

УДК 61.575, 616.89, 616.159:159.9

## МОЗАИЧНАЯ ФОРМА ТРИСОМИИ ХРОМОСОМЫ 8: ВОЗМОЖНОСТИ МЕТОДА МОЛЕКУЛЯРНОГО КАРИОТИПИРОВАНИЯ

Васин К.С.<sup>1,2,3</sup>, Ворсанова С.Г.<sup>1,2,3</sup>, Коростелев С.А.<sup>4</sup>, Колотий А.Д.<sup>1,2</sup>, Демидова И.А.<sup>1,2,3</sup>, Гордеева М.Л.<sup>2</sup>, Юров И.Ю.<sup>1,2,5</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва;

<sup>2</sup>Обособленное структурное подразделение — НИКИ педиатрии ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России;

<sup>3</sup>Московский городской психолого—педагогический университет, Москва, Россия;

<sup>4</sup>Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва;

<sup>5</sup>Российская медицинская академия последипломного образования, Москва, Россия, e-mail: ivan.iourov@gmail.com

При трисомии хромосомы 8 преобладают мозаичные формы в отличие от многих аутосомных трисомий, где встречаются регулярные аномалии хромосом. В свою очередь не всегда удаётся зафиксировать мозаичную форму цитогенетическим методом, так как клетки с аномальным клоном имеют более низкую пролиферацию относительно клеток с нормальным набором хромосом. В данной работе представлен ребёнок с множественными пороками развития, микроаномалиями и задержкой нервно-психического развития. При использовании стандартного цитогенетического исследования не было выявлено нарушений кариотипа, но, исходя из клинических признаков, было назначено проведение молекулярного кариотипирования. Показано, что при помощи молекулярного кариотипирования (array CGH) можно выявлять низкопроцентный мозаицизм и определить долю аномальных клеток.

Ключевые слова: мозаицизм, трисомия, хромосома 8, молекулярное кариотипирование.

## MOSAIC TRISOMY OF CHROMOSOME 8: THE APPLICABILITY OF MOLECULAR KARYOTYPING

Vasin K.S.<sup>1,2,3</sup>, Vorsanova S.G.<sup>1,2,3</sup>, Korostelev S.A.<sup>4</sup>, Kolotii A.D.<sup>1,2</sup>, Demidova I.A.<sup>1,2,3</sup>, Gordeeva M.L.<sup>2</sup>, Iourov I.Y.<sup>1,2,5</sup>

<sup>1</sup>Mental Health Research Center, RAMS, Moscow, Russia;

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

<sup>3</sup>Moscow State University of Psychology and Education, Moscow, Russia I.M.;

<sup>4</sup>Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow;

<sup>5</sup>Russian Medical Academy of Postgraduate Education, ivan.iourov@gmail.com

Unlike other autosomal trisomies, trisomy of chromosome 8 is commonly found to be mosaic. It is to note, that cytogenetic methods are not always able to detect mosaicism because cells with abnormal chromosome complement have lower proliferation as to normal cells. Here, we present a case of multiple congenital abnormalities, facial dysmorphism and developmental delay, in which standard cytogenetic analysis did not reveal any abnormalities. However, molecular karyotyping using array CGH was performed according to clinical recommendations. The latter showed that molecular karyotyping is able to detect low-level mosaicism of chromosome 8 and to determine the proportion of abnormal cells.

Keywords: mosaicism, trisomy, chromosome 8, molecular karyotyping.

Мозаичная трисомия хромосомы 8, которая не вполне корректно обозначается как синдром Варкани, представляющий собой не столько непосредственно трисомию хромосомы 8, сколько частичную трисомию длинного плеча этой хромосомы из-за несбалансированных транслокаций [10], является относительно распространенной хромосомной аномалией. Тем не менее из-за исключительно вариабельных фенотипических и цитогенетических проявлений выявление данной хромосомной аномалии затруднено. По разным оценкам, частота синдрома составляет примерно 1: 25000 до 50000 новорожденных. Примерное

соотношение мужского и женского пола составляет 5:1, соответственно [4]. Первые случаи мозаичной трисомии хромосомы 8 были представлены в семидесятых годах прошлого века [4; 10]. В настоящее время трисомия хромосомы 8 достаточно хорошо изучена [1; 2; 8; 11].

При трисомии хромосомы 8 преобладают мозаичные формы в отличие от многих аутосомных трисомий, где встречаются регулярные формы заболевания. Регулярная трисомия хромосомы 8, вероятно, несовместима с жизнью плода. По некоторым данным, 0,8% спонтанных потерь беременности связаны с трисомией данной хромосомы [1; 2]. Точно установить минимальную долю аномальных клеток пока не представилось возможным, как и установить корреляцию между выраженностью фенотипических проявлений и соотношением трисомных и нормальных клеток в организме. Более того, клинических различий в регулярных и мозаичных формах заболевания, выявленных на культивированных клетках крови, не обнаружено, что позволяет объединить их в одну группу [4; 10; 11]. Дети рождаются доношенными с нормальной массой тела. При рождении и в дальнейшем они не отстают в росте. Наблюдается умеренная задержка умственного развития. Частый признак данной трисомии - поражение головного мозга, в основном в виде агенезии мозолистого тела. Данный порок также встречается и при других хромосомных нарушениях (трисомия 13 - синдром Патау, моносомии 13q и 18p), но при указанных синдромах он сочетается с другими летальными или сублетальными пороками головного мозга. Дети с пороками мозга при трисомии хромосомы 8 доживают в среднем до 12 лет, но встречаются случаи описания пациентов в возрасте и до 17 лет. Из других аномалий мозга при данном нарушении известна гидроцефалия. Определены специфические признаки для данного синдрома, к которым относятся выпуклый лоб, вывернутая нижняя губа, аплазия надколенника, контрактуры суставов, глубокие борозды между межпальцевыми подушечками, пороки мочевой системы. Наблюдаются также косоглазие, эпикант, высокое нёбо, микрогнатия, деформированные ушные раковины с аномальными мочками, короткая складчатая шея, камптодактилия, длинные пальцы, клинодактилия, сколиоз, аномальные тазобедренные суставы, косолапость, паховые грыжи, пороки сердца и желудочно-кишечного тракта [1; 2; 8].

Мозаичные перестройки не всегда попадают в поле зрения при цитогенетическом исследовании (кариотипировании) [2; 3; 6-8; 12; 13]. Это связано с тем, что аномальные клетки, как правило, имеют более низкую пролиферацию относительно клеток с нормальным набором хромосом. Если всё же есть предположение о мозаичной анеуплоидии, целесообразно использовать метод флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) на интерфазных ядрах. Благодаря данному методу можно установить уровень мозаичных клеток [3; 6; 8; 12-15]. В настоящее время существуют также и другие современные молекулярно-цитогенетические методы, например молекулярное кариотипирование (array CGH), которое

эффективно выявляет аномалии генома [4; 7-9; 14], но пока необоснованно редко используется в исследованиях мозаицизма [5-7; 14; 15].

### **Целью работы**

Исследование геномных аномалий у ребенка с пороками развития и «скрытым» низкопроцентным мозаицизмом с помощью современных молекулярно-генетических методов сканирования генома.

### **Материалы и методы**

В настоящей работе было проведено цитогенетическое и молекулярно-цитогенетическое исследование клеточного материала ребёнка семи лет с множественными пороками развития. Препараты метафазных хромосом получали из лимфоцитов периферической крови, культивируемых *in vitro* стандартным методом. Цитогенетический анализ проводили на хромосомных препаратах с использованием светового микроскопа при увеличении  $\times 1125$ . Хромосомы идентифицировали при помощи дифференциального окрашивания хромосом по длине (G- и C-методы), которые осуществлялись по общепринятым протоколам [1-3; 12]. Молекулярное цитогенетическое исследование проводилось методом серийной сравнительной геномной гибридизации (array CGH) согласно ранее описанному протоколу с использованием SNP/олигонуклеотидной микроматрицы, разрешение не менее 1 тысячи пн (Affymetrix) [5; 7; 9].

### **Результаты исследования и обсуждение**

Представляемый ребёнок семи лет, который родился от 6 беременности, протекавшей на фоне токсикоза с угрозой прерывания. Преждевременные роды были на 35 неделе. Масса тела при рождении составила 2800 г, рост 49 см, оценка по шкале Апгар 7/7. До года ребёнок развивался с задержкой моторного развития (ходить начала с 1 г 6 месяцев), до 2 лет присутствовала выраженная мышечная гипотония, до 3 лет наблюдалась задержка речевого развития. В первые годы жизни ребёнок получал медикаментозную терапию вследствие железодефицитной анемии. Были случаи потери сознания с последующим тоническим напряжением мышц с ознобообразным дрожанием. В дальнейшем поставлен диагноз криптогенная генерализованная эпилепсия (фибрильно провоцируемые приступы). С 2 лет появилось редкое мочеиспускание большими объёмами. При исследовании урологом было сделано заключение о склерозе шейки мочевого пузыря и нейрогенной дисфункции мочевого пузыря. Через некоторое время после рождения ребёнок был оперирован по поводу коарктации аорты и открытого артериального протока. В возрасте семи лет наблюдались следующие микроаномалии развития: короткая шея, пухлые губы, приоткрытый рот, широкий нос, узкий таз. Ребёнок был принят в общеобразовательную школу, но оставлен на

второй год из-за низкой успеваемости. Сейчас находится на домашнем индивидуальном обучении.

В результате проведенного цитогенетического анализа был обнаружен кариотип: 46,XY,9qh. Исходя из клинических признаков и отсутствия аномального кариотипа, было проведено молекулярное кариотипирование. При молекулярно-цитогенетическом исследовании SNP/олигонуклеотидная CGH была выявлена мозаичная форма трисомии хромосомы 8 (рис. 1).



Рис. 1. Схематическое изображение мозаичной трисомии хромосомы 8, обнаруженной с помощью молекулярного кариотипирования.

Учитывая соотношение интенсивности сигналов, можно сделать вывод о том, что трисомия является мозаичной (число аномальных клеток не менее 20%). Следует сказать, что данная хромосома содержит 1484 гена из них в OMIM индексируется 481 ген. Около 8% генов участвуют в развитии и функционировании головного мозга, среди них ген *CA8*, ассоциированный с умственной отсталостью и церебральной атаксией, ген *TMEM67* (синдром Жубер), *DDHD2* (спастическая параплегия), *RNF170* (аутосомно-доминантная атаксия), *POMK* (мышечная дистрофия), *TAF2* (аутосомно-рецессивная умственная отсталость), *RECQL4* (хромосомная нестабильность и ряд наследственных заболеваний).

Исходя из клиники пациента: ЗППР; склероз шейки мочевого пузыря, нейрогенная дисфункция мочевого пузыря; коарктация аорты и открытый артериальный проток; мышечная гипотония; аномальные тазобедренные суставы; шаркающая походка; короткая шея; широкая спинка носа - можно говорить, что данные клинические проявления схожи с клиникой описанных случаев мозаичной трисомии хромосомы 8. В то же время ряд характерных клинических признаков, таких как поражение головного мозга, аномальные тазобедренные суставы, аплазия надколенников, глубокие борозды между межпальцевыми подушечками, контрактуры различных суставов отсутствовали, что может быть связано с процентным соотношением мозаичных клонов (трисомных и нормальных), которые выявляются в клетках периферической крови. Однако трисомию 8 в других тканях не исследовали. Учитывая этот факт, а также результаты предыдущих молекулярно-

цитогенетических исследований [1-3; 6-9; 12-15], следует рекомендовать дополнительные исследования методом FISH на некультивированных клетках других тканей (например, клетках буккального эпителия или фибробластов кожи) для оценки процентного соотношения нормальных и аномальных клонов клеток с целью более детальных корреляций «генотип-фенотип».

### **Заключение**

В заключение необходимо отметить, что в последние годы появляется все больше работ, указывающих на связь низкопроцентного хромосомного мозаицизма с клиническими проявлениями [2; 6-8; 14; 15]. Обнаружение даже незначительной доли клеток с хромосомной аномалией может объяснить причину заболевания, тогда как наличие у больного преобладающей доли нормальных клеток предполагает более благоприятный прогноз течения болезни и менее явное проявление фенотипических признаков [1; 2; 12]. При неявной клинической картине у пациента не всегда удаётся ассоциировать данную патологию с определённым хромосомным нарушением, а при кариотипировании трудно выявить мозаичную форму такой трисомии, как трисомия хромосомы 8, из-за того что клетки с подобными нарушениями в некоторых случаях имеют более низкую пролиферацию по сравнению с нормальными. В последнее время появились такие методы, как молекулярное кариотипирование [2; 3; 7; 9; 15], применение которых считалось неэффективным для выявления низкопроцентного мозаицизма. В литературе представлены случаи, в которых мозаицизм и мозаичные перестройки (до 20% клеток) выявлялись методом молекулярного кариотипирования [5; 7-9]. Настоящий случай подтверждает подобные выводы относительно возможности данного метода.

*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: клинко-биологические аспекты. – М. : Медпрактика, 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. Fineman R.M., Ablow R.C., Howard R.O et al. Trisomy 8 mosaicism syndrome // *Pediatrics*. - 1975. - 56. – P. 762-767.
5. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Kurinnaia O.S. et al. Molecular karyotyping by array CGH in a Russian cohort of children with intellectual disability, autism, epilepsy and congenital anomalies // *Molecular Cytogenetics*. – 2012. – № 5. – C. 46.
6. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Yurov Y.B. Chromosomal mosaicism goes global // *Molecular Cytogenetics*. – 2008. – № 1. – C. 26.
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. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Yurov Y.B. Somatic genome variations in health and disease // *Current Genomics*. – 2010. – № 11. – T. 6. – C. 387-396.
9. 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.
10. Riccardi V.M. Trisomy 8: an international study of 70 patients // *Birth defects original article series*. – 1976. – T. 13. – № 3C. – C. 171–184.
11. Southgate W.M., Wagner C.L., Shields S.M. et al. Mosaic trisomy 8: a cautionary note regarding missed antenatal diagnosis // *Journal of Perinatology*. – 1998. – 18 (1). - P. 78–80.
12. Vorsanova S.G., Iourov I.Y., Beresheva A.K., Demidova I.A., Monakhov V.V., Kravets V.S., Bartseva O.B., Goyko E.A., Soloviev I.V., Yurov Y.B. Non-disjunction of chromosome 21, alphoid DNA variation and sociogenetic features of Down syndrome // *Tsitologiya i genetika*. - 2004. – T. 39. - № 6. – P. 30-36.
13. Vorsanova S.G. Iourov, I.Y., Demidova, I.A., Kirillova, E.A., Soloviev, I.V., Yurov Y.B. Chimerism and multiple numerical chromosome imbalances in a spontaneously aborted fetus // *Tsitologiya i genetika*. – 2005. – T. 40. – №. 5. – C. 28–30.
14. Vorsanova S.G., Yurov Y.B., Soloviev I.V., Iourov I.Y. Molecular cytogenetic diagnosis and somatic genome variations // *Current genomics*. – 2010. – T. 11. – №. 6. – C. 440.
15. Vorsanova S.G., Yurov Y.B., Iourov I.Y. Human interphase chromosomes: a review of available molecular cytogenetic technologies // *Mol. Cytogenet*. – 2010. – T. 3. – №. 1. – C. 1.