

НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ХРОМОСОМЫ X У МАТЕРИ РЕБЕНКА С МОЗАИЧНОЙ СТРУКТУРНОЙ АНОМАЛИЕЙ АУТОСОМЫ

Юров Ю.Б.^{1,2,3}, Зеленова М.А.^{1,2}, Ворсанова С.Г.^{1,2,3}, Демидова И.А.^{1,2,3},
Колотий А.Д.^{1,2}, Воинова В.Ю.^{1,2,3}, Юров И.Ю.^{1,2,4}

¹ФГБУ «Научный центр психического здоровья» РАМН, Москва;

²Обособленное структурное подразделение ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии» Минздрава России;

³Московский городской психолого-педагогический университет, Москва, Россия;

⁴Российская Медицинская Академия Последипломного Образования, Москва, Россия, email:ivan.iourov@gmail.com

Хромосомная нестабильность представляет собой феномен, происходящий за счет неравномерного распределения ДНК по дочерним клеткам в ходе митоза, что приводит к анеупloidии и другим хромосомным аномалиям. Мозаицизм означает наличие двух или более популяций клеток с разными генотипами, появившихся из одной оплодотворенной яйцеклетки. Современные исследования соматического мозаицизма показали, что структурные мозаичные хромосомные нарушения могут обуславливать умственную отсталость, врожденные пороки развития и аутизм, так же как и низкопроцентная мозаичная анеупloidия. В настоящей работе мы представляем семейный случай хромосомной нестабильности и структурного хромосомного мозаицизма. Кариотипирование девочки 8 лет с микроцефалией, умственной отсталостью, аутизмом, большими верхними резцами, маленькой нижней челюстью, гипертрихозом и воронкообразной деформацией грудной клетки выявило мозаичную делецию в коротком плече хромосомы 8. Метод агау CGH позволил уточнить геномную локализацию, размер и генный состав делетированного участка. Кариотипирование матери пробанда тридцативосьмилетней женщины, планирующей новую беременность, выявило нестабильность хромосомы X в 20% клеток. FISH анализ 1000 интерфазных ядер и 150 метафазных пластинок позволил обнаружить хромосомную нестабильность по хромосоме X в 10,9% и 8% клеток соответственно. Полученные результаты позволяют сделать предположение о связи между двумя наблюдаемыми аномалиями генома. Мы предполагаем, что хромосомная нестабильность у родителей может являться причинным фактором структурных перестроек у детей. Последнее предположение, однако, нуждается в дальнейших исследованиях. Необходимо также учитывать, что механизм, лежащий в основе нестабильности хромосомы X у матери в данном случае, неизвестен и в случае выявления мог бы пролить свет на корреляцию между двумя наблюдаемыми нарушениями генома.

Ключевые слова: хромосомная нестабильность, структурный аутосомный мозаицизм, агау CGH, FISH, умственная отсталость

X CHROMOSOME INSTABILITY IN A MOTHER OF A CHILD WITH MOSAICISM FOR AUTOSOMAL STRUCTURAL ABNORMALITY

Yurov Y.B.^{1,2,3}, Zelenova M.A.^{1,2}, Vorsanova S.G.^{1,2,3}, Demidova I.A.^{1,2,3},
Kolotii A.D.^{1,2}, Voinova V.Y.^{1,2,3}, Iourov I.Y.^{1,2,4}

¹Mental Health Research Center, RAMS, Moscow, Russia;

²Research and Clinical Institute for Pediatrics at the Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;

³Moscow State University of Psychology and Education, Moscow, Russia

⁴Russian Medical Academy of Postgraduate Education, ivan.iourov@gmail.com

Chromosome instability occurs due to unequal distribution of DNA to daughter cells during mitosis, resulting in aneuploidy and other chromosome abnormalities. Mosaicism is the presence of two or more populations of cells (which have developed from a single zygote) with different genotypes. Recent reports on somatic mosaicism have demonstrated that mosaic structural chromosome abnormalities are as likely to underlie intellectual disability, congenital malformations and autism as low-level mosaic aneuploidy does. Here, we present a familial case of chromosome instability and mosaicism. Karyotyping of an 8 years old girl with microcephaly, mental retardation, autistic features, large upper incisors, small lower jaw, hypertrichosis and pectus excavatum revealed a mosaic deletion in chromosome 8. Array CGH allowed us to specify genomic localization, size and genes of the deleted region. Karyotyping of mother, a 38 year old woman planning another pregnancy showed the X chromosome

instability affecting 20% of cells. FISH on 1000 interphase nuclei and 150 metaphase spreads revealed 10.9% and 8% of chromosome instability, respectively. These results enable us to make a suggestion about a link between the abnormalities. We propose parental chromosome instability to be a causal factor of structural rearrangements in children. The latter assumption is, however, a matter of further research. We also have to consider that mechanism underlying maternal chromosome instability is not known, and if revealed, could shed light on a correlation between two observed abnormalities.

Keywords: chromosome instability, structural autosomal mosaicism, array CGH, FISH, intellectual disability

Одним из факторов, приводящих к анеуплоидии, является хромосомная нестабильность, возникающая по причине неравного распределения ДНК по дочерним клеткам в ходе митоза. Анеуплоидия представляет собой потерю или появление дополнительных хромосом. Хромосомная нестабильность может накапливаться с возрастом или быть маркером различных заболеваний [7, 11]. Данное нарушение может быть унаследовано за счет генетических или эпигенетических механизмов, или приобретено в онтогенезе и обусловлено внешними воздействиями (например, ионизирующей радиацией). Хромосомный мозаицизм – наличие двух или более популяций клеток с различными генотипами, развившихся из одной оплодотворенной яйцеклетки. Наличие мозаицизма может быть обусловлено различными факторами, в том числе нерасхождением хромосом, задержкой движения хромосом в анафазе или эндорепликацией [2]. Выделяют два типа мозаицизма: гонадный (нарушение наблюдается только в половых клетках) и соматический (мозаицизм в соматических клетках). Современные исследования соматического мозаицизма продемонстрировали, что как мозаичные структурные геномные перестройки (хромосомные аномалии), так и малоцентная мозаичная анеуплоидия являются частой генетической причиной умственной отсталости, врожденных аномалий и аутизма [1, 5]. В настоящей статье представлен семейный случай хромосомной нестабильности и мозаицизма.

Цель работы

Целью работы явилось исследование геномных вариаций у ребенка с умственной отсталостью и пороками развития, а также исследование матери пациента с помощью различных молекулярно-генетических методов.

Материалы и методы

В настоящей работе была исследована девочка 8 лет с умственной отсталостью, аутистическими чертами, микроцефалией, крупными верхними резцами, маленькой нижней челюстью, гипертрихозом и воронкообразной грудной клеткой. Для исследования пациентки применялись методы классического кариотипирования и агау CGH (молекулярного кариотипирования). Метод агау CGH проводился согласно ранее описанному протоколу [5, 8] с использованием SNP/олигонуклеотидной микроматрицы (разрешение не менее 1 тысячи

пн). Был также проведен FISH анализ [9] и кариотипирование матери пробанда, тридцативосьмилетней женщины без признаков нарушения психического развития, планирующей новую беременность.

Результаты исследования и обсуждения

Цитогенетический анализ девочки (рис. 1) показал наличие делеции короткого плеча хромосомы 8 в 60% клеток (46,XX,del(8)(p23.1)[10]/46,XX[7]).

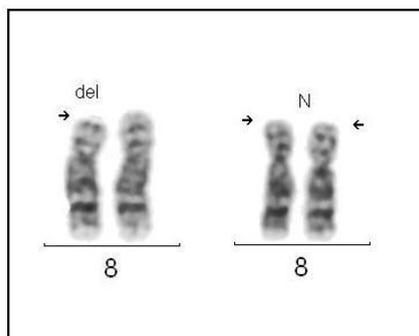


Рис. 1. Результаты цитогенетического исследования методом G-окрашивания (делеция 8p). SNP/олигонуклеотидная CGH подтвердила наличие мозаичной терминальной делеции 8p21.3p23.1, охватывающей 11,151,964 пн и затронувшей 178 генов, 46 из которых индексированы в базе данных наследственных/»менделирующих» заболеваний человека (Online Mendelian Inheritance in Man — OMIM), и также позволил уточнить ее геномную локализацию (158,048-11,310,012) (рис. 2).

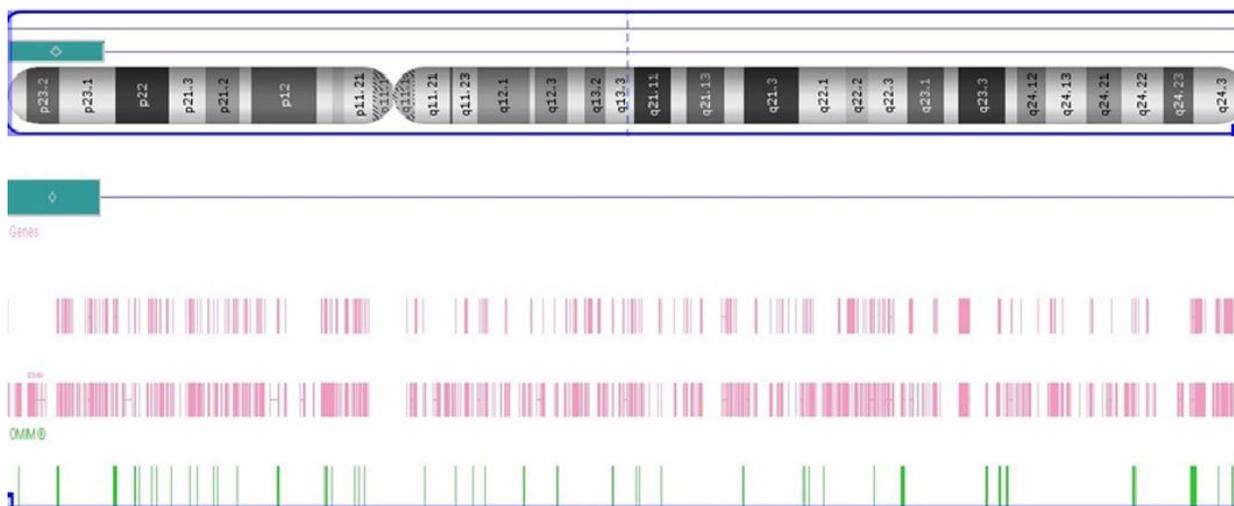


Рис. 2. Мозаичная терминальная делеция, обнаруженная с помощью молекулярного кариотипирования.

Соотношение сигналов пациента и донора при проведении SNP/олигонуклеотидной CGH позволило определить наличие данной делеции только в 48% клеток. Клинические

проявления у пациентки частично соответствуют регулярной делеции в хромосомном участке 8p23, при которой наблюдаются микроцефалия, умственная отсталость различной степени тяжести, пороки сердца и врожденная диафрагмальная грыжа [3, 4]. Несмотря на то что у девочки были похожие проявления (легкая степень умственной отсталости, микроцефалия и лицевые дисморфизмы), было также отмечено расстройство аутистического спектра, что нетипично для регулярной делеции в данном участке; также в регулярную делецию, как правило, вовлечен ген *GATA4*, играющий ключевую роль в развитии сердца, тогда как описываемая делеция его не затронула. Последнее объясняет отсутствие сердечной патологии у девочки. Примечательно, что у данной пациентки локусы, фланкирующие точки разрыва мозаичной делеции, делетированы во всех клетках. Эти локусы соответствовали кластеру генов обонятельного рецептора (*OR7E158P*, *OR7E161P*, *OR7E160P*) и кластеру генов бета-дефенсина (*DEFB137*, *DEFB136*, *DEFB134*). Данные литературы свидетельствуют о том, что рекомбинация кластеров различных семейств генов (включая кластеры генов обонятельного рецептора) участвует в процессах образования хромосомных перестроек [1, 2, 9]. Исходя из проанализированной литературы, мы предположили, что в данном случае неправильная рекомбинация в локусах вышеуказанных генных кластеров явились молекулярной причиной возникновения перестройки хромосомы 8. Следует отметить, что случай мозаичной делеции 8p, выявленный с помощью SNP/олигонуклеотидной CGH и вызванный рекомбинацией генов кластера обонятельных рецепторов, ранее не описывался. Было также проведено кариотипирование и FISH анализ его матери, тридцативосьмилетней женщины, без признаков нарушений развития. Стандартное кариотипирование показало нестабильность по хромосоме X в 20% клеток (кариотип: 45,X [3]/47,XXX[1]/46,XX[12]). FISH анализ 1000 интерфазных клеток позволил выявить 10,9 % аномальных клеток с одним, двумя, тремя, четырьмя и пятью сигналами на хромосому X (*Xcen(D1XZ1×1)*[66]/*Xcen(D1XZ1×3)*[38]/*Xcen(D1XZ1×4)*[4]/*Xcen(D1XZ1×5)*[1]/*Xcen(D1X1×2)*[891]). FISH анализ 150 метафазных пластинок обнаружил 8% аномальных клеток с одним, двумя, тремя, четырьмя и пятью сигналами соответствующими хромосоме X (45,X.ish.*Xcen(DXZ1×1)*[8]/47,XXX.ish.*Xcen(DXZ1×3)*[2]/48,XXXX.ish.*Xcen(DXZ1×4)*[1]/49,XXXX.ish.*Xcen(DXZ1×5)*[1]/46,XX.ish.*Xcen(DXZ1×2)*[138]).

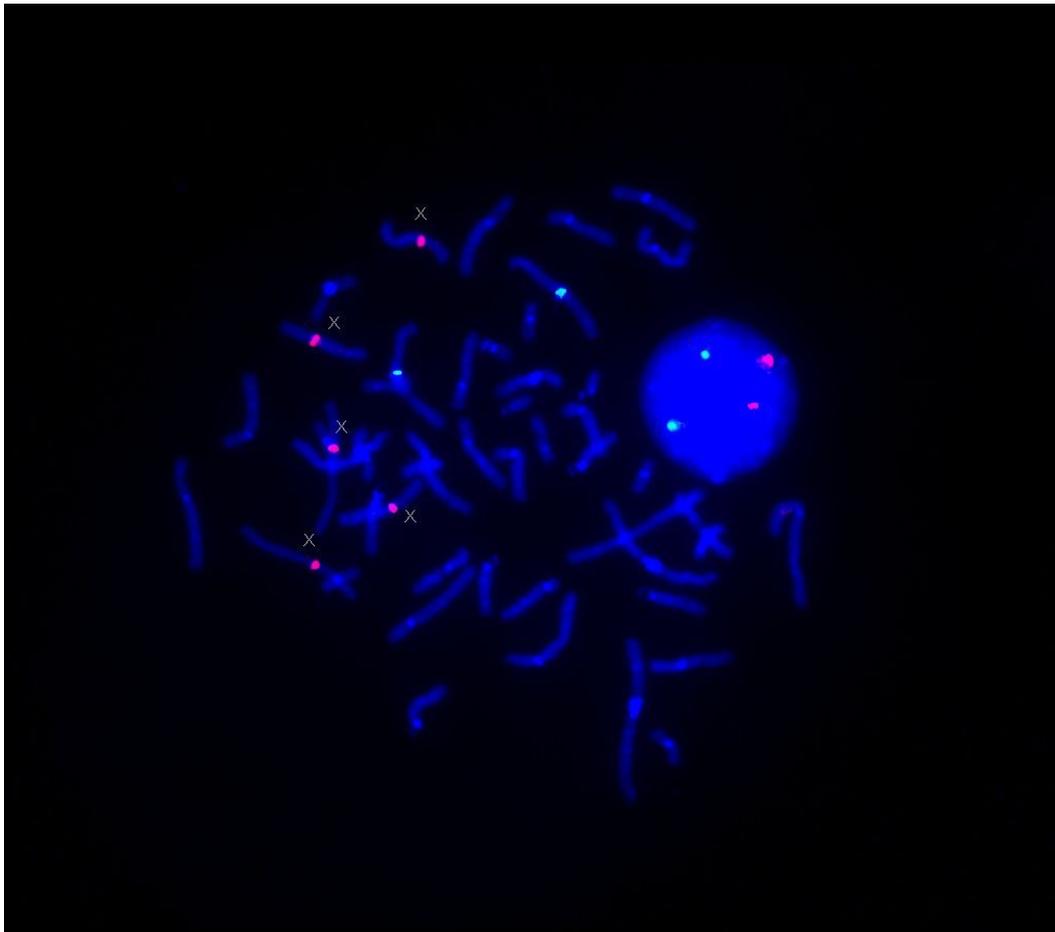


Рис. 3. FISH исследование матери пробанда. Метафазная пластинка. Красным цветом обозначены сигналы, маркирующие хромосому X, зеленым – контрольную хромосому 3.

Для того чтобы получить более полное представление о роли соматических структурных геномных вариаций при данном нарушении, мы проанализировали 202 пациента с умственной отсталостью, врожденными пороками развития и аутизмом с использованием SNP/олигонуклеотидного агау CGH (две платформы агау CGH с разрешением 1 и 15 тысяч пн). Малопрцентная мозаичная анеуплоидия, не имеющая ярко-выраженных фенотипических последствий, была обнаружена в 2 случаях (1%) и представляла собой дополнительную хромосому Y в примерно 5% клеток. Мозаичные структурные геномные перестройки, ассоциированные с фенотипическими проявлениями (согласно оригинальной биоинформатической технологии) были обнаружены в 14 случаях (6,9 %) [1].

Заключение

Исследование пациентки 8 лет с микроцефалией, умственной отсталостью, аутизмом и дисморфическими чертами с помощью классического кариотипирования и метода SNP агау CGH позволило обнаружить делецию в участке 8p23.3p23.1, а также уточнить ее размеры, геномную локализацию и геннонасыщенность. Кариотипирование и FISH анализ матери

пациентки позволили выявить нестабильность хромосомы X. Полученные результаты позволяют нам сделать предположение о связи между двумя наблюдаемыми аномалиями. Значения, полученные нами для нестабильности хромосомы X у матери ребенка, находятся на уровне значительно выше пороговых для данной возрастной группы, что позволяет исключить вероятность случайного сочетания двух наблюдаемых нарушений [6, 10]. Таким образом, мы предполагаем наличие связи между хромосомной нестабильностью у матери и структурными перестройками у ребенка. Безусловно, такое предположение нуждается в дополнительном подтверждении и дальнейших исследованиях подобных случаев. Необходимо также отметить тот факт, что механизм, лежащий в основе хромосомной нестабильности у матери в данном случае, неизвестен, а его выявление могло бы идентифицировать взаимосвязь между обнаруженными аномалиями.

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

Список литературы

1. Ворсанова С.Г., Юров И.Ю., Соловьев И.В., Юров Ю.Б. Гетерохроматиновые районы хромосом человека: клинико-биологические аспекты. – М.: Медпрактика, 2008.
2. Юров И.Ю., Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б. Геномные и хромосомные болезни центральной нервной системы: молекулярные и цитогенетические аспекты. – М.: Медпрактика, 2014.
3. Ballarati L., Cereda A., Caselli R., Selicorni A., Recalcati M.P., Maitz S., Finelli P., Larizza L., Giardino D. Genotype-phenotype correlations in a new case of 8p23.1 deletion and review of the literature // *Eur J Med Genet.* — 2011. - 54(1). – P. 55-59.
4. Burnside R.D., Pappas J. G., Sacharow S., Applegate C., Hamosh A., Gadi I.K., Jaswaney V., Keitges E., Phillips K.K., Potluri V.R., Risheg H., Smith J.L., Tepperberg J.H., Schwartz S., Papenhausen P. Three cases of isolated terminal deletion of chromosome 8p without heart defects presenting with a mild phenotype // *Am J Med Genet A.* – 2013. — 161A(4). — P. 822-828.
5. 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. - №5. — С. 46.
6. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Yurov Y.B. Chromosomal mosaicism goes global // *Molecular Cytogenetics.* — 2008. - №1. — С. 26.
7. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Yurov Y.B. Somatic Genome Variations in Health and Disease // *Current Genomics.* — 2010. - №11. — Т.6. — С. 387-396.

8. 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. - №6. — C. 53.
9. Vorsanova S.G., Iourov I.Y., Voinova-Ulas V.Y., Weise A., Monakhov V.V., Kolotii A.D., Soloviev I.V., Novikov P.V., Yurov Y.B., Liehr T. Partial monosomy 7q34—qter and 21pter—q22.13 due to cryptic unbalanced translocation t(7;21) but not monosomy of the whole chromosome 21: a case report plus review of the literature // *Molecular Cytogenetics*.— 2008. - №1. — C. 13.
10. Yurov Y.B., Vorsanova S.G., Iourov I.Y., 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.— T.44. - №8.— C. 521-525.
11. Yurov Y.B., Vorsanova S.G., Iourov I.Y. GIN'n'CIN hypothesis of brain aging: deciphering the role of somatic genetic instabilities and neural aneuploidy during ontogeny // *Molecular Cytogenetics*. – 2009. - №2. — C. 23.