

Микроделеция хромосомы у ребенка, родившегося от облученных родителей: применение молекулярно-цитогенетической диагностики

Л.С. Балева, Н.А. Бондаренко, И.А. Демидова, А.Д. Колотий, И.Ю. Юров, С.Г. Ворсанова

Московский НИИ педиатрии и детской хирургии; Научный центр психического развития РАМН; Московский государственный психолого-педагогический университет

Chromosome microdeletion in a baby born to irradiated parents: use of molecular cytogenetic diagnosis

L.S. Baleva, N.A. Bondarenko, I.A. Demidova, A.D. Kolotii, I.Yu. Yurov, S.G. Vorsanova

Moscow Research Institute of Pediatrics and Pediatric Surgery; Research Center of Mental Development, Russian Academy of Medical Sciences; Moscow State Psychological and Pedagogical University

Описан случай теломерной делеции длинного плеча хромосомы 10 у ребенка с задержкой психомоторного развития и микроаномалиями. Цитогенетическое и молекулярно-цитогенетическое исследования позволили выявить кариотип 46,XY,del(10)(q26). Обсуждаются трудности корректного медико-генетического консультирования семьи, проживающей на радиационно-загрязненной территории и имеющей нарушения репродуктивной функции. Проведен дифференциально-диагностический диагноз с другими заболеваниями, отличающимися подобной клинической симптоматикой. Подчеркивается необходимость описания таких случаев для обнаружения диагностических признаков с целью выявления корреляции делеций субтеломерных участков хромосом с определенной клинической картиной.

Ключевые слова: дети, задержка развития, микроаномалии, хромосомная аномалия, молекулярно-цитогенетическая диагностика, радиационное облучение.

The paper describes a case of telomeric deletion of the long arm of chromosome 10 in a baby with psychomotor development retardation and microanomalies. Cytogenetic and molecular cytogenetic studies could reveal the karyotype 46,XY,del(10)(q26). Problems in accurate medical genetic counseling of a family living in a radiation-polluted area and having reproductive dysfunction are discussed. The authors have made a differential diagnostic diagnosis with other diseases having the same clinical symptoms. It is emphasized that it is necessary to describe such cases for the identification of diagnostic signs in order to find a correlation of the deletions of subtelomeric parts of chromosomes with a definite clinical picture.

Key words: babies, development retardation, microanomalies, chromosome anomaly, molecular cytogenetic diagnosis, radiation.

Известно, что одним из этиологических факторов задержки психомоторного развития с множественными врожденными пороками и/или микроаномалиями развития у детей являются хромосомные аномалии, частота которых составляет 8–20% [1].

© Коллектив авторов, 2012

Ros Vestn Perinatol Pediat 2012; 1:66–69

Адрес для корреспонденции: Балева Лариса Степановна — д.м.н., проф., зав. отделом радиационной экотопологии детского возраста Детского научно-практического центра противорадиационной защиты Московского НИИ педиатрии и детской хирургии

Бондаренко Наталья Анатольевна — к.м.н., зам. гл. врача по организационно-методической работе того же института

Ворсанова Светлана Григорьевна — д.м.н., проф., зав. лабораторией молекулярной цитогенетики нервно-психических заболеваний того же института

Колотий Алексей Дмитриевич — к.б.н., ст.н.с. той же лаборатории

Демидова И.А. — к.б.н., в.н.с. той же лаборатории, ст.н.с. Московского государственного психолого-педагогического университета
125412 Москва, ул. Талдомская, д. 2

Юров Иван Юрьевич — к.б.н., в.н.с. той же лаборатории, вед. н. сотр. лаборатории молекулярной генетики мозга Научного центра психического здоровья РАМН

115522 Москва, Каширское шоссе, д. 34

В последние годы в результате разработки и внедрения в медицинскую цитогенетику комплекса новых молекулярных технологий, основанных на флюоресцентной гибридизации нуклеиновых кислот *in situ* (FISH) и специально подготовленных ДНК проб, появилась возможность исследовать сложные формы хромосомных аномалий, в том числе выявлять хромосомные микроделеции или транслокации в интерстициальных, субтеломерных и теломерных участках хромосом. Немногочисленные проведенные исследования свидетельствуют о том, что выявление субтеломерных и теломерных перестроек с помощью молекулярно-цитогенетических методов в комплексе с классической цитогенетической диагностикой может вносить значительный вклад в диагностику недифференцированных форм умственной отсталости у детей. Частота таких перестроек, по данным разных авторов, составляет от 0,5 до 7,4% [2–6]. Корреляция теломерных и субтеломерных аномалий хромосом с определенной клинической картиной может способствовать вычленению новых хромосомных синдромов из большой группы недифференцированных форм умственной от-

сталости, в том числе у детей из семей, проживающих на радиационно-загрязненной территории.

В настоящем исследовании представлена современная молекулярно-цитогенетическая диагностика субтеломерной делеции длинного плеча хромосомы 10 и ее клиническое описание у ребенка, родившегося от облученных родителей.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Пробанд — мальчик 9 лет, с задержкой психоречевого развития. Семья ребенка проживает в г. Железнодорожск Курской области, который относится не только к первой зоне радиационного контроля (уровень загрязнения почвы по ^{137}Cs — 5 Ки/км²), но и находится на территории Курской магнитной аномалии. На момент аварии на Чернобыльской АЭС матери мальчика было 20 лет, отцу — 18 лет. Профессиональных вредностей и вредных привычек родители не имеют, брак — неродственный. У старшего брата пробанда — болезнь Дауна, других случаев умственной отсталости, а также наследственных заболеваний не зарегистрировано.

У матери отмечен неблагоприятный акушерский анамнез. Первая и вторая беременности закончились спонтанными абортными в сроке 7–8 и 15–16 нед соответственно. Третья беременность закончилась прерыванием по медицинским показаниям, так как в сроке 18–19 нед при ультразвуковом исследовании были зарегистрированы пороки развития плода. Четвертая беременность закончилась родами мальчиком с болезнью Дауна, который умер в возрасте 2,5 лет от острого лимфобластного лейкоза. Женщина была обследована по поводу внутриутробных инфекций, у обоих родителей исключены урогенитальные инфекции.

Цитогенетическая диагностика проводилась на лимфоцитах периферической крови стандартным методом с применением дифференциального окрашивания хромосом по длине (G- и C-методы). Хромосомные препараты анализировали под световым микроскопом при увеличении 1125 [1]. Молекулярно-цитогенетическое исследование с использованием флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) и сайт-специфического PAC ДНК зонда (PAC 45.12. K) на теломерный участок длинного плеча хромосомы 10 из оригинальной коллекции [7] осуществляли по ранее описанным методам [8, 9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Пробанд родился от пятой беременности, которая протекала с вирусной инфекцией в первой половине и токсокозом. Во время беременности определялся уровень α -фетопротеина, при этом патологии не выявлено. Роды прошли в срок, отмечался длительный безводный промежуток, проводилась стимуляция родовой деятельности. Длина тела ребенка при рождении 45 см, масса тела — 2600 г. Мальчик закричал после

реанимационных мероприятий. Сосательный рефлекс отсутствовал. На 5-е сутки жизни ребенок был переведен в отделение патологии новорожденных с диагнозом: гипотрофия.

С рождения у мальчика отмечался сниженный аппетит, плохая прибавка массы, задержка темпов психомоторного развития. Голову начал держать с 4 мес жизни, сидеть с 8 мес жизни, ходить с 4 лет, говорить отдельные слова с 6 лет.

При первом поступлении в клинику радиационного риска в возрасте 1,5 лет у ребенка было отмечено состояние средней тяжести за счет задержки физического и психического развития. Он не говорил, не ходил, навыки самообслуживания не были сформированы. Отмечалось низкое, гармоничное физическое развитие — рост 68 см, масса 7,5 кг (ниже 3-го центиля).

У мальчика наблюдались следующие аномалии развития: микроцефалия, лицо треугольной формы, косоглазие, короткая шея, поперечная ладонная борода, клинодактилия мизинцев, пятно цвета «кофе с молоком» на левом бедре. Кроме того, были выявлены: левосторонний мегауретер, двусторонний крипторхизм, открытое овальное окно, врожденное сходящееся косоглазие, частичная атрофия дисков зрительных нервов, плосковальгусная деформация стоп.

Учитывая клинические проявления, дифференциальный диагноз проводили с заболеваниями, у которых минимальными диагностическими признаками служили внутриутробная задержка развития, умственная отсталость и микроцефалия [10].

Одним из основных диагностических признаков при синдроме Сильвера — Рассела является отставание в росте с рождения. У больных мозговая часть черепа непропорционально велика по отношению к лицевой, лицо имеет треугольную форму, рот маленький, губы узкие с опущенными уголками. На коже отмечаются округлые пятна цвета «кофе с молоком». Часто встречаются поражения мочеполовой системы, крипторхизм, искривление V пальца. Характерными признаками являются асимметрия скелета и нарушение полового развития, что не было отмечено у нашего пациента. В препубертатном периоде вне зависимости от пола в крови и моче больных повышен уровень гонадотропинов. Интеллект у детей обычно сохранен.

Резкое отставание в психомоторном развитии — один из основных признаков врожденного гипотиреоза. Однако эти дети отличаются от нашего пациента характерным фенотипом (короткая шея, широкий нос, узкие глазные щели, опухшие веки, полуоткрытый рот, макроглоссия, сухая кожа, редкие волосы). Наблюдают также увеличение щитовидной железы с рождения, отставание костного возраста, что не отмечено у пробанда.

Учитывая тот факт, что у сибса пробанда была болезнь Дауна, мы исключили и данное заболевание. Ди-

агноз болезни Дауна был отвергнут в связи с отсутствием таких характерных признаков, как плоское лицо, монголоидный разрез глазных щелей, мышечная гипотония. Хромосомный анализ не выявил трисомию по хромосоме 21.

Постоянным признаком фетального синдрома краснухи является задержка психомоторного развития, микроцефалия, косоглазие. Однако для указанного синдрома типичны нейросенсорная глухота и поражение органов зрения — катаракта, микрофтальмия, ретинопатия, глаукома, колобома. Подобные признаки отсутствовали у пробанда, и во время беременности мать не болела краснухой.

Для фетального алкогольного синдрома характерны пренатальная гипотрофия, умственная отсталость, микроцефалия. Но фенотип таких детей (эпикант, маленькие глазные щели, птоз, микрогензия и скелетные аномалии) отличается от нашего пробанда. По словам матери, она не употребляла алкоголь во время беременности.

Наличие в семейном анамнезе трех спонтанных аборт на разных сроках беременности и рождение ребенка с синдромом Дауна, а также клинические проявления у ребенка, соответствующие отдельным описаниям субтеломерных и теломерных делеций длинного плеча хромосомы 10, явились показанием для проведения цитогенетического исследования пробанда и его родителей. В результате цитогенетического исследования у пробанда можно было предположить делецию субтеломерного участка длинного плеча хромосомы 10 (10q26). Кариотип мальчика — 46, XY, ? del (10) (q26). Кариотипы родителей были нормальными: матери — 46, XX, отца — 46, XY.

В литературе встречаются отдельные описания субтеломерных и теломерных делеций хромосомы 10 у пациентов с определенными клиническими проявлениями, а именно, с умственной отсталостью, низкими ростом и массой, микроцефалией, треугольным лицом, гипертелоризмом, косоглазием, выступающей переносицей, низко расположенными ушными раковинами, микрогнатией, короткой шеей, крипторхизмом, ано/генитальными дефектами, аномалиями сердца и почек [6].

Результаты цитогенетического анализа явились показанием к проведению молекулярно-цитогенетического исследования с помощью FISH. Сигнал после гибридизации был отмечен лишь на длинном плече одной хромосомы 10, на гомологичной хромосоме его видно не было (см. рисунок). Кариотип ребенка после молекулярно-цитогенетического исследования: 46, XY, del (10) (q26). ish del (10) (q26.3q26.3) (PAC45.12. K-).

Таким образом, в результате обследования ребенка был поставлен диагноз: субтеломерная делеция длинного плеча хромосомы 10 со следующими клиническими проявлениями: задержка физического,

психоречевого развития, левосторонний мегауретер, двусторонний крипторхизм, открытое овальное окно, врожденное сходящееся косоглазие, частичная атрофия дисков зрительных нервов.

Учитывая неблагоприятный семейный анамнез (2 спонтанных аборта, прерывание беременности в связи с врожденными пороками у плода, рождение 2 детей с хромосомной патологией) и нормальный кариотип у родителей, возникает вопрос о дальнейшем поиске генетических причин таких негативных событий. Одной из причин может быть влияние экологических факторов — радиации или Курской магнитной аномалии на половые клетки родителей. Но, исходя из того, что мать находилась в зоне бедствия только во время беременности, а в возрасте процесса созревания своих половых клеток проживала в другом регионе, такого негативного влияния произойти не должно, тогда как вполне возможно воздействие радиации на половые клетки отца ребенка [11].

Другой причиной может быть скрытый мозаицизм, т.е. наличие клеток с нормальным и аномальным кариотипом в различных тканях, который трудно выявить при цитогенетическом и даже молекулярно-цитогенетическом исследовании лимфоцитов периферической крови. Поиск причин, способствующих негативным событиям в семье, представляется важным для корректного медико-генетического консультирования семьи и ближайших родственников.

Таким образом, подобный сложный диагноз можно установить только при использовании молекулярно-цитогенетической диагностики (FISH метода) с применением соответствующих хромосомоспецифичных ДНК проб. Установление цитогенетического диагноза способствует повышению уровня генетического консультирования, а также эффективной профилактике хромосомной патологии [1, 12, 13].

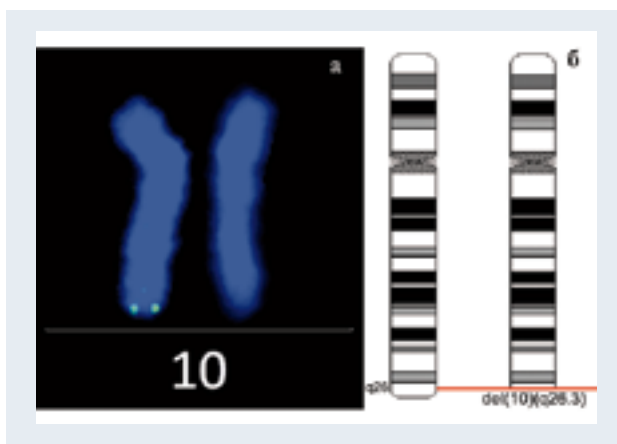


Рисунок. Результаты молекулярно-цитогенетической диагностики (FISH) субтеломерной делеции длинного плеча хромосомы 10.

а — видно отсутствие сигнала на одном из гомологов; б — схематическое изображение субтеломерной делеции длинного плеча хромосомы 10 [46, XY, del(10)(q26.3)].

ЛИТЕРАТУРА

1. Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Чернышев В.Н. Хромосомные синдромы и аномалии. Классификация и номенклатура. Ростов-на-Дону: РГМУ 1999; 192.
2. Ворсанова С.Г., Колотий А.Д., Соловьев И.В. и др. Микроаномалии теломерных участков хромосом и молекулярно-цитогенетическая диагностика недифференцированных форм умственной отсталости у детей. Сб.мат. науч.-практ. конф. Современные достижения генетических исследований: клинические аспекты. Ростов-на-Дону: РостГМУ, 2004; 109.
3. Rossi E., Piccini F., Zollino M. et al. Cryptic telomeric rearrangements in subjects with mental retardation associated with dysmorphism and congenital malformations. *J Med Genet* 2001; 38: 417—420.
4. Vorsanova S.G., Yurov Y.B., Kolotii A.D. et al. 16q subtelomeric deletion in proband with congenital malformations and mental retardation. *Цитол и ген* 2000; 34: 6: 72—74.
5. Vorsanova S.G., Yurov Yu.B., Kolotii A.D. et al. Study of telomeric microaberration in chromosomes of children with of undifferentiated forms of mental retardation. *Brain Development* 2002; 9: 558—559.
6. De Vries B.B.A., Winter R., Shinzel A., van Ravenswaaij-Arts C. Telomeres: a diagnosis at the end of the chromosomes. *J Med Genet* 2003; 40: 385—398.
7. Yurov Y.B., Vorsanova S.G., Soloviev I.V. et al. Original collection of DNA probes for preimplantational, fetal prenatal and postnatal diagnosis of chromosomal anomalies by FISH. Early prenatal diagnosis, fetal cells and DNA in the mother. In: Present state and perspectives. M. Macek, D. Bianchi, H Cucle (eds). Prague, Czech Republic: Charles University in Prague, the Karolinum press 2002; 275—283.
8. Юров Ю.Б. Оптимизация условий гибридизации клонированных последовательностей ДНК in situ и дифференциального окрашивания хромосом человека. *Бюл эксп-биол и мед* 1984; 5: 595—598.
9. Soloviev I.V., Yurov Y.B., Vorsanova S.G., Malet P. Microwave activation of fluorescence in situ hybridization a novel method for rapid chromosome detection and analysis. *Focus* 1994; 16: 4: 115—116.
10. Козлова С.И., Демикова Н.С., Семанова Е., Блиникова О.Е. Наследственные синдромы и медико-генетическое консультирование. М: Практика 1996; 410.
11. Балева Л.С., Сипягина А.Е., Терлецкая Р.Н. и др. Состояние здоровья детей-потомков первого и второго поколения облученных родителей. Принципы медицинского наблюдения и реабилитации. Пособие для врачей. М: Медицина для Вас 2004; 12.
12. Берешева А.К. Роль молекулярно-цитогенетической диагностики в генетическом консультировании супружеских пар с нарушением репродуктивной функции: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Харьков 1995; 17.
13. Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Соловьев И.В. и др. Современные достижения молекулярной цитогенетики в диагностике хромосомной патологии у детей. *Рос вестн перинатол и педиат* 1998; 1: 31—36.

Поступила 11.05.11