

И.Ю. Юров, С.Г. Ворсанова, С.А. Коростелев, М.А. Зеленова,
В.Ю. Воинова, О.С. Куринная, Ю.Б. Юров

ДИАГНОСТИКА ГЕНОМНОЙ ПАТОЛОГИИ В ГРУППЕ ДЕТЕЙ С УМСТВЕННОЙ ОТСТАЛОСТЬЮ И АУТИЗМОМ С ПОМОЩЬЮ SNP-ОЛИГОНУКЛЕОТИДНОГО МОЛЕКУ- ЛЯРНОГО КАРИОТИПИРОВАНИЯ

УДК 76.03.39

Для оценки диагностического потенциала SNP-олигонуклеотидного молекулярного кариотипирования (наиболее эффективного метода молекулярно-цитогенетической детекции геномных вариаций) проведено исследование генома 100 детей с умственной отсталостью и/или аутизмом. Были обнаружены 8 численных и структурных хромосомных аномалий (размер: более 5 млн. пн) и 20 субмикроскопических геномных перестроек (размер: 0,5-3 млн. пн). В девяти случаях были обнаружены генные мутации в виде экзонных делеций и дупликаций, связанных с фенотипическими проявлениями. В результате был сделан вывод о том, что эффективность использованной технологии составляет не менее 37%. Помимо этого, дальнейшие исследования с помощью оригинальной биоинформатической технологии позволили в 55 случаях определить патогенетические процессы, связанные с вышеуказанными изменениями психики. Таким образом, сочетание SNP-олигонуклеотидного молекулярного кариотипирования и биоинформатических методов обладает высокой эффективностью для выявления геномной патологии и определения молекулярных механизмов нарушения психики в группе детей с умственной отсталостью и аутизмом.

Ключевые слова: молекулярная цитогенетика, полногеномное сканирование, SNP-олигонуклеотидное молекулярное кариотипирование, умственная отсталость, аутизм.

To assess SNP-oligonucleotide molecular karyotyping (molecular cytogenetic method having the highest resolution for detection of such genomic variations) in diagnostic context, we have analyzed the genome of 100 children suffering from mental retardation and/or autism. Eight numerical and structural chromosome abnormalities (size: >5 Mb) and 20 submicroscopic genomic rearrangements (size: 0.5-3 Mb) were detected. Nine cases exhibited gene mutations manifesting as exonic deletions and duplications associated with the phenotype. As a result, it was concluded that this molecular cytogenetic technique has diagnostic yield no less than 37%. Additionally, further analysis by an original bioinformatics

technologies allowed uncovering pathogenic processes associated with the aforementioned mental disturbances in another 55 cases. Thus, combination of SNP-oligonucleotide molecular karyotyping and bioinformatics analysis has high efficiency for detection of genomic pathology and identification of molecular mechanisms for mental retardation and autism.

Keywords: molecular cytogenetics, whole genome scan, SNP-oligonucleotide molecular karyotyping, mental retardation, autism.

ЮРОВ Иван Юрьевич – д.б.н., зав. лаб. ФБГУ «Научный центр психического здоровья» РАМН, проф. Российской мед. академии последиплом. образования (г. Москва); ivan.iourov@gmail.com; **ВОРСАНОВА Светлана Григорьевна** – д.б.н., проф., зав. лаб. Обособленного структурного подразд. ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии» МЗ РФ; г.н.с. Научн. центра психичес. здоровья РАМН, в.н.с. научно-образовательного центра Московского городского психолого-педагогического ун-та; svorsanova@mail.ru; **КОРОСТЕЛЕВ Сергей Анатольевич** – д.м.н., проф. Ин-та проф. образования ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова МЗ РФ (г. Москва), korostelevs@sesana.ru; **ЗЕЛЕНОВА Мария Александровна** – н.с. Обособленного структурного подразд. Научно-исследоват. клинич. ин-та педиатрии; м.н.с. Научн. центра психичес. здоровья РАМН, maria_zelenova@yahoo.com; **ВОИНОВА Виктория Юрьевна** – д.м.н., в.н.с. Обособленного структурного подразд. Научно-исследоват. клинич. ин-та педиатрии, в.н.с. Научн. центра психичес. здоровья РАМН, vivoinova@yandex.ru; **КУРИННАЯ Оксана Сергеевна** – н.с. Обособленного структурного подразд. Научно-исследоват. клинич. ин-та педиатрии; н.с. научно-образовательного центра Московского городского психолого-педагогического ун-та, kurinnaiaos@mail.ru; **ЮРОВ Юрий Борисович** – д.б.н., проф., зав. лаб. Научн. центра психичес. здоровья РАМН, г.н.с. Обособленного структурного подразд. Научно-исследоват. клинич. ин-та педиатрии, y_yurov@yahoo.com.

Введение. Хромосомные аномалии и геномные перестройки являются наиболее частой формой генетической патологии, ассоциированной с умственной отсталостью и аутизмом. В последнее десятилетие наблюдается рост числа сообщений о вкладе субмикроскопических хромосомных перестроек и вариаций числа копий последовательности ДНК (copy number variations – CNV) в патогенез болезней мозга. Это, по-видимому, связано с активным внедрением методов сканирования генома посредством молекулярного кариотипирования, которое позволило оценить вариабельность генома с беспрецедентно высоким разрешением (1 тыс. пн и более) [1-4]. Суммирование полученных данных позволило выдвинуть рекомендации для выявления несбалансированных геномных перестроек, которые предлагают использовать такие методы полногеномного сканирования, как SNP-олигонуклеотидное молекулярное кариотипирование в качестве основного для генетической диагностики [8]. В группах детей с умственной от-

сталостью и/или аутизмом подобные формы вариаций генома выявляются в 10-50% случаев в зависимости от особенностей формирования когорты, а также использования дополнительных биоинформатических методов для оценки влияния геномных перестроек на фенотип [6, 8, 9]. Последнее является особо актуальным, поскольку CNV могут как нести функциональные последствия, так и быть непатогенными [5, 10].

Цель исследования: оценить диагностический потенциал технологии SNP-олигонуклеотидного молекулярного кариотипирования в сочетании с оригинальной биоинформатической технологией [2, 6, 7] для выявления геномной патологии в группе детей с умственной отсталостью и аутизмом.

Материал и методы исследования. Методом SNP-олигонуклеотидного молекулярного кариотипирования были исследованы несбалансированные геномные вариации у 100 детей с умственной отсталостью, аутизмом и/или врожденными пороками развития в соответствии с ранее описанным про-

токолом [2, 6]. Для проведения исследования использовалась платформа Affymetrix для SNP-олигонуклеотидного молекулярного кариотипирования, содержащая около 2,7 млн. проб и позволяющая полногеномное сканирование с разрешением более 1 тыс. пн. Помимо этого, все обнаруженные вариации генома анализировались с помощью оригинальной биоинформатической технологии для оценки их влияния на фенотип, описанной в предыдущих работах [6, 7].

Результаты и обсуждение. В каждом исследованном случае число несбалансированных изменений генома (CNV в виде делеций и дупликаций; размер от 1 тыс. до 1,5 млн. пн) варьировало от 150 до 480. Биоинформатический анализ позволил дифференцировать между патогенными и непатогенными делециями/дупликациями. Крупные хромосомные перестройки были выявлены в восьми случаях: делеции 1p32.1p31.1 (12,075 млн. пн), 6q11.1q14.1 (18,779 млн. пн), 7q32.3q35 (15,86 млн. пн), 8p23.3p23.1 (11,152 млн. пн); дупликация 8p23.1p11.22 (26,642 млн. пн) в сочетании с делецией 8p23.3p23.1 (6,782 млн. пн); наличие дополнительных перестроенных хромосом 17 и X, а также мозаичная трисомия хромосомы X. Были также выявлены субмикроскопические геномные перестройки, затронувшие следующие хромосомные участки: 1p36.33 (делеция), 1p36.23 (делеция), 2q23.3 (делеция), 2q24.2 (делеция), 5p13.3 (дупликация), 5p13.2 (дупликация), 5q14.3 (делеция), 5q15 (делеция), 6p11.2 (делеция), 9q21.13 (делеция), 11p14.3 (дупликация), 12p13.31 (дупликация), 15q11.2 (делеция), 15q13.1 (делеция), 16p11.2 (делеция), 17p13.3 (дупликация), Xp22.12 (делеция), Xq21.1 (дупликация), Yq11.223 (дупликация) и Yq11.23 (делеция/дупликация). Размер субмикроскопических перестроек составлял от 0,5 до 3 млн. пн. Примечательно, что в 4 случаях аутизма наблюдался соматический мозаицизм по структурным хромосомным перестройкам, что соответствует данным, ранее полученным в ходе изучения

соматических вариаций генома при аутистических расстройствах [11]. В девяти случаях были выявлены генные мутации: экзонные дупликации генов *KANSL1*, *EP300*, *PHEX*, *AFF2 (FMR2)*, *FMR1*, *RB1* и экзонные делеции генов *WT1*, *ATXN3*, *AKT3*. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что диагностическая эффективность сочетания SNP-олигонуклеотидного молекулярного кариотипирования и биоинформатических методов составляет не менее 37%.

В 55 случаях были обнаружены CNV, которые затрагивали гены, обладающие повышенной экспрессией в клетках эмбрионального и постнатального мозга, а также участвующие в геномных сетях (pathways) регуляции транскрипции, клеточного цикла, репарации и репликации ДНК, аксонального наведения и нейрогенеза. Таким образом, сочетание SNP-олигонуклеотидного молекулярного кариотипирования и биоинформатических методов также позволило определить молекулярные механизмы нарушения психики в группе детей с умственной отсталостью и аутизмом.

Заключение. Опыт применения SNP-олигонуклеотидного молекулярного кариотипирования с биоинформатическим анализом, описанный в настоящей работе, указывает на то, что данный подход к выявлению генетических причин умственной отсталости и аутизма имеет высокий диагностический потенциал. Результаты подобных исследований также предоставляют возможность дальнейшего изучения молекулярных процессов, приведших к нарушению психики, с целью экзогенного влияния на них для разработки тактики терапии. Открывая новые возможности для персонализированной (геномной) медицины, использованные технологии могут в значительной степени способствовать улучшению качества жизни пациентов с умственной отсталостью и аутизмом, вызванными различными формами геномной патологии.

Работа поддерживалась грантом Президента Российской Федерации (МД-4401.2013.7).

Литература

1. Гетерохроматиновые районы хромосом человека: медико-биологические аспекты / С.Г. Ворсанова, И.Ю. Юров, И.В. Соловьев, Ю.Б. Юров. – М., 2008. – 300 с.
2. Heterochromatic regions of human chromosomes: medical and biological aspects / S.G. Vorsanova, I.Y. Iourov, I.V. Soloviev, Y.B. Yurov. – М., 2008. – 300.
3. Юров И.Ю. Геномные и хромосомные болезни центральной нервной системы: молекулярные и цитогенетические аспекты / И.Ю. Юров, С.Г. Ворсанова, Ю.Б. Юров. – М., 2014. – 384 с.
4. Iourov I.Y. Genomic and chromosomal disorders of the central nervous system: molecular and cytogenetic aspects / I.Y. Iourov, S.G. Vorsanova, Y.B. Yurov. – М., 2014. – 384.
5. Beaudet A.L. The utility of chromosomal microarray analysis in developmental and behavioral pediatrics / A.L. Beaudet // Child Dev. – 2013. – Vol. 84, №1. – P. 121 - 132.
6. Ellison J.W. Genetic basis of intellectual disability / J.W. Ellison, J.A. Rosenfeld, L.G. Shaffer // Annu. Rev. Med. – 2013. – Vol. 64. – P. 441 - 450.
7. Iourov I.Y. Molecular cytogenetics and cytogenomics of brain diseases / I.Y. Iourov, S.G. Vorsanova, Y.B. Yurov // Curr. Genomics. – 2008. – Vol. 9, №7. – P. 452 - 465.
8. Molecular karyotyping by array CGH in a Russian cohort of children with intellectual disability, autism, epilepsy and congenital anomalies / I.Y. Iourov, S.G. Vorsanova, O.S. Kurinnaia [et al.] // Mol. Cytogenet. – 2013. – Vol. 6. – 38.
9. Increased chromosome instability dramatically disrupts neural genome integrity and mediates cerebellar degeneration in the ataxia-telangiectasia brain / I.Y. Iourov, S.G. Vorsanova, T. Liehr [et al.] // Hum. Mol. Genet. – 2009. – Vol. 18, №14. – P. 2656 - 2669.
10. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies / D.T. Miller, M.P. Adam, S. Aradhya [et al.] // Am. J. Hum. Genet. – 2010. – Vol. 86, №5. – P. 749 - 764.
11. The genetic landscape of autism spectrum disorders / R.O. Rosti, A.A. Sadek, K.K. Vaux, J.G. Gleeson // Dev. Med. Child. Neurol. – 2014. – Vol. 56, №1. – P. 12 - 18.
12. Array CGH in patients with developmental delay or intellectual disability: are there phenotypic clues to pathogenic copy number variants? / M. Shoukier, N. Klein, B. Auber [et al.] // Clin. Genet. – 2013. – Vol. 83, №1. – P. 53 - 65.
13. Unexplained autism is frequently associated with low-level mosaic aneuploidy / Y.B. Yurov, S.G. Vorsanova, I.Y. Iourov [et al.] // J. Med. Genet. – 2007. – Vol. 44, №8. – P. 521 - 525.