

И.Ю. ЮРОВ<sup>1</sup>, С.Г. ВОРСАНОВА<sup>2</sup>, В.В. МОНАХОВ<sup>1</sup>,  
А.К. БЕРЕШЕВА<sup>2</sup>, И.В. СОЛОВЬЕВ<sup>1</sup>, Ю.Б. ЮРОВ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Научный центр психического здоровья РАМН, Москва, Россия

<sup>2</sup>Институт педиатрии и детской хирургии МЗ РФ, Москва, Россия

## МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РОБЕРТСОНОВСКОЙ ТРАНСЛОКАЦИИ 13;14 И СИНДРОМА ДАУНА У РЕБЕНКА 3 ЛЕТ



**Введение.** Робертсоновские транслокации (ROB) являются особым типом хромосомных перестроек с вовлечением акроцентрических хромосом 13, 14, 15, 21 и 22. Они могут носить спорадический характер или наследоваться от одного из родителей — носителя данной хромосомной перестройки. Образование ROB происходит за счет слияния длинных плеч акроцентрических хромосом с одновременной потерей обоих коротких плеч. По типу формирования различают два вида ROB — моноцентрические и дицентрические. Моноцентрические ROB образуются за счет разрыва в коротком плече одной и в длинном плече другой акроцентрической хромосомы с потерей центромеры (включая центромерный гетерохроматин) одной из них. Дицентрические ROB образуются за счет разрывов в коротких плечах обеих хромосом при сохранении участков центромерного гетерохроматина и инактивации одной из центромер [1]. Частота ROB составляет 1 на 1000 индивидуумов, таким образом, этот тип перестроек является одной из самых частых структурных аномалий хромосом [2]. Указанные хромосомные перестройки не связаны с какими-либо аномальными фенотипическими проявлениями. Это объясняется тем, что короткие плечи всех акроцентрических хромосом содержат некодирующие сателлитные ДНК и гены рибосомной РНК (18S и 28S), потеря которых, по-видимому, не отражается на фенотипе. Тем не менее имеются данные о том, что индивидуумы с ROB могут входить в группу риска рождения детей с многочисленными хромосомными аномалиями и унипарентальной дисомией, а также по спонтанным абортусам [1].

ROB с вовлечением негомологичных хромосом составляют около 90 %, тогда как с вовлечением гомологичных хромосом — не более 10 % [3]. Наиболее частыми среди этих аномалий в общей популяции являются rob(13q;14q) и rob(14q;21q) — 76 и 10 % соответственно. Общая частота других ROB оценивается как 15 % и ниже [4, 5]. Отмечается, что примерно у 5 % детей с синдромом Дауна обнаруживается ROB с вовлечением хромосомы 21.

В литературе имеется достаточное количество данных о том, что наличие ROB с вовлечением хромосомы 21 у одного из родителей может приводить к рождению ребенка с трисомией по хромосоме 21 [1, 6]. Описан также случай мозаичной формы двух ROB в сочетании с синд-

*Описан редкий случай робертсоновской транслокации 13;14 материнского происхождения, сочетанной с регулярной трисомией хромосомы 21 (46, XX, der(13;14)(q10;q10)mat,+21) и фенотипическими проявлениями синдрома Дауна. Молекулярно-цитогенетическое и цитогенетическое исследования позволили определить, что дополнительная хромосома 21 у ребенка имеет материнское происхождение, а нерасхождение хромосом 21 произошло в мейозе I у матери. Обсуждается возможное влияние структурных аномалий хромосом 13 и 14 на нерасхождение хромосомы 21.*

© И.Ю. ЮРОВ, С.Г. ВОРСАНОВА, В.В. МОНАХОВ,  
А.К. БЕРЕШЕВА, И.В. СОЛОВЬЕВ, Ю.Б. ЮРОВ, 2004

ромом Дауна и кариотипом 45,XX,der(14q;21q)/46,XX,der(21q;21q),+21 [7]. Известно, что ROB с вовлечением хромосом 21 и 22 у одного из родителей может приводить к трисомии длинного плеча хромосомы 21 (синдром Дауна) у probanda [8].

При исследовании механизма образования трисомии 21q у детей, родители которых являются носителями ROB с вовлечением хромосомы 21, было показано, что процесс нерасхождения в клетках probanda происходит в мейозе II, тогда как образование ROB de novo происходит в пахитене I мейоза I. Этот механизм образования ROB и последующего нерасхождения хромосом у probanda рассматривается как наиболее вероятный [9]. Однако вопрос о том, является ли наличие ROB одним из генетических факторов, влияющих на нерасхождение хромосом 21 и повышающих риск рождения ребенка с синдромом Дауна, остается до настоящего времени открытым.

В настоящей работе проведено цитогенетическое и молекулярно-цитогенетическое исследование редкого случая ROB с вовлечением хромосом 13 и 14 в сочетании с синдромом Дауна у ребенка 3 лет. На базе полученных данных была проведена оценка возможного влияния структурных аномалий хромосом 13 и 14 на нерасхождение хромосомы 21.

**Материал и методы.** Цитогенетические и молекулярно-цитогенетические исследования проводили на препаратах культивированных лимфоцитов периферической крови probanda, его матери и отца. У probanda — девочки в возрасте 3 лет, рожденной от второй беременности (первая — медицинский аборт), наблюдались практически все фенотипические характеристики синдрома Дауна — плоский затылок и лицо, короткая шея, эпикант, монголоидный разрез глазных щелей, умственная отсталость. Родители не сообщают о каких-либо осложнениях в ходе беременности. Девочка родилась в головном предлежании с массой тела 3400 г, длиной 46 см, окружностью головы 35 см. Оценка по Апгар была 3/6. Мать и отец probanda не имели каких-либо признаков наследственной патологии, брак неродственный. При анализе генеалогических данных было обнаружено, что как по линии отца, так и по линии матери в трех поколениях не наблюдалось врожден-

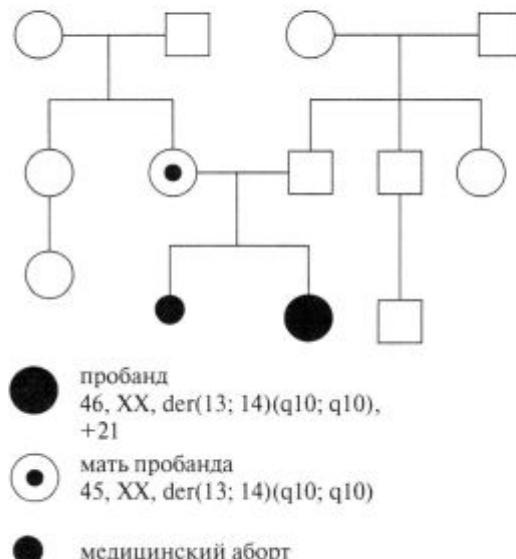


Рис. 1. Родословная семьи

ные аномалии, наследственная патология и спонтанные абортусы (рис. 1).

Цитогенетический анализ проводился с помощью стандартных методов с некоторыми модификациями [10]. Определение происхождения дополнительной хромосомы 21 проводили на основе морфологического анализа особенностей хромосом 21 (наличие/отсутствие и размеры спутников, размеры короткого плеча и т.д.) у probanda, матери и отца, а также при использовании молекулярно-цитогенетических методов, как описано ранее [11]. Для молекулярно-цитогенетического исследования применяли метод количественной FISH, как описано нами ранее [12]. Флюоресцентную гибридизацию *in situ* (FISH) на интерфазных и метафазных хромосомных препаратах проводили по ранее описанному протоколу быстрой двухцветовой FISH с использованием оригинальной коллекции хромосомоспецифичных ДНК проб на хромосомы 13/21 и 14/22 [13–15].

У probanda, матери и отца методом FISH было исследовано не менее 30 метафазных пластинок и анализировано по 200 интерфазных клеток. Количественную оценку интенсивности сигналов после FISH (определение площади под кривыми интенсивностей) проводили с использованием программы Scion Image software ([www.scioncorp.com](http://www.scioncorp.com)) после цифрового захвата микроскопического изображения с использованием CCD-камеры.

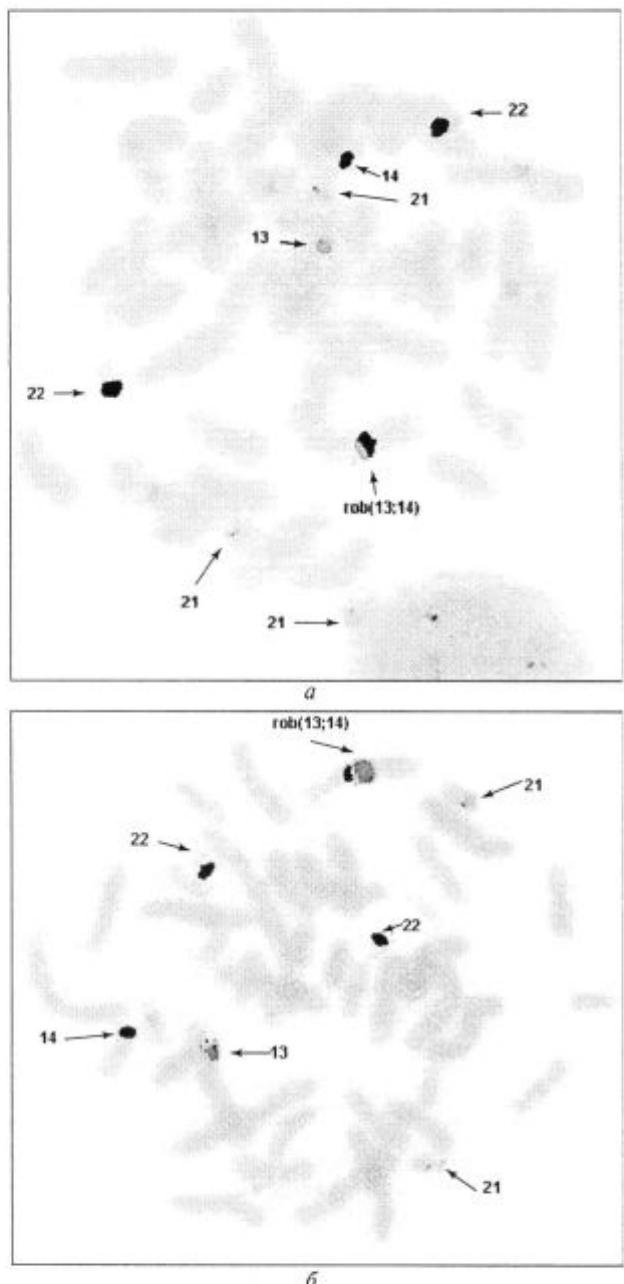


Рис. 2. Двухцветовая флуоресцентная гибридизация *in situ* с центромерными альфоидными ДНК зондами на хромосомы 13/21 и 14/22 у probанда (а) и его матери (б)

**Результаты исследований и их обсуждение.** В результате стандартного цитогенетического анализа у probанда обнаружены ROB с вовлечением хромосом 13 и 14 в сочетании с регулярной трисомией хромосомы 21 (кариотип 46,XX,der(13;14)(q10;q10),+21). Анализ кариотипов родителей probанда позволил выявить

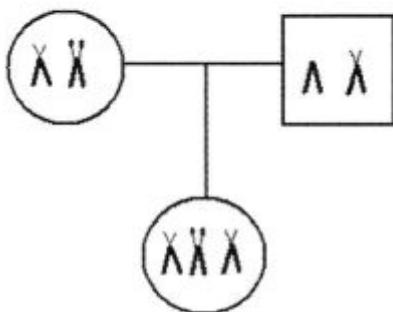


Рис. 3. Схематическое изображение определения происхождения дополнительной хромосомы 21 у probанда с помощью цитогенетического анализа. Хромосома 21 со спутниками присутствует как у матери, так и у probанда (унаследована probандом от матери). Хромосома 21 без спутников и с уменьшенным коротким плечом присутствует у отца и probанда (унаследована probандом от отца). Третья хромосома 21 у probанда неотличима от одного из гомологов как у матери, так и отца

ROB у матери с вовлечением хромосом 13 и 14 при кариотипе 45,XX,der(13;14)(q10;q10). Цитогенетический анализ показал отсутствие хромосомных аномалий у отца probанда.

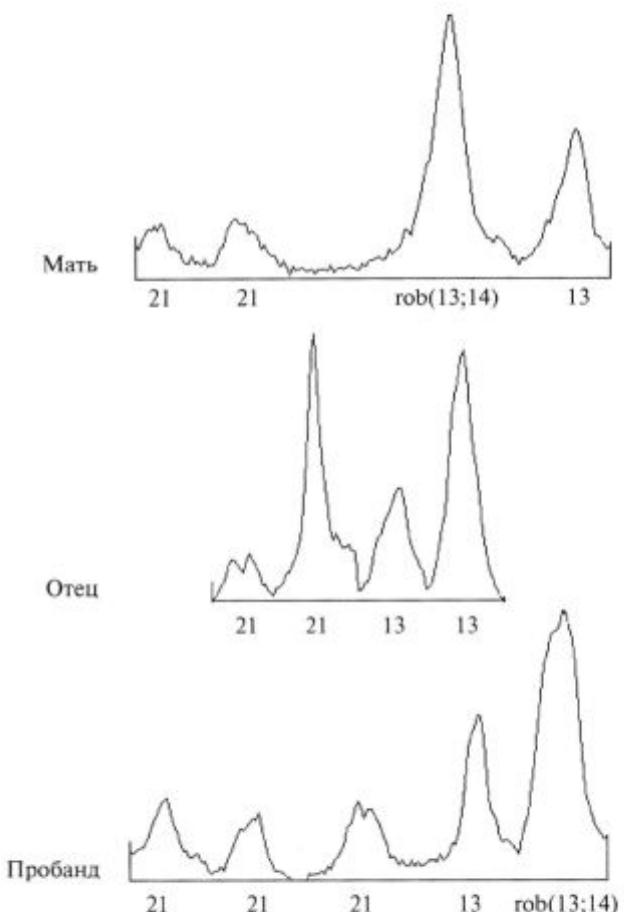
Молекулярно-цитогенетическое исследование с помощью альфоидных ДНК зондов показало, что хромосома rob13;14 как у probанда, так и у матери содержит оба участка центромерного гетерохроматина, окружающего центромеры хромосом 13 и 14, и следовательно является дицентрической (рис. 2 а, б). Помимо этого, FISH исследование позволило определить, что активная центромера принадлежит хромосоме 14, а центромера хромосомы 13 инактивирована.

Попытка определить происхождение дополнительной хромосомы 21 у probанда с помощью цитогенетического исследования позволила четко идентифицировать материнское и отцовское происхождение для двух хромосом 21 из трех. Вопрос о происхождении дополнительной хромосомы 21 у probанда оставался открытым, так как она морфологически неотличима как от одной из хромосом 21 матери, так и отца (рис. 3). В связи с этим был проведен молекулярно-цитогенетический анализ происхождения дополнительной хромосомы 21 у probанда с использованием количественной оценки гибридизационных сигналов (рис. 4). Сравнительный анализ соотношения интен-

сивности сигналов на хромосомах 21 у пробанда, матери и отца выявил, что лишь одна из хромосом пробанда имеет отцовское происхождение. Следовательно, нерасхождение хромосом 21 произошло в мейозе I у матери, и, вероятно, дополнительная хромосома 21 у пробанда имеет материнское происхождение.

В настоящее время описано только два случая ROB с вовлечением акроцентрических хромосом (кроме хромосомы 21) в сочетании с регулярной трисомией хромосомы 21. В работе, описавшей случай rob(14q;22q) отцовского происхождения у ребенка с регулярной трисомией хромосомы 21, обсуждается возможность влияния структурных перестроек других хромосом на образование трисомии 21. Однако авторы не приходят к определенным выводам по поводу существования подобного эффекта, так как не проводили анализ происхождения дополнительной хромосомы 21 (отцовского или материнского). Следует отметить, что rob(14q;22q) наблюдалась также у двух сестер и брата пробанда [16]. Описан также случай rob(13q;14q) материнского происхождения у мальчика с регулярной трисомией хромосомы 21 [17]. Однако в этой работе также не был получен ответ на вопрос о родительском происхождении дополнительной хромосомы 21 у пробанда, и следовательно полноценная оценка возможного влияния rob(13q;14q) на образование трисомии 21 не представлялась возможной. Кроме того, молекулярно-цитогенетический анализ этих случаев также не был проведен.

Необходимо отметить, что во всех случаях сочетания трисомии 21 и ROB с участием других акроцентрических хромосом вовлечена хромосома 14. Высокая частота ROB с вовлечением акроцентрических хромосом 13, 14 и 21 по сравнению с другими объясняется тем, что именно между этими хромосомами наблюдаются рекомбинации в мейозе [4]. Исследования возможных причин возникновения трисомии 21 у больных синдромом Дауна показали взаимосвязь нерасхождения с нарушениями частоты рекомбинации [18]. В связи с этим можно обоснованно предположить, что наличие ROB может каким-то образом влиять на процессы конъюгации, рекомбинации и сегрегации хромосомы 21 в ходе мейоза.



**Рис. 4.** Количествоенный анализ интенсивности гибридизационных сигналов хромосом 13 и 21 у пробанда, его матери и отца (для rob(13;14) анализировали только сигнал хромосомы 13). Две гомологичные хромосомы 21 у матери пробанда имеют практически идентичные по интенсивности гибридизационные сигналы, т.е. эти хромосомы содержат одинаковое количество копий сателлитной (альфаидной) ДНК. Однако две хромосомы 21 у отца отличаются по содержанию альфаидной ДНК, демонстрируя так называемый гетероморфизм гомологичных хромосом 21. Хромосома 21 отца пробанда с резко увеличенным по интенсивности сигналом, морфологически неотличимая от одной из хромосомы 21 матери, отсутствует у пробанда. Этот факт исключает отцовское происхождение добавочной хромосомы 21. Следовательно, пробанд унаследовал обе гомологичные хромосомы 21 от матери (нерасхождение на стадии мейоза I).

В настоящей работе с использованием метода количественной FISH обнаружено, что у пробанда дополнительная хромосома 21 имеет материнское происхождение, и нерасхождение произошло в мейозе I. Кроме того, хромосома

rob(13q;14q) также имеет материнское происхождение. Учитывая материнское происхождение ROB и дополнительной хромосомы 21 у probanda, можно предположить, что rob(13q;14q) привела к ошибке при рекомбинации, что в свою очередь привело к нерасхождению хромосом 21 в мейозе I.

Таким образом, несмотря на то, что описываемая сочетанная хромосомная аномалия может быть лишь совпадением, нельзя исключить влияния ROB с вовлечением хромосом 13 и 14 на нерасхождение хромосомы 21, приводящее к трисомии 21. Сравнительно низкая частота подобных сочетанных аномалий, по-видимому, объясняется тем, что обмен последовательностью ДНК в ходе рекомбинации между хромосомами 13, 14 и 21 имеет случайный характер. Следовательно, можно обоснованно высказать предположение о том, что носители ROB с вовлечением хромосом 13 и 14 и других акроцентрических хромосом, вероятно, составляют группу риска рождения детей с трисомией 21. Только с применением оригинального метода количественной флюоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) с использованием ДНК зондов на гетерохроматиновые участки хромосом 13, 14 и 21 можно было показать, что хромосома rob13;14 имеет материнское происхождение и является дицентрической при инактивации центромеры хромосомы 14. Дополнительная хромосома 21 у probanda также имела материнское происхождение в результате нерасхождения хромосом 21 в первом мейотическом делении. Следовательно, полученные результаты подтверждают предположение о том, что наличие робертсоновской транслокации, в частности rob13;14, можно рассматривать как фактор повышенного риска нерасхождения хромосом 21 и рождения ребенка с синдромом Дауна. В заключение следует отметить, что возможность влияния ROB с вовлечением хромосом 13 и 14 на нерасхождение хромосомы 21 необходимо учитывать при последующих исследованиях причин нерасхождения хромосом, медико-генетическом консультировании носителей подобных ROB, а также при пренатальной диагностике плодов, родители которых являются носителями данных структурных хромосомных аномалий.

Работа частично поддержана грантами COPERNICUS 2 и INTAS 03-50-4060.

**SUMMARY.** We describe here a rare case of Robertsonian translocation 13;14 of maternal origin combined with regular trisomy 21 (46,XX,der(13;14)(q10;q10)mat,+21) with Down syndrome phenotype. Molecular cytogenetic studies allowed us to determine the maternal origin of additional chromosome 21 and the non-disjunction of chromosome 21 to occur in meiosis I. On the basis of data obtained we discuss the possible involvement of structural alterations of chromosomes 13 and 14 in the chromosome 21 non-disjunction.

**РЕЗЮМЕ.** Описано рідкісний випадок робертсонівської транслокації 13;14 материнського походження, яка сполучається з регулярною трисомією хромосоми 21 (46,XX,der(13;14)(q10;q10)mat,+21) та фенотипічними проявами синдрома Дауна. Молекулярно-цитогенетичне та цитогенетичне дослідження дозволили з'ясувати, що додаткова хромосома 21 у дитини стала в мейозі I у матері. Обговорюється можливість впливу структурних аномалій хромосом 13 та 14 на нерозходження хромосоми 21.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kim S.-R., Shaffer L.G. Robertsonian translocations: mechanisms of formation, aneuploidy, and uniparental disomy and diagnostic considerations // *Genet. Testing*. — 2002. — 6. — P. 163–168.
2. Hamerton J.L., Canning N., Ray M., Smith S. A cytogenetic survey of 14069 newborn infants. 1. Incidence of chromosome abnormalities // *Clin. Genet.* — 1975. — 8. — P. 223–243.
3. Therian E., Susman B., Deniston D. The nonrandom participation of human acrocentric chromosomes in Robertsonian translocations // *Ann. Hum. Genet.* — 1989. — 53. — P. 49–65.
4. Choo K.H., Vissel B., Brown R. et al. Homologous alpha satellite sequences on human acrocentric chromosomes with selectivity for chromosomes 13, 14 and 21: implications for recombination between nonhomologous chromosomes and Robertsonian translocations // *Nucl. Acids Res.* — 1988. — 16. — P. 1273–1284.
5. Choo K.H., Vissel B., Earle E. Evolution of alpha-satellite DNA on human acrocentric chromosomes // *Genomics*. — 1989. — 5. — P. 332–344.
6. Sudha T., Gopinath P.M. Translocation (14;21)(q11;q22) in a woman with history of abortions and a child with Down's syndrome // *Ann. Genet.* — 1990. — 33. — P. 162–164.
7. Leal-Garza C.H., Cortes-Gutierrez E.I., Ortiz-Jalomo R., Garcia-Cavazos R. A case of mosaic Down's syndrome with two Robertsonian translocations // *Rev. Invest. Clin.* — 1996. — 48. — P. 385–388.
8. Gross S.J., Tharapel A.T., Phillips O.P. et al. A jumping Robertsonian translocation: a molecular and cytogenetic study // *Hum. Genet.* — 1996. — 98. — P. 291–296.

9. Berend S.A., Page S.L., Atkinson W. et al. Obligate short-arm exchange in de novo Robertsonian translocation formation influence placement of crossovers in chromosome 21 nondisjunction // Amer. J. Hum. Genet. — 2003. — **72**. — P. 488–495.
10. Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Чернышов В.Н. Хромосомные синдромы и аномалии. Классификация и номенклатура. — Ростов-на-Дону : РГМУ, 1999. — 192 с.
11. Vorsanova S.G., Yurov Y.B., Beresheva A.K. et al. Alphoid DNA variations and non-disjunction in Down's syndrome: fluorescence in situ hybridization and cytogenetic studies // Balkan J. Med. Genet. — 2003. — № 3/4. — P. 81–86.
12. Iourov I.Y., Soloviev I.V., Vorsanova S.G. et al. An approach for rapid quantitative assessment of fluorescence in situ hybridization signals // Med. Genet. — 2004. — **1**. — P. 105.
13. Соловьев И.В., Юров Ю.Б., Ворсанова С.Г. и др. Исследования альфа-сателлитных ДНК в составе космидных библиотек, специфичных для хромосом 13, 21 и 22, с помощью флюоресцентной гибридизации in situ // Генетика. — 1998. — **11**. — P. 1470–1479.
14. Soloviev I.V., Yurov Y.B., Vorsanova S.G., Malet P. Microwave activation of fluorescence in situ hybridization: a novel method for rapid chromosome detection and analysis // Focus. — 1994. — **16**. — P. 115–116.
15. Yurov Y.B., Soloviev I.V., Vorsanova S.G. et al. High resolution fluorescence in situ hybridization using cyanine and fluorescein dyes: ultra-rapid chromosome detection by directly fluorescently labeled alphoid DNA probes // Hum. Genet. — 1996. — **97**. — P. 390–398.
16. Farag T.I., Krishna Murthy D.S., Al-Awadi S.A. et al. Robertsonian translocation t dic (14p;22p) with regular trisomy 21: a possible interchromosomal effect? // Ann. Genet. — 1987. — **30**. — P. 189–192.
17. Sudha T., Jayam S., Ramachandran R. The association of t(13q,14q) with Down's syndrome and its inheritance // Indian. J. Pediatr. — 1990. — **57**. — P. 249–252.
18. Hassold T., Sherman S. Down syndrome: genetic recombination and the origin of the extra chromosome 21 // Clin. Genet. — 2000. — **57**. — P. 95–100.

Поступила 13.07.04