T., Claussen U., Starke H. Small supernumerary marker chromosomes (sSMC) in humans // *Cytogenet. Genome Res.* — 2004. — № 107. — P. 55–67.
11. Liehr T., Mrasek K., Weise A. et al. Small supernumerary marker chromosomes: progress towards a genotype-phenotype correlation // *Cytogenet. Genome Res.* — 2006. — № 112. — P. 23–34.
12. Liehr T. Small Supernumerary Marker Chromosomes (sSMC). — USR, 2012.
13. Paoloni-Giacobino A., Morris M. A., Dahoun S. P. Prenatal supernumerary r(16) chromosome characterized by multiprobe FISH with normal pregnancy outcome // *Prenat. Diagn.* — 1998. — № 18. — P. 751–752.
14. Pinkel D., Straume T., Gray J. W. Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1986. — № 83. — P. 2934–2938.
15. Seabright M. A rapid banding technique for human chromosomes // *Lancet.* — 1971. — № 2. — P. 71–972.
16. Tjio J. H., Levan A. The chromosome number of man // *Hereditas.* — 1956. — № 42. — P. 1–6.
17. Vogel F., Motulsky A. G. History and Development of Human Cytogenetics // *Human Genetics. Problems and Approaches / eds. Vogel F., Motulsky A. G.* — Berlin Heidelberg New York Tokyo: Springer-Verlag, 1986. — P. 20–24.
18. Wolff D. J., Schwartz S. Characterization of Robertsonian translocations by using fluorescence in situ hybridization // *Am. J. Hum. Genet.* — 1992. — Vol. A, № 50. — P. 174–181.