

УДК 76.03.39

С.Г. Ворсанова, И.Ю. Юров, И.А. Демидова, А.Д. Колотий, Т. Лиер, Ю.Б. Юров

МИКРОДЕЛЕЦИОННЫЙ СИНДРОМ 1P36: ПРОБЛЕМЫ ДИАГНОСТИКИ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ ИХ РЕШЕНИЯ

В настоящей работе представлен сравнительный анализ методов цитогенетической и молекулярно-цитогенетической диагностики микроделеционного синдрома 1p36 в группе детей с умственной отсталостью и врожденными пороками развития. Использование цитогенетических методов позволило обнаружить терминальные делеции участка 1p36 в 0,1% случаев (2 из 1874). Молекулярно-цитогенетический анализ с помощью классической сравнительной геномной гибридизации (CGH) выявил делеции 1p36 в 1,3% случаев (2 из 150). Использование высокоразрешающей CGH на биочипах (array CGH) показало наличие микроделеции в данном участке хромосомы 1 в 2,4% случаев (3 из 125). Обнаруженные хромосомные перестройки были подтверждены методом флуоресцентной гибридизации in situ. Метод array CGH позволил охарактеризовать потерю генетического материала при микроделециях с точностью до 1-10 тыс. пн. Полученные данные позволили сделать вывод о том, что молекулярная диагностика микроделеционного синдрома 1p36 требует использования таких инновационных молекулярно-цитогенетических технологий, как array CGH. Проведенное исследование также позволило впервые оценить частоту данного микроделеционного синдрома среди детей с умственной отсталостью и врожденными пороками развития в РФ, которая составляет примерно 2%.

Ключевые слова: делеция 1p36, микроделеции, молекулярная цитогенетика, полногеномное сканирование, сравнительная геномная гибридизация.

We present a comparative analysis of cytogenetic and molecular cytogenetic diagnostics methods for testing of 1p36 microdeletion syndrome in children with mental retardation and congenital malformations. Application of cytogenetic techniques allowed us to reveal terminal 1p36 deletions in 0,1% of cases (2 of 1874). Molecular cytogenetic analysis performed by conventional comparative genomic hybridization (CGH) uncovered 1p36 deletions in 1.3% cases (2 of 150). Using high-resolution microarray CGH (array CGH) we found microdeletions in 2,4 % (3 of 125) cases. Detected chromosomal rearrangements were confirmed by a fluorescent in situ hybridization. Array CGH allowed us to characterize the loss of genetic material in microdeletions with 1-10 kbp resolution. It was concluded that molecular diagnosis of 1p36 microdeletion syndrome requires the application of such innovative molecular cytogenetic technologies as array CGH. Our study enabled to estimate for the first time the frequency of 1p36 microdeletion syndrome among children with mental retardation and congenital malformations in the Russian Federation, which appeared to be about 2%.

Keywords: 1p36 deletion, microdeletions, molecular cytogenetics, whole genome scan, comparative genomic hybridization.

ВОРСАНОВА Светлана Григорьевна – д.б.н., проф., зав. лаб. Обособленного структурного подразделения ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии» МЗ РФ; г.н.с. ФБГУ «Научный центр психического здоровья» РАМН; в.н.с. научно-образовательного центра Московского городского психолого-педагогического ун-та, svorsanova@mail.ru; **ЮРОВ Иван Юрьевич** – д.б.н., зав. лаб. ФБГУ «Научный центр психического здоровья» РАМН, проф. Российской мед. академии последипломного образования, (г. Москва), ivan.iourov@gmail.com; **ДЕМИДОВА Ирина Александровна** – к.б.н., в.н.с. Обособленного структурного подразд. Научно-исследоват. клинич. ин-та педиатрии, в.н.с. Научного центра психического здоровья; с.н.с. научно-образовательного центра Московского городского психолого-педагогического ун-та, demidovaia@yandex.ru; **КОЛОТИЙ Алексей Дмитриевич** – к.б.н., с.н.с. Обособленного структурного подразд. Научно-исследоват. клинич. ин-та педиатрии, с.н.с. Научного центра психического здоровья; **ЛИЕР Томас** – доктор наук, PhD, зав. лаб. Института генетики человека при Ун-те Фридриха Шиллера (г. Йена, Германия), i8liith@mti.uni-jena.de; **ЮРОВ Юрий Борисович** – д.б.н., проф., зав. лаб. Научного центра психического здоровья, г.н.с. Обособленного структурного подразд. Научно-исследоват. клинич. ин-та педиатрии, y_urov@yahoo.com.

Введение. Микроделеционный синдром 1p36 характеризуется тяжелой умственной отсталостью, задержкой физического развития, микроцефалией, микроаномалиями развития (выступающий лоб, глубоко посаженные глазные щели, запавшее переносье, гипоплазия средней части лица, асимметричные ушные раковины и расщелины губы и неба) и врожденными пороками сердца. Данная форма хромосомной патологии рассматривается как одна из наиболее частых причин умственной отсталости и врожденных пороков развития, ассоциированных с микроделециями, частота её в общей популяции составляет 1:5000, а среди детей с умственной отсталостью – 0,5-0,7% [1-4, 6].

Несмотря на то, что микроделеционный синдром 1p36 представляет собой одно из самых частых генетических заболеваний, связанных с несбалансированными структурными геномными перестройками, его молекулярная диагностика затруднена. Это проблема связана, по-видимому, с ключевым клиническим полиморфизмом и вариабельностью размеров последовательностей ДНК, затронутых подобными хромосомными перестройками [5].

Целью настоящей работы явился сравнительный анализ эффективности методов диагностики микроделеционного синдрома 1p36, основанных на использовании как классических цитогенетических, так и инновационных молекулярно-цитогенетических методов выявления структурных хромосомных перестроек.

Материал и методы исследования. В настоящей работе с помощью классических цитогенетических методов G- и C-окрашивания были исследованы образцы лимфоцитов периферической крови 1874 детей с умственной отсталостью и врожденными пороками развития. В 150 случаях для диагностики хромосомной патологии использовалась классическая сравнительная геномная гибридизация (CGH) в соответствии с ранее описанным протоколом проведения данного молекулярно-цитогенетического анализа [7]. Помимо этого, 125 случаев умственной отсталости и врожденных пороков развития у детей были также исследованы с использованием высокоразрешающей CGH на биочипах (array CGH), которая представляет собой технологию полногеномного сканирования с разрешением от одной до нескольких тысяч пн [8]. Пациенты, у которых выявлялись

потери генетического материала в вышеуказанном участке хромосомы 1, были также исследованы с помощью флюоресцентной гибридизации *in situ* (FISH).

Результаты и обсуждение. Цитогенетический анализ позволил выявить терминальные делеции короткого плеча хромосомы 1 в 2 случаях из 1874 (0,1%). Несмотря на то, что оба случая были подтверждены методом FISH, размер делеций и гены, вовлеченные в хромосомные перестройки, не были определены. Метод классической CGH выявил делеции в участке 1p36 у двух детей с умственной отсталостью и тяжелыми врожденными пороками развития (1,3%) из 150. Делеции представляли собой потерю последовательностей ДНК в хромосомных участках 1p36.1p36.3 и 1p36.13p36.21. Размер делеций оценивался как 12+/-2 млн пн в первом случае и 7+/-1 млн пн – во втором. Тем не менее применение классической CGH не позволило определить генный дисбаланс, вызванный микроделециями в коротком плече хромосомы 1. Высокоразрешающее сканирование генома с использованием аггау CGH (разрешение 1 тыс. пн и более) выявило наличие делеций в участке 1p36 у трех (2,4%) из 125 детей. Размеры делеций составили 4,44, 7,09 и 8,15 млн пн. Используемая технология сканирования генома дала возможность охарактеризовать геномные перестройки с точностью до 1 тыс. пн, а также выявить гены, потеря гетерозиготности которых произошла за счет делеции.

Полученные данные свидетельствуют о том, что использование метода высокоразрешающей CGH на биочипах (аггау CGH) представляет собой наиболее эффективный способ детекции частых хромосомных перестроек в группе детей с умственной отсталостью и врожденными пороками развития. Несмотря на то, что ретроспективный клинико-генетический анализ показал наличие фенотипических проявлений микроделеционного синдрома 1p36,

до проведения молекулярной диагностики эти случаи не ассоциировались с соответствующим генетическим заболеванием. Важно также отметить, что цитогенетический анализ позволил выявить только терминальные делеции, размер которых составлял более 25 млн пн. Метод классической CGH позволил выявить делеции в участке 1p36, но не дал возможность точно охарактеризовать последовательности ДНК, потерянные из-за выявленной перестройки. Наиболее эффективным с точки зрения диагностики оказался метод аггау CGH. Это коррелирует с ранее полученными данными относительно микроделеционных синдромов, исследованных с применением полногеномного сканирования [1, 2, 6]. Помимо этого, полученные данные позволили сделать вывод о том, что частота микроделеционного синдрома 1p36 среди детей с умственной отсталостью и врожденными пороками развития в Российской Федерации составляет не менее 2%.

Заключение. Сравнительный анализ цитогенетических и молекулярно-цитогенетических методов сканирования генома показал, что для высокоразрешающей диагностики одного из наиболее частых синдромов, связанных с микроделециями, следует использовать метод высокоразрешающей CGH на биочипах (аггау CGH), поскольку он не только увеличивает эффективность молекулярной диагностики, но и позволяет определить последовательности ДНК, вовлеченные в перестройки, с точностью до генов. Учитывая современное развитие методов молекулярной терапии, полученная информация может послужить основой для разработки тактики научно-обоснованной терапии подобных заболеваний. Необходимо также отметить, что до настоящего времени изучение микроделеционного синдрома 1p36 в Российской Федерации фактически не проводилось. Это связано с тем, что методы высокоразрешающей молекулярно-цитогенетической диа-

гностики сравнительно недавно начали внедряться в медико-генетическую практику. Проведенное исследование позволило решить данную проблему и показало, что частота микроделеций 1p36 среди детей с умственной отсталостью и врожденными пороками развития в Российской Федерации составляет не менее 2%.

Работа поддерживалась грантом Президента Российской Федерации (МД-4401.2013.7) и грантом российско-германского научного сотрудничества BMBF/DLR BLR 11/002.

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 p.
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 p.
5. Battaglia A. Del 1p36 syndrome: a newly emerging clinical entity / A. Battaglia // Brain Dev. – 2005. – Vol. 27, №5. – P. 358 - 361.
6. GajECKa M. Monosomy 1p36 deletion syndrome / M. GajECKa, K.L. Mackay, L.G. Shaffer // Am. J. Med. Genet. C. Semin. Med. Genet. – 2007. – 145C, №4. – P. 346 - 356.
7. Recurrent interstitial 1p36 deletions: Evidence for germline mosaicism and complex rearrangement breakpoints / M. GajECKa, S.C. Saitta, A.J. Gentles [et al.] // Am. J. Med. Genet. A. – 2010. – Vol. 152A, №12. – P. 3074 - 3083.
8. 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.
9. First case of del(1)(p36.2p33) in a fetus delivered stillborn / I.Y. Iourov, S.G. Vorsanova, E.A. Kirillova, Y.B. Yurov // Prenat. Diagn. – 2006. – Vol. 26, №11. – P.1092 - 1093.
10. 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. – 2012. – Vol. 5. – 46.