

© О. А. Тарасенко, Л. И. Петрова,  
О. Е. Талантова, А. Л. Коротеев,  
О. Г. Чиряева., Т. Э. Иващенко

## СЛУЧАЙ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ СИНДРОМА КЛЯЙНФЕЛЬТЕРА МЕТОДОМ КФ-ПЦР

НИИ акушерства и гинекологии  
им. Д. О. Отта СЗО РАМН

УДК: 618.2-07:575

■ В настоящей работе представлен алгоритм проведения пренатальной диагностики в случае числовых aberrаций половых хромосом на примере синдрома Кляйнфельтера. Результаты молекулярного исследования верифицировали анализом кариотипа плода цитогенетическими методами. Метод КФ-ПЦР можно оценить как быстрый, простой и точный способ пренатальной диагностики наиболее распространенных хромосомных анеуплоидий, который дает возможность анализировать большое количество образцов при сравнительно низкой стоимости.

■ **Ключевые слова:** анеуплоидия; КФ-ПЦР; пренатальная диагностика; STR; синдром Кляйнфельтера.

### Введение

Согласно обобщенным мировым данным, частота ВПР составляет 3,5%, моногенных болезней — 1,4% и хромосомных синдромов — 0,6%. Около 40–50% ранней младенческой (перинатальной) смертности и инвалидности с детства также обусловлены наследственными факторами [2].

Для пренатальной диагностики хромосомных болезней в настоящее время принято использовать цитогенетический анализ для определения кариотипа плода. В зависимости от срока беременности материалом для хромосомного анализа могут быть клетки амниотической жидкости, хориона, плаценты и лимфоцитов пуповинной крови плода, полученные тем или иным инвазивным методом. В начале 1990-х годов для выявления числовых аномалий кариотипа стали использовать методику флуоресцентной *in situ* гибридизации (fluorescence in situ hybridization (FISH)). Однако данный метод отличается трудоемкостью и высокой стоимостью расходных материалов. В последние 10 лет для пренатальной диагностики наиболее распространенных хромосомных анеуплоидий, таких как синдром Дауна, Эдвардса, Патау, а также нарушение числа половых хромосом, используют количественную флуоресцентную ПЦР (КФ-ПЦР) (Pertl et al., 1999, 1999; Adinolfi et al., 2000, 2001). Метод КФ-ПЦР основан на амплификации хромосом-специфических полиморфных по количеству копий последовательностей ДНК (STR маркеров хромосом X, Y, 21, 18 и 13). Использование флуоресцентно меченых праймеров позволяет проводить количественный фрагментный анализ на автоматическом капиллярном анализаторе и таким образом определять наличие числовых аномалий кариотипа. Данный метод характеризуется высокой чувствительностью и специфичностью при выявлении основных хромосомных заболеваний [5, 11, 6, 10, 9, 12, 13, 8]. С 2006 г. метод КФ-ПЦР используется для пренатальной диагностики и в нашей лаборатории [3].

### Материалы и методы

Пациентка П.. 26 лет, соматически здорова, беременность первая, была направлена на инвазивную пренатальную диагностику хромосомных болезней в связи с повышенным риском данной патологии по результатам биохимического скрининга второго триместра. Ультразвуковое исследование плода не выявило маркеров хромосомной патологии. Риск рождения ребенка с числовым нарушением хромосом составил 0,363%. Женщине проведен диагностический амниоцентез на сроке беременности 18/19 недель для исключения хромосомной патологии плода. Анализ проводили методом КФ-ПЦР с использованием мультиплексной амплификации STR-маркеров хромосом X, Y, 21, 18 и 13 на образце ДНК, выделенной из клеток амниотической жидкости. Праймеры для мультиплексной ПЦР, и условия амплификации приведены в нашем предыдущем сообщении [3].

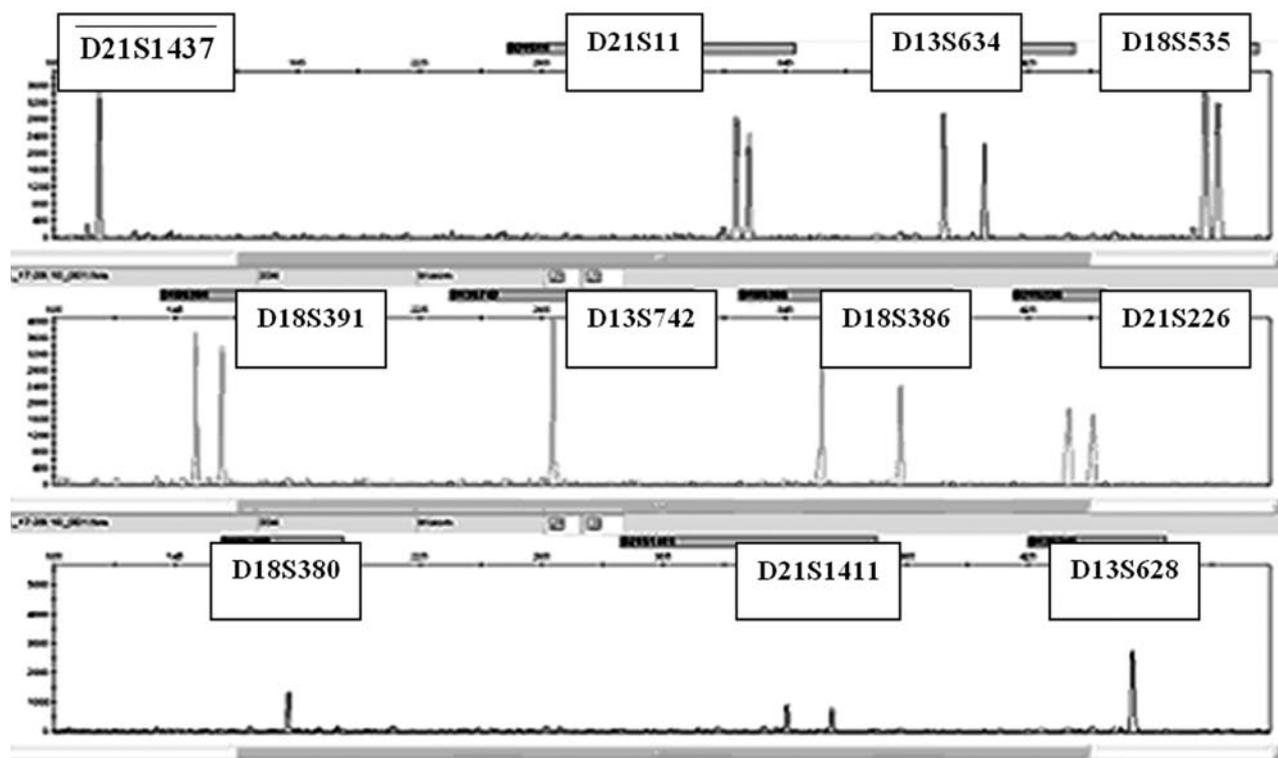


Рис. 1. КФ-ПЦР детекция STR маркеров на хромосомах 13, 18, 21 у плода

Флуоресцентные ПЦР-продукты анализировали с помощью капиллярного электрофореза на автоматизированном ДНК-секвенаторе ABI 3100-Avant.

### Результаты и обсуждение

При анализе STR-маркеров аутосом 13, 18, 21 (маркеры D13S628, D13S634, D13S742, D18S380, D18S386, D18S391, D18S535, D21S11, D21S1437, D21S1411, D21S226) выявлено нормальное соотношение пиков для всех проанализированных локусов (рис. 1). При анализе молекулярных маркеров на половых хромосомах определено соотношение пиков для маркера AMXY — 2:1 и X22-1:2, при этом остальные маркеры X хромосомы (DXS981, DXS6854, P39, XHPRT) представлены единичными пиками.

Полиморфный маркер AMXY представляет собой последовательность амелогенинового гена локализованного на X хромосоме в области Xp22.1–22.31 и на Y хромосоме в псевдоаутосомной области — Yp11.2. STR маркер X22 также локализован на X и Y хромосомах (Xq/Yq).

Подобное соотношение пиков для маркеров, локализованных как на X, так и на Y хромосомах (AMXY — 2:1 и X22 — 1:2), свидетельствует либо о наличии нерасхождения X хромосомы, произошедшем во втором делении мейоза, либо о наличии мозаичного кариотипа 45,X/46,XY по крайней мере в 50% клеток. Для исключения неоднозначности результата, полученного при использовании метода КФ-ПЦР проведен диа-

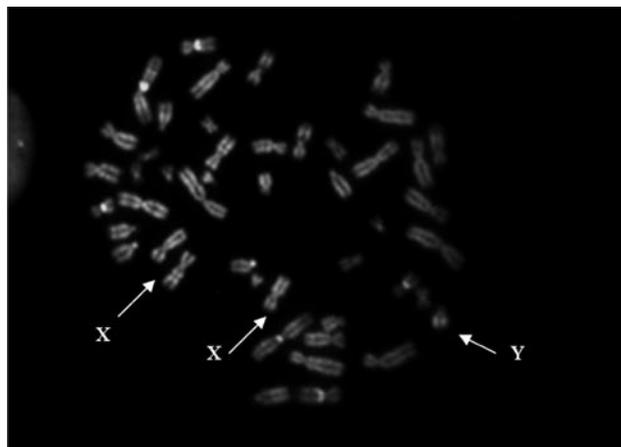


Рис. 2. Кариотип плода 47, XXY

гностический кордоцентез с целью кариотипирования плода по лимфоцитам пуповинной крови. При кариотипировании был выявлен синдром Кляйфельтера у плода (47, XXY) (рис. 2).

Известно, что 40% случаев возникновения данного синдрома происходит при нерасхождении половых хромосом в гаметогенезе матери, причем в основном (75%) в первом делении мейоза, при этом плод получает от матери две разные X хромосомы (CCSKRF). Для подтверждения нерасхождения половых хромосом во втором делении мейоза у матери нами проанализированы STR маркеры X-хромосомы в образце ДНК самой пациентки (рис. 3). При анализе флуоресцентных ПЦР-

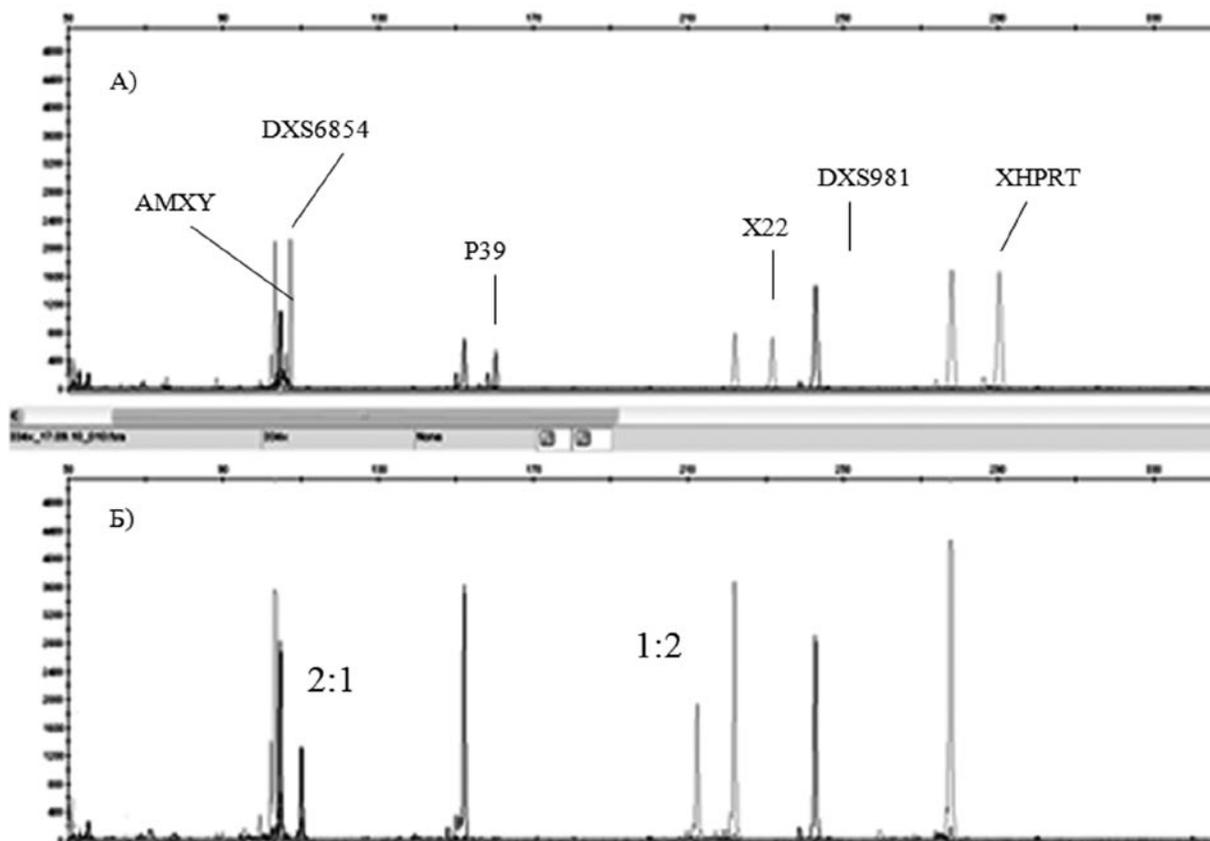


Рис. 3. КФ-ПЦР детекция STR маркеров на хромосомах X и Y: А) пациентка, Б) плод

продуктов четко видно наличие удвоения одной X хромосомы материнского происхождения.

Последние 5 лет в ведущих пренатальных центрах мира активно используют метод КФ ПЦР для диагностики наиболее распространенных хромосомных нарушений у плода, таких как трисомия 21 (синдром Дауна), трисомия 18 (синдром Эдвардса), трисомия 13 (синдром Патау), а также нарушения числа гоносом. На долю этих болезней приходится почти 99% всех нарушений кариотипа, совместимых с живорождением и приводящих к хромосомным болезням в постнатальном периоде. Однако наибольшие проблемы при использовании метода КФ ПЦР возникают при проведении анализа для исключения аномалий половых хромосом. Это связано с тем, что частота мозаицизма по половым хромосомам достаточно высока, и в ряде случаев при использовании данного метода невозможно однозначно поставить диагноз. Более того, тактика ведения беременности после пренатальной диагностики в случае мозаичного кариотипа отличается от таковой при несбалансированном кариотипе [1]. Учитывая разнообразие клинических признаков при нарушении числа половых хромосом, особое внимание следует уделять медико-генетическому консультированию по результатам проведенной диагностики. Хотелось бы отметить, что молекулярное тестирование методом КФ-ПЦР не может выявить весь диапазон хромосомных аномалий, доступных

для стандартного цитогенетического анализа, поэтому данный метод следует рекомендовать для диагностики хромосомной патологии у плода только в группах женщин высокого риска сформированных на основании биохимического скрининга. При наличии ультразвуковых маркеров хромосомных болезней кариотип плода необходимо исследовать стандартными цитогенетическими методами. Кариотипирование плода также показано и при наличии неоднозначных результатов, полученных методом КФ-ПЦР в случае хромосомного мозаицизма или некоторых числовых aberrаций гоносом. Однако в качестве скринингового метода КФ-ПЦР можно оценить как быстрый, простой и точный способ пренатальной диагностики наиболее распространенных хромосомных анеуплоидий, который дает возможность анализировать большое количество образцов при сравнительно низкой стоимости.

### Литература

1. Баранов В. С., Кузнецова Т. В. Цитогенетика эмбрионального развития человека. — СПб.: Изд-во Н-Л, 2007. — 620 с.
2. Вельтищев Ю. Е., Бочков Н. П. Наследственная патология человека. Т. 1. — М., 1992.
3. Особенности пренатальной диагностики хромосомных болезней с помощью метода количественной флуоресцентной ПЦР / Демин Г. С. [и др.] // Медицинская генетика. — 2008. — Т. 7, № 5. — С. 20–25.

4. Пренатальная диагностика наследственных и врожденных болезней / ред. Э. К. Айламазян, В. С. Баранов. — М.: Медпресс-информ, 2006.
5. *Adinolfi M., Sherlock J.* Prenatal detection of chromosome disorders by QF-PCR // *Lancet*. — 2001. — Vol. 29 (358). — P. 1030–1031.
6. Assessment of new markers for the rapid prenatal detection of aneuploidies by quantitative fluorescent PCR (QF-PCR) / *Cirigliano V.* [et al.] // *Ann. Hum. Genet.* — 2001. — Vol. 65. — P. 421–427.
7. Clinical application of multiplex quantitative fluorescent polymerase chain reaction (QF-PCR) for the rapid prenatal detection of common chromosome aneuploidies / *Cirigliano V.* [et al.] // *Mol. Hum. Reprod.* — 2001. — Vol. 10. — P. 1001–1006.
8. Detection of aneuploidy in chromosomes X, Y, 13, 18 and 21 by QF-PCR in 662 selected pregnancies at risk / *Schmidt W.* [et al.] // *Mol. Hum. Reprod.* — 2000. — Vol. 6. — P. 855–860.
9. Development and implementation of a new rapid aneuploidy diagnostic service within the UK National Health Service and implications for the future of prenatal diagnosis // *Mann K.* [et al.] // *Lancet*. — 2001. — Vol. 358. — P. 1057–1061.
10. *Levett L. J., Liddle S., Meredith R.* A large-scale evaluation of amniotic PCR for the rapid prenatal diagnosis of fetal trisomy // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* — 2001. — Vol. 17. — P. 115–118.
11. Prenatal screening of aneuploidies by quantitative fluorescent PCR / *Adinolfi M.* [et al.] // *Community Genet.* — 2000. — Vol. 3. — P. 50–60.
12. Rapid detection of chromosome aneuploidies by quantitative fluorescence PCR: first application on 247 chorionic vil-  
lus samples / *Pertl B.* [et al.] // *J. Med. Genet.* — 1999. — Vol. 36. — P. 300–303.
13. Rapid prenatal diagnosis of aneuploidy by quantitative fluorescent PCR on fetal samples from mothers at high risk for chromosome disorders / *Pertl B.* [et al.] // *Mol. Hum. Reprod.* — 1999. — Vol. 5. — P. 1176–1179.

Статья представлена Э. К. Айламазяном,  
НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта,  
Санкт-Петербург

#### PRENATAL DIAGNOSTIC OF KLINEFELTER'S SYNDROME BY QF-PCR METHOD. A CASE REPORT

Tarasenko O. A., Petrova L. I., Talantova O. E.,  
Koroteev A. L., Chiryayeva O. G., Ivashchenko T. E.

**■ Summary:** In the present study the algorithm of prenatal diagnostics of numerical sex chromosome aberrations is developed on an example of a Klinefelter's syndrome. Results of molecular analysis were verified by karyotyping of the fetus. QF-PCR can be suggested as a fast, simple and reliable method of prenatal diagnosis for common chromosome aberrations.

**■ Key words:** aneuploidy; QF-PCR; prenatal diagnostics; STR; Klinefelter's syndrome; chromosomal abnormalities.

#### ■ Адреса авторов для переписки

*Тарасенко Ольга Александровна* — научный сотрудник.  
НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.  
199034 Менделеевская линия, д. 3. Санкт-Петербург, Россия.  
**E-mail:** Olgatar777@mail.ru.

*Петрова Любовь Ивановна* — врач-лаборант цитогенетик.  
НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.  
199034 Менделеевская линия, д. 3. Санкт-Петербург, Россия.  
**E-mail:** iagmail@ott.ru.

*Талантова Ольга Евгеньевна* — к. м. н., н. с., врач акушер-гинеколог.  
НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.  
199034 Менделеевская линия, д. 3. Санкт-Петербург, Россия.  
**E-mail:** iagmail@ott.ru.

*Коротеев Александр Леонидович* — к. м. н., с. н. с., рук. клинической группы, врач акушер-гинеколог.  
НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.  
199034 Менделеевская линия, д. 3. Санкт-Петербург, Россия.  
**E-mail:** iagmail@ott.ru.

*Чиряева Ольга Гавриловна* — к. б. н., врач-лаборант цитогенетик.  
НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.  
199034 Менделеевская линия, д. 3. Санкт-Петербург, Россия.  
**E-mail:** iagmail@ott.ru.

*Иващенко Татьяна Эдуардовна* — д. б. н., в. н. с. профессор, руководитель молекулярной группы.  
НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.  
199034 Менделеевская линия, д. 3. Санкт-Петербург, Россия.  
**E-mail:** iagmail@ott.ru.

*Tarasenko Olga Aleksandrovna* — researcher.  
D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology.  
Mendeleevskaia Line, 3. 199034 Russia St.-Petersburg.  
**E-mail:** Olgatar777@mail.ru.

*Petrova Lubov Ivanovna* — cytogenetist.  
D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology.  
Mendeleevskaia Line, 3. 199034 Russia St.-Petersburg.  
**E-mail:** iagmail@ott.ru.

*Talantova Olga Evgenievna* — Ph. D in medicine, obstetrician-gynecologist.  
D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology.  
Mendeleevskaia Line, 3. 199034 Russia St.-Petersburg.  
**E-mail:** iagmail@ott.ru.

*Koroteev Alexander Leonidovich* — Ph. D. in medicine, obstetrician-gynecologist.  
D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology.  
Mendeleevskaia Line, 3. 199034 Russia St.-Petersburg.  
**E-mail:** iagmail@ott.ru.

*Chiryayeva Olga Gavrilovna* — Ph. D. in biology, cytogenetist.  
D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology.  
Mendeleevskaia Line, 3. 199034 Russia St.-Petersburg.  
**E-mail:** iagmail@ott.ru.

*Ivashchenko Tatyana Eduardovna* — Ph. D professor, senior researcher.  
D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology.  
Mendeleevskaia Line, 3. 199034 Russia St.-Petersburg.  
**E-mail:** iagmail@ott.ru.