

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ДЕТЕЙ С АУТИЗМОМ В СОЧЕТАНИИ С УМСТВЕННОЙ ОТСТАЛОСТЬЮ И ИХ МАТЕРЕЙ

^{1,2,3}Кравец В.С., ^{1,2,3}Ворсанова С.Г., ^{1,2,4}Юров И.Ю., ^{1,2,3}Демидова И.А., ^{1,2,3}Куриная О.С.,
¹Гордеева М.Л., ^{1,2,3}Юров Ю.Б.

¹Обособленное структурное подразделение ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова «Научно —исследовательский клинический институт педиатрии» Минздрава России, Москва, Россия (127412, Москва, ул. Талдомская, д. 2), e-mail:ivan.iourov@gmail;

²ФГБУ «Научный центр психического здоровья» РАМН, Москва, Россия (117152, Москва, Загородное шоссе, 2), e-mail:comsvorsanova@mail.ru;

³Московский городской психолого—педагогический университет, Москва, Россия (127051, Москва, ул. Сретенка, д. 29), e-mail:y_yurov@yahoo.com;

⁴Российская Медицинская Академия Последипломного Образования, Москва, Россия (123995, Москва, ул. Баррикадная, 2/1)

Аутизм представляет собой одно из наиболее распространённых психических заболеваний у детей, частота которого составляет от 1:80 до 1:150. Довольно часто (до 70%) аутизм сочетается с умственной отсталостью. В статье представлены результаты исследования детей с идиопатическим аутизмом и умственной отсталостью, а также их матерей, полученные современными цитогенетическими и молекулярно-цитогенетическими методами. С помощью цитогенетических методов, флуоресцентной гибридизации *insitu*(FISH) и сравнительной геномной гибридизации (CGH) было исследовано 204 ребёнка с идиопатическим аутизмом и умственной отсталостью, а также 96 матерей этих детей. В результате была показана роль вариаций генома, хромосомных нарушений и мозаицизма, а также полиморфизма гетерохроматиновых участков хромосом, в возникновении аутизма. На основе собственных данных и данных литературы, авторы обсуждают возможные гипотезы патогенетических механизмов и этиологии расстройств аутистического спектра.

Ключевые слова: аутизм, умственная отсталость, кариотип, сравнительная геномная гибридизация, флуоресцентная гибридизация *insitu*(FISH), гетерохроматиновые варианты.

CYTOGENETIC AND MOLECULAR-CYTOGENETIC STUDIES OF CHILDREN WITH AUTISM ASSOCIATED WITH MENTAL RETARDATION AND THEIR MOTHERS

^{1,2,3}Kravets V.S., ^{1,2,3}Vorsanova S.G., ^{1,2,4}Iourov I.Y., ^{1,2,3}Demidova I.A., ^{1,2,3}Kurinnaya O.S.,
¹Gordeeva M.L., ^{1,2,3}Yurov Y.B.

¹ Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, Separated Structural Unit “Clinical Research Institute of Pediatrics”, Ministry of Health of Russian Federation, Moscow, Russia (127412, Moscow, Taldomskaya str., 2), e-mail:ivan.iourov@gmail;

² Mental Health Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia (117152, Moscow, Zagorodnoe sh. 2), e-mail: com.svorsanova@mail.ru;

³ Moscow State University of Psychology and Education, Moscow, Russia (127051, Moscow, Sretenka str., 29), e-mail: y_yurov@yahoo.com;

⁴ Department of Medical Genetics, Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow, Russia (123995, Moscow, Barrikadnaya str., 2/1)

Autism is one of the most common psychiatric disorders in children, the incidence of which varies from 1:80 to 1:150. Commonly (in about 70%), autism is comorbid with mental retardation. Here, the results of studies of children with idiopathic autism and their mothers are summarized. Using cytogenetic techniques, fluorescence hybridization *in situ*(FISH) and comparative genomic hybridization (CGH) 204 children with idiopathic autism and mental retardation as well as their 96 mothers were studied. As a result, the role of chromosomal anomalies including mosaicism and polymorphism of heterochromatic chromosomal regions is shown. According to own and literary data, the authors provide hypotheses of pathogenetic mechanisms and etiology of autism spectrum disorders.

Keywords: autism, mental retardation, karyotyping, fluorescent hybridization *in situ* (FISH), comparative genome hybridization, chromosomal variants.

Аутистические расстройства занимают видное место в обширном спектре нарушений познавательной активности, что ведёт к регрессу и распаду личности, десоциализации, инвалидизации и снижению интеллекта. Частота аутизма значительно варьирует как в разных странах, так и по оценкам разных авторов; она составляет от 5 до 90 на 10 000 детского населения; приводятся данные о частоте 1:250 и даже 1:80 [2, 6]. Часто (до 70%) аутизм сопровождается умственной отсталостью [1, 2, 6, 13].

Современные цитогенетические и молекулярно-цитогенетические исследования, направленные на идентификацию хромосомных и геномных аномалий среди детей с аутизмом, позволяют выявлять те или иные численные и структурные аномалии хромосом, а также картировать гены психических болезней [2-5, 8]. Методы молекулярной цитогенетики (флюоресцентная гибридизация *insitu*- FISH и сравнительная геномная гибридизация – CGH в её различных вариациях) позволяют проводить анализ структуры и числа хромосом с высоким уровнем разрешения в различных типах клеток. Данные исследований свидетельствуют о том, что различные аномалии хромосом и нестабильность генома могут наблюдаться при многих психических заболеваниях, в том числе и при аутизме [1, 4, 5, 7, 12-13]. Некоторыми группами исследователей неоднократно выдвигалась гипотеза о наследуемости части случаев аутизма либо наследуемости предрасположенности к нему, особенно по материнской линии [1, 3]. Цель настоящей работы – провести комплексное цитогенетическое и молекулярно-цитогенетическое исследование детей с аутизмом в сочетании с умственной отсталостью и их матерей.

Материалы и методы

Для исследований использовались следующие методы: стандартное цитогенетическое исследование (кариотип) [1, 3, 12, 13], флюоресцентная гибридизация *insitu*(FISH)[3, 13], сравнительная геномная гибридизация (CGH) [3, 9, 10]. В работе исследовались группы детей с аутизмом и умственной отсталостью, а также группа их матери. Были обследованы 3 группы: **группа 1** — 204 ребёнка с идиопатическим аутизмом и умственной отсталостью, средний возраст 6,3 г; максимальный – 18 лет, минимальный – 1 год. Среди этих детей было 170 мальчиков и 34 девочки. Соотношение полов составило (М:Ж) 5:1; **группа 2** — Для изучения хромосомного мозаицизма у детей с аутизмом и умственной отсталостью исследования проводились в группе из 116 детей (все мальчики), средний возраст 6,5 лет, максимальный – 16 лет, минимальный – 2 года 7 месяцев; **группа 3** — 96 матерей детей с аутизмом и умственной отсталостью. Средний возраст в момент рождения ребёнка с аутизмом 27,4 года (от 17 до 45 лет).

Результаты и обсуждение

В результате всех проведённых исследований были получены следующие данные:

1) В группе 1 стандартным кариотипированием обнаружены 17 случаев патологии из 204, что составило 8,3% (рис.1) от общего числа пациентов. Кроме того, методами FISH и CGH выявлено 5 случаев патологии. Общая частота аномалий составила 11,3%. На рисунке 2 показан пример исследования методом HR CGH, проведённого у мальчика 6-ти лет с аутизмом и выраженной умственной отсталостью. У этого ребёнка обнаружена микродупликация хромосомы 22. Исследование гетерохроматиновых околоцентромерных районов в этой группе выявило хромосомные варианты у 110 пациентов из 204, что составило 53,9% (рис. 3).

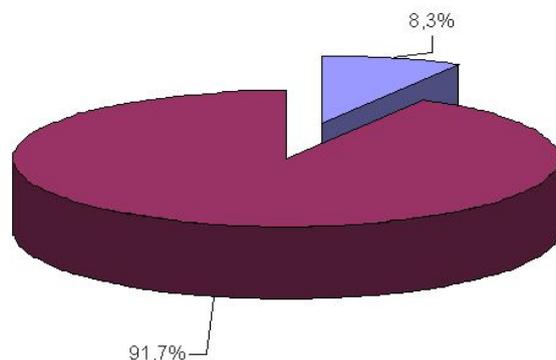


Рис. 1. Удельный вес хромосомной патологии, обнаруженной цитогенетическими методами, в группе детей с аутизмом (n=204)

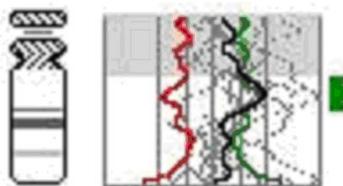


Рис. 2. Исследование методом HR CGH (микродупликация хромосомы 22), проведённое у мальчика 6-ти лет с аутизмом и выраженной умственной отсталостью

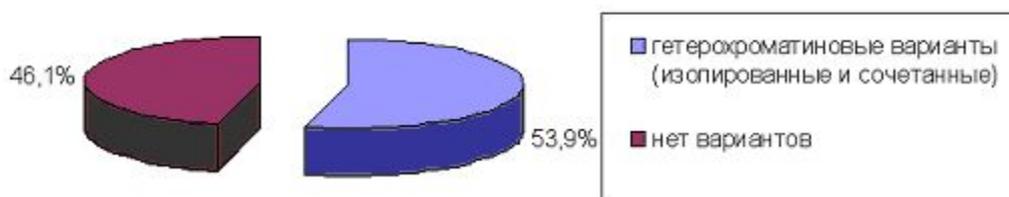


Рис. 3. Удельный вес вариантов хромосом в группе детей с аутизмом (группа 1)

2) при исследовании хромосомного мозаицизма в группе из 116 мальчиков (группа 2) с

нормальным кариотипом с помощью метода FISH (рис. 4.) мозаичная анеуплоидия выше фонового уровня [1, 13] обнаружена у 19 (16,4%) из 116 детей, причём мозаичный мозаицизм наблюдался не только по половым хромосомам (гоносомам), но и по некоторым аутосомам. На рисунке 4 представлен случай мозаицизма с кариотипом 47,XXY/46,XY у мальчика 6-ти лет идиопатическим аутизмом.

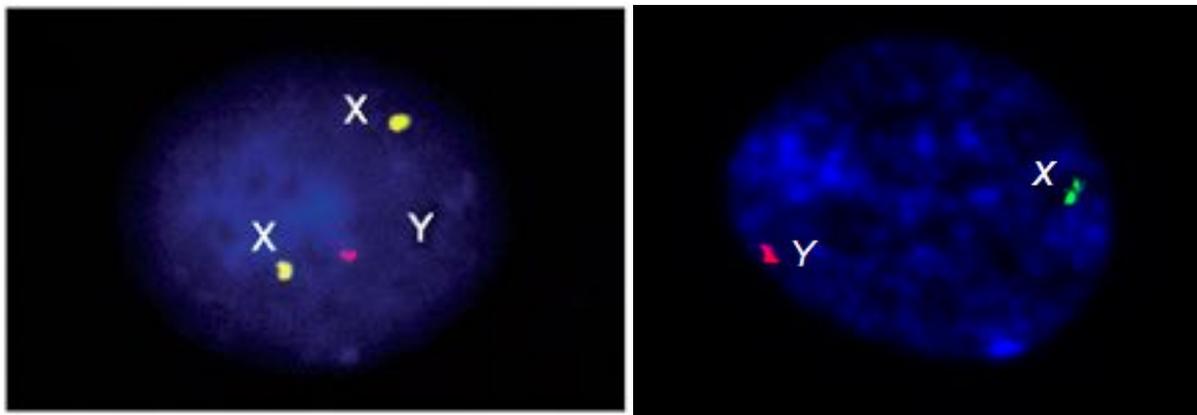


Рис.4. Флюоресцентная гибридизация *insitu* (FISH) с центромерными ДНК зондами на хромосомы X и Y у мальчика 6-ти лет с идиопатическим аутизмом (в одной интерфазной клетке видны две хромосомы X и одна Y, в другой – по одной хромосоме X и Y)

3) в группе матерей детей с аутизмом хромосомные аномалии обнаружены у 16 матерей (16,6% случаев), а гетерохроматиновые варианты в 64,6% случаев (рис.5).

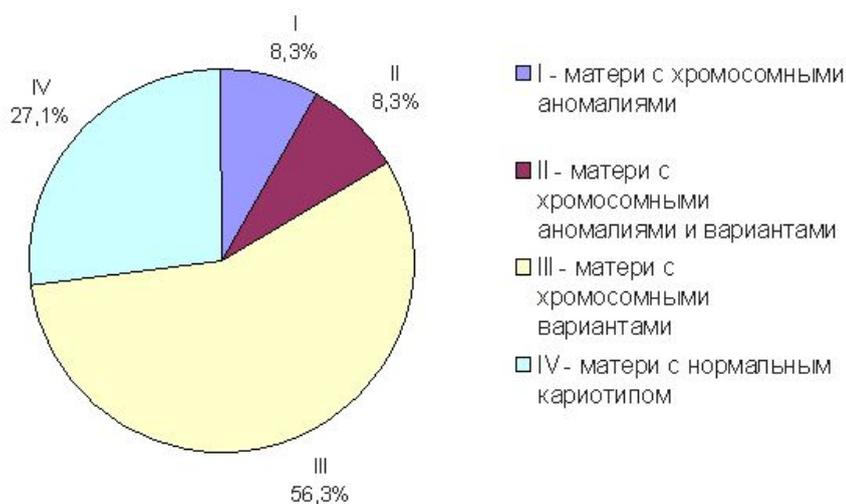


Рис. 5. Удельный вес хромосомных аномалий, вариантов и их сочетания у матерей детей с аутизмом

На основании полученных данных исследований 3-х групп можно сделать следующие заключения:

1) Частота хромосомных аномалий в когорте детей с аутизмом составила 11,3%. Частота хромосомных вариантов в виде гетероморфизма гетерохроматиновых участков хромосом в когорте детей, страдающих аутизмом, составляет 53,4% (группа 1).

2) Мозаичные формы хромосомной патологии в виде хромосомного мозаицизма в группе мальчиков с идиопатическим аутизмом, выявляемые при применении современных молекулярно-цитогенетических технологий (FISH), составляла 16,4% (группа 2).

3) В группе матерей детей с аутизмом обнаружена высокая частота хромосомных аномалий (16,6%) в виде мозаичных форм численных аномалий хромосомы X, в том числе в виде мозаичных форм синдрома Шерешевского-Тернера, трисомии хромосомы X, дополнительных маркерных хромосом – дериватов хромосомы X и хромосомная нестабильность, что указывает на высокую частоту генетической предрасположенности к заболеваниям в семьях с детьми с аутизмом;

Обнаружена высокая частота хромосомных вариантов у матерей детей с аутизмом, составляющая 64,6% (группа 3).

На основании полученных данных можно предложить гипотезу о связи вариаций гетерохроматиновых участков генома с аутистическими расстройствами. Вклад хромосомных аномалий, хромосомного мозаицизма (в виде мозаичной анеуплоидии) и вариантов хромосом в этиологию аутизма очевиден. Применение современных высокоинформативных молекулярно-цитогенетических методов необходимо для эффективного выявления хромосомных (геномных) аномалий в группе детей с аутизмом.

Таким образом, результаты исследования детей с аутистическими расстройствами и их матерей показывают, что всестороннее изучение такой сложной, многофакторной патологии, как расстройства аутистического спектра, с помощью современных цитогенетических и молекулярно-цитогенетических методов (FISH, CGH и др.) позволяет выявлять аномалии генома, в том числе и субмикроскопические, служащие причиной развития аутизма, а также в подобных исследованиях можно выявлять гены-кандидаты аутизма.

Исследование выполнено за счет гранта Российского Научного Фонда (проект №14-15-00411).

Список литературы

1. Ворсанова С.Г., Воинова В.Ю., Юров И.Ю., Куринная О.С., Демидова И.А., Юров Ю.Б. Цитогенетические, молекулярно-цитогенетические и клинико-генеалогические исследования матерей детей с аутизмом: поиск семейных генетических маркёров аутистических расстройств // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. — 2009. - №6. — С.54-64.
2. Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Сильванович А.П., Демидова И.А., Юров И.Ю. Современные представления о молекулярной генетике и геномике аутизма // Фундаментальные

Исследования. — 2013. - №4. — Часть 2. — С.356-367.

3. Ворсанова С.Г., Юров И.Ю., Соловьев И.В., Юров Ю.Б. Гетерохроматиновые районы хромосом человека: клинико-биологические аспекты. — М: Медпрактика, 2008. — 300 с.

4. Ворсанова С.Г., Юров И.Ю., Соловьев И.В., Юров Ю.Б. Молекулярная цитогенетика в диагностике хромосомных и генных болезней у детей // Российский вестник перинатологии и педиатрии — 2006.— том 51, №6.— С.23-29.

5. Юров Ю.Б., Ворсанова С.Г. Молекулярно-цитогенетические исследования хромосомных аномалий и нарушений при нервно-психических заболеваниях: поиск биологических маркёров для диагностики // Вестник РАМН. — 2001. - №7 — С.26-31.

6. Christian S.L., Brune C.W., Sudi J. et al. Novel submicroscopic chromosomal abnormalities detected in autism // Biol Psychiatry — 2008 —Т.63.- №.12 —P.1111-1117.

7. Chong W.W., Lo I.F., Lam S.T., Wang C.C., Luk H.M., Leung T.Y., Choy K.W. Performance of chromosomal microarray for patients with intellectual disabilities/developmental delay, autism, and multiple congenital anomalies in a Chinese cohort // Molecular Cytogenetics. — 2014 —Vol.7. —P.34.

8. Coutton C, Dieterich K, Satre V, Vieville G, Amblard F, David M, Cans C, Jouk PS, Devillard F. Array-CGH in children with mild intellectual disability: a population-based study // Eur J Pediatr. — 2014.

9. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Kurinnaia O.S., Zelenova M.A., Silvanovich A.P., Yurov Y.B. Molecular karyotyping by array CGH in a Russian cohort of children with intellectual disability, autism, epilepsy, and congenital anomalies // Molecular Cytogenetics. — 2012. —Vol.5.—P.46.

10. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Voinova V.Y., Kurinnaia O.S., Zelenova M.A., Demidova I.A., Yurov Y.B. Xq28 (*MECP2*) microdeletions are common in mutation-negative females with Rett syndrome and cause mild subtypes of the disease // Molecular Cytogenetics. — 2013. —Vol.6. —C.53.

11. Schoumans J, Ruivenkamp C, Holmberg E, Kyllerman M, Anderlid BM, Nordenskjöld M. Detection of chromosomal imbalances in children with idiopathic mental retardation by array based comparative genomic hybridisation (array-CGH) // Journal of Medical Genetics. — 2005.—Vol.42. —C.699-705.

12. Vorsanova S.G., Yurov I.Y., Demidova I.A., Voinova-Ulas V.Y., Kravets V.S., Solovev I.V., Gorbachevskaya N.L., Yurov Y.B. Variability in the heterochromatin regions of the chromosomes and chromosomal anomalies in children with autism: identification of genetic markers of autistic spectrum disorders. // Neuroscience and Behavioral Physiology. — 2007. —Vol.37. —C.553-558.

13. Yurov Y.B., Vorsanova S.G., Iourov IY., Demidova I.A., Beresheva A.K., Kravetz V.S.,

Monakhov V.V., Kolotii A.D., Voinova-Ulas V.Y., Gorbachevskaya N.L. Unexplained autism is frequently associated with low-level mosaic aneuploidy // Journal of Medical Genetics. — 2007. —Vol.44. —C.521-525.