

УДК 616.89

ПРИМЕНЕНИЕ СОВРЕМЕННЫХ МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ В СЛУЧАЕ СБАЛАНСИРОВАННОЙ ТРАНСЛОКАЦИИ (6;8) У ДЕВОЧКИ С ЗАДЕРЖКОЙ ПСИХОРЕЧЕВОГО И ФИЗИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ

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

¹Обособленное структурное подразделение - НИКИ педиатрии ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России

²ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва

³Московский городской психолого-педагогический университет, Москва, Россия

⁴Российская медицинская академия последипломного образования, Москва, Россия, e-mail: ivan.iourov@gmail.com

Транслокации между хромосомами занимают видное место среди всего спектра хромосомной патологии. Часть из них сбалансированы и могут не иметь клинических последствий, несбалансированные транслокации закономерно ведут к выраженным психоневрологическим и другим нарушениям. В данной работе представлен ребёнок с врождёнными пороками развития, выраженной задержкой и микроаномалиями развития. При стандартном цитогенетическом исследовании обнаружена сбалансированная транслокация между хромосомами 6 и 8. Исходя из клинических признаков, было рекомендовано проведение молекулярного кариотипирования. Известно, что с помощью данного метода возможно выявлять микроаномалии при цитогенетически обнаруженных сбалансированных структурных перестройках. В данном случае выявлены 2 интрагенные делеции генов *DGKG* (в длинном плече хромосомы 3) и *EPHA5* (в длинном плече хромосомы 4).

Ключевые слова: цитогенетическое исследование, транслокация, молекулярное кариотипирование, вариации числа копий последовательностей ДНК.

APPLICABILITY OF CONTEMPORARY MOLECULAR-CYTOGENETIC TECHNOLOGIES IN A CASE OF BALANCED TRANSLOCATION (6;8) IN A GIRL WITH PROFOUND MENTAL AND GROWTH RETARDATION

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

¹Scientific Research Clinical Institute of Pediatrics in Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia; ²Mental Health Research Centre, Moscow, Russia; ³Moscow State University of Psychology and Education, Moscow, Russia; ⁴Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow, Russia, e-mail: ivan.iourov@gmail.com

Chromosomal translocations are common among the whole spectrum of chromosomal aberrations. Some of them are balanced and lack pathological consequences, the other are not and produce a variety of phenotypic consequences. In this report, we describe a case of translocation (6;8), presumably balanced, in a girl with severe developmental retardation. This case was examined with standard karyotyping and molecular karyotyping. It is known that molecular karyotyping makes possible revealing unbalanced submicroscopic rearrangements, which are not detectable by standard cytogenetic methods. In this case we found 2 intragenic deletions in genes *DGKG* (long arm of chromosome 3) and *EPHA5* (long arm of chromosome 4).

Keywords: cytogenetic analysis, translocation, molecular karyotyping, copy number variations (CNV).

В последнее время в клинической цитогенетике всё более широкое применение получают молекулярно-цитогенетические технологии на базе сравнительной геномной гибридизации (CGH). Эти технологии позволяют обнаруживать субмикроскопические несбалансированные перестройки хромосом, не выявляемые стандартными методами

цитогенетики (кариотипированием), поскольку разрешающая способность сравнительной геномной гибридизации превышает таковые в десятки и сотни раз [1-3; 8; 9].

Хромосомные аномалии – наиболее частая причина задержки психоречевого развития, умственной отсталости, аутизма, а также врождённых пороков и микроаномалий развития. Среди разнообразных структурных перестроек хромосом видное место занимают транслокации между хромосомами. Такие структурные перестройки могут быть сбалансированными и не вызывать какие-либо клинические проявления, но довольно часто транслокации ведут к потере хромосомного материала либо к его увеличению (микроаномалиям), вызывая, таким образом, различные нарушения развития, связанные как с деятельностью нервной системы (умственная отсталость, задержка психоречевого развития, аутизм), так и с другими системами организма ребёнка [1; 2; 5].

Результаты исследования и обсуждение

В нашем исследовании представлена девочка, 1 года, со следующими клиническими признаками: грубая задержка физического и психомоторного развития, макроцефалия, врождённый порок сердца, микроаномалии развития (открытый родничок, узкие глазные щели, низко посаженные диспластичные ушные раковины, западающая переносица, выступающий лоб, короткая шея, небольшие кисти и стопы). Ребёнок был ранее кариотипирован по месту жительства: кариотип ребёнка – 46, XX. Несмотря на это, с учётом клинических признаков, было принято решение повторить цитогенетическое исследование, поскольку у ребёнка грубая задержка и микроаномалии развития были выражены очень резко и заставляли предположить наличие хромосомной аномалии. Культивирование лимфоцитов периферической крови, приготовление препаратов и окрашивание хромосом по длине, цитогенетический анализ проводились по стандартным протоколам [1; 2]. Кариотип ребёнка после стандартного цитогенетического исследования с использованием G- и C-методов дифференциального окрашивания хромосом представлен как 46,XX,t(6;8)(q22;q2?3.3),1qh-.

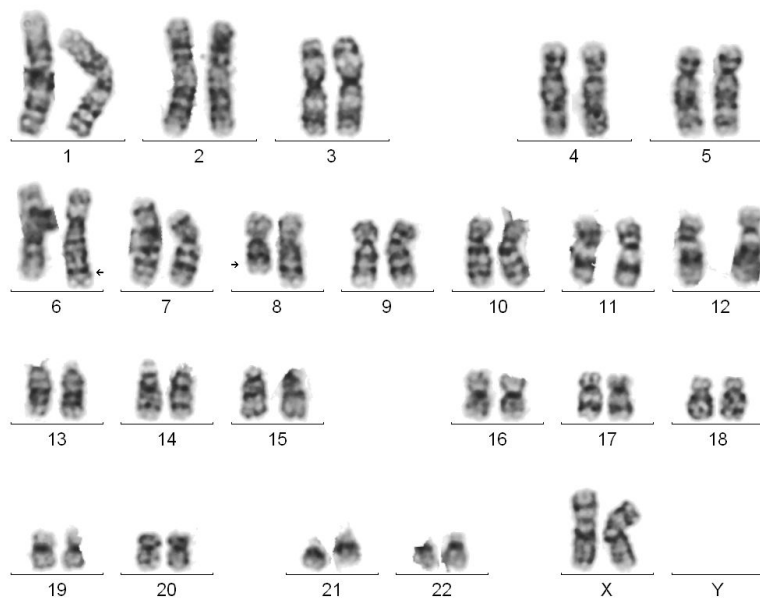


Рис. 1. Кариотип пациента после проведения GTG-окрашивания. Видна реципрокная транслокация между хромосомами 6 и 8. Кариотип - 46,XX,t(6;8)(q22;q2?3.3),1qh-

Для уточнения точек разрыва при транслокации было рекомендовано молекулярно-цитогенетическое исследование (молекулярное кариотипирование). Также было рекомендовано проведение цитогенетического исследования родителям ребёнка. Молекулярное кариотипирование данному пациенту проводилось по стандартным протоколам на микрочипах с использованием SNP/олигонуклетидной микроматрицы, содержащей примерно 2,7 миллиона проб и обладающей разрешением не менее 1000 пар нуклеотидов [6; 7]. В результате молекулярный кариотип ребёнка представлен как arr3q27.2(185,973,112-185,981,810)x1, 4q13.1(66,503,981-66,511,360)x1 (согласно ISCN 2013). Несбалансированные хромосомные и геномные перестройки (более 1 млн пн) у ребенка не выявлены. Были обнаружены интрагенные вариации числа копий последовательностей ДНК в виде делеций гена *DGKG* и гена *EPHA5*. Делеция последовательности ДНК гена *DGKG* [OMIM:601854], расположенного в участке 3q27.2 (геномная локализация: 185973112-185981810), составила 8698 пн (рис. 2) и затронула с пятнадцатого по семнадцатый экзоны. Повышенная экспрессия гена *DGKG* наблюдается в клетках мозжечка. Данная делеция ни разу не индексировалась в базах данных непатогенных геномных вариаций. Делеция последовательности ДНК гена *EPHA5* [OMIM:60004] расположена в участке 4q13.1 (геномная локализация: 66503981-66511360), её размер составил 7379 пн (рис. 3). Делеция затронула второй экзон гена *EPHA5*, который участвует в одной

геномной сети (геномная сеть аксонального наведения [KEGG ID: hsa04360 (axon guidance)]). Повышенная экспрессия данного гена наблюдается в клетках эмбрионального мозга.

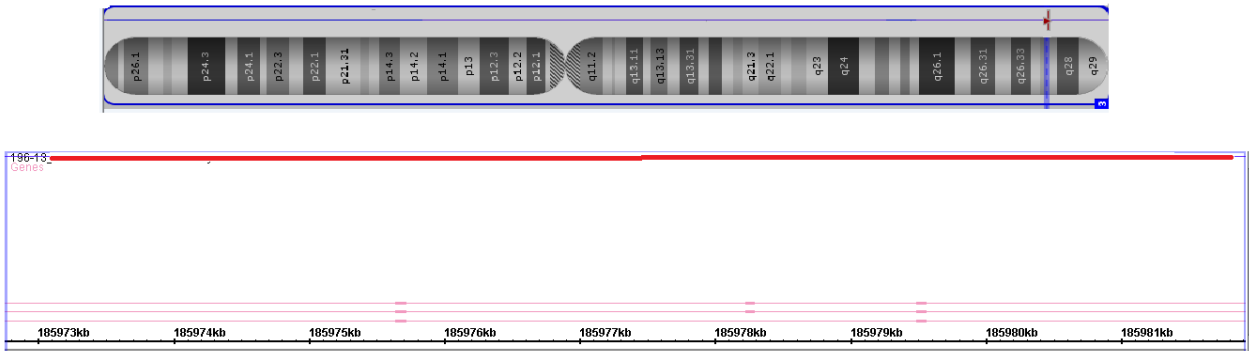


Рис. 2. Микроделеция хромосомы 3 в участке 3q27.2 размером 8698 пар нуклеотидов

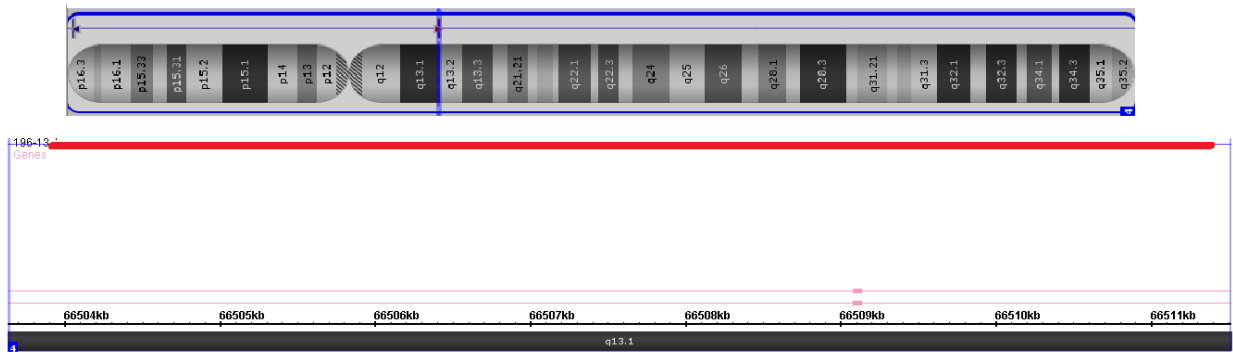


Рис. 3. Микроделеция хромосомы 4 в участке 4q13.1 размером 7379 пар нуклеотидов

Результаты молекулярного кариотипирования позволяют предположить, что обнаруженные инtragenные вариации числа копий последовательностей ДНК данных генов могут быть ответственны за клинические симптомы, обнаруженные у ребёнка [4-7]. Данное исследование не обнаружило микроделеции или микродупликации хромосом в точках разрыва при транслокации, что позволяет считать данную транслокацию сбалансированной. Возможно, точки разрыва при данной транслокации могут находиться в экзонах генов данных участков хромосом или же между ними, что может функционально соответствовать генным мутациям или изменять экспрессию генов в точках разрыва и тем самым вызывать патологические проявления в организме [1; 2; 5].

Заключение

Данный случай со всей очевидностью указывает на необходимость проведения детям с выраженной задержкой развития стандартного цитогенетического исследования с

дифференциальным окрашиванием хромосом по длине (применение метода G-окрашивания хромосом с разрешением не менее 500-600 полос на гаплоидный хромосомный набор и обязательным дополнительным использованием метода C-окрашивания) [1-3; 9]. Более того, при молекулярной диагностике геномной или хромосомной патологии необходимо использование высокотехнологических молекулярно-цитогенетических методов для обнаружения структурных перестроек (даже в случаях сбалансированных хромосомных аномалий) [4-9]. Подобные исследования позволят установить корреляцию «генотип-фенотип» и, возможно, выявить гены-кандидаты различных аномалий развития, а также проводить более эффективное медико-генетическое консультирование семей, в которых есть дети с умственной отсталостью и врождёнными пороками развития.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 14-15-00411).

Список литературы

1. Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Чернышов В.Н. Медицинская цитогенетика (учебное пособие). – М. : Медпрактика-М, 2006.
2. Ворсанова С.Г., Юров И.Ю., Соловьев И.В., Юров Ю.Б. Гетерохроматиновые районы хромосом человека: клинико-биологические аспекты. – М. : Медпрактика-М, 2008.
3. Юров И.Ю., Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б. Современные достижения в молекулярно-цитогенетической диагностике наследственных болезней // Клин. лаб. диагн. - 2005. - № 11. - С. 21-29.
4. Emy Dorfman L., Leite J.C., Giugliani R., Riegel M. Microarray-based comparative genomic hybridization analysis in neonates with congenital anomalies: detection of chromosomal imbalances // Jornal de Pediatria (Rio de Janeiro). — 2015. — Т. 91. — № 1. — С. 59-67.
5. D'Amours G., Langlois M., Mathonnet G., Fetni R., Nizard S., Srour M., Tihy F., Phillips M.S., Michaud J.L., Lemyre E. SNP arrays: comparing diagnostic yields for four platforms in children with developmental delay // BMC Medical Genomics. — 2014. — Т. 7. — С. 70.
6. 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. — Т. 5. – С. 46.

7. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Yurov Y.B. *In silico* molecular cytogenetics: a bioinformatic approach to prioritization of candidate genes and copy number variations for basic and clinical genome research // *Molecular Cytogenetics*. – 2014. - T. 7 - № 1. – C. 98.
8. Riegel M. Human molecular cytogenetics: From cells to nucleotides // *Genetics and Molecular Biology*. — 2014. — T. 37. — P. 194-209.
9. Vorsanova S.G., Yurov Y.B., Soloviev I.V., Iourov I.V. Molecular cytogenetic diagnosis and somatic genome variations // *Current Genomics*. – 2010. – T. 11. - № 6. – P. 440-446.