

## Molekulārās kariotipēšanas pielietojšanas iespēju un efektivitātes novērtēšana pārtraukušās grūtniecības materiāla analizē

Ludmila Voložonoka<sup>1</sup>, Liene Korņejeva<sup>2</sup>, Anna Miskova<sup>3</sup>, Violeta Fodina<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Rīgas Stradiņa universitāte, Bioloģijas un mikrobioloģijas katedra, Latvija

<sup>2</sup> iVF Rīga, Ģenētikas laboratorija, Latvija

<sup>3</sup> Rīgas Stradiņa universitāte, Dzemdniecības un ginekoloģijas katedra, Latvija

**Ievads.** Galvenais grūtniecības pārtraukšanās iemesls ir augļa hromosomālās aberācijas, kuras klasiski diagnosticē citoģenētiski. Izmeklēšanas efektivitāti nosaka parauga kvalitāte, rezultātā analizē tikai ~ 40–70% materiāla. Alternatīva metode ir molekulārā kariotipēšana (*Chromosomal Microarray Analysis* – CMA), kas spēj pārvarēt citoģenētiskās analīzes trūkumus, jo izmeklēšanas substrāts ir DNS, kuru var izdalīt no bojāgājušiem audiem, parafīna blokiem un paraugiem bez horija, tādējādi palielinot pārtraukušās grūtniecības izmeklēto paraugu daļu.

**Darba mērķis, materiāls un metodes.** Mērķis bija novērtēt molekulārās kariotipēšanas metodes izmantošanas efektivitāti pārtraukušās grūtniecības materiāla analizē. No pārtraukušās grūtniecības primāriem paraugiem tika izdalīta DNS ar standarta metodi, divos gadījumos no PFFE blokiem. Hromosomu analīzei DNS tika fluorescenti iezīmēta, hibridizēta uz mikročipi, mikročipi tika mazgāti un skenēti, rezultātā tika iegūts kopiju skaita kariotips. Lai pārlicinātos, ka DNS izdalīšanas laikā nenotiek kontaminācija ar mātes DNS, trīs paraugiem tika veikts kontaminācijas tests ar STR marķieru analīzi.

**Rezultāti.** Kopumā tika analizēti 35 pārtraukušās grūtniecības paraugi, vidējais sievietes vecums –  $30,5 \pm 6,3$  gadi. Trīspadsmit paraugos no 35 (37%) tika atklāta hromosomālā patoloģija (vidējais sievietes vecums  $30,5 \pm 6,3$ ): trīs paraugi ar kariotipu 69,XXY, septiņas trisomijas pēc sekojošām autosomām: 2, 13, 15, 16, 19 (2 ×) un 22, divas monosomijas pēc X dzimumhromosomas un viena monosomija pēc autosomas 19. Septiņi paraugi uzrādīja normālu vīrieša kariotipu – 46,XY – un pārējie 15 – līdzsvarotu sievietes kariotipu, no kuriem trijiem tika veikts DNS kontaminācijas tests, kas vienā gadījumā uzrādīja zema līmeņa kontamināciju, taču parauga CMA profils uzrādīja vienmērīgu 13. hromosomas trisomiju, kas liecina par to, ka DNS, kas izdalīta no vizualizēta horija, var droši tikt izmantota tālākai analīzei, pārējie divi paraugi neuzrādīja kontaminācijas pazīmes.

**Secinājumi.** Molekulāro kariotipēšanu iespējams efektīvi lietot pārtraukušās grūtniecības materiāla hromosomu analīzei, palielinot diagnosticēto gadījumu daudzumu salīdzinājumā ar citoģenētiskas metodēm. Acīmredzamais diagnosticētā virtuāli normālā sievietes kariotipa pārsvars pār vīrieša daļēji ir saistāms ar nelielo izlases grupu un daļēji – ar metodes trūkumiem, t. i., nespēju vizualizēt poliploidijas, ja kariotipā nav Y hromosomas, un gadījumiem, ja materiālā neatrod trofoblastu. Latvijā līdz šim šāda veida analīze nebija pieejama, bet tās lietošanai neapšaubāmi ir būtiska klīniska nozīme pārtraukušās grūtniecības etioloģijas noteikšanā un turpmākā ārstēšanas plāna sastādīšanā. Ņemot vērā šīs metodes izmaksas, efektīvāk būtu izstrādāt rentablu secīgu stratēģiju pārtraukušās grūtniecības materiāla analīzei, lietojot CMA tikai gadījumos, kad citoģenētiskā analīze nav iespējama un veicot DNS kontaminācijas testu materiālam, kur nevizualizējas trofoblasts, kas ļautu detektēt arī 69,XXX un 92,XXXX poliploidijas.