

КРАТКОЕ СООБЩЕНИЕ

Случай интерстициальной делеции короткого плеча хромосомы 4 у мальчика 13 лет с дефицитом веса и трудностями в обучении

Антоненко В.Г.¹, Маркова Т.В.², Маркова Ж.Г.¹, Мусатова Е.В.¹, Козлова Ю.О.¹, Шилова Н.В.¹

¹ – ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва, ул. Москворечье, д. 1, тел. 8-499-612-80-40

² – Московский областной консультативно-диагностический центр для детей, Москва, ул. Большая Серпуховская, д. 62

Представлен редкий случай интерстициальной делеции короткого плеча хромосомы 4(p15.1-p15.32), не включающей критический район синдрома Вольфа–Хиршхорна, размер и локализация которой были уточнены методом метафазной сравнительной геномной гибридизации (CGH). Обсуждаются особенности фенотипических проявлений данного синдрома.

Ключевые слова: интерстициальная делеция 4р, метафазная сравнительная геномная гибридизация

Введение

Современные методы молекулярно-цитогенетических исследований позволяют уточнять размер и локализацию хромосомных перестроек, выявленных при стандартном цитогенетическом анализе. Интерстициальная делеция короткого плеча хромосомы 4, включающая районы p15.1-p15.32 является редкой формой хромосомной патологии, для которой характерны умственная отсталость, множественные микроаномалии развития и лицевые аномалии, отличающиеся от аномалий при синдроме Вольфа–Хиршхорна.

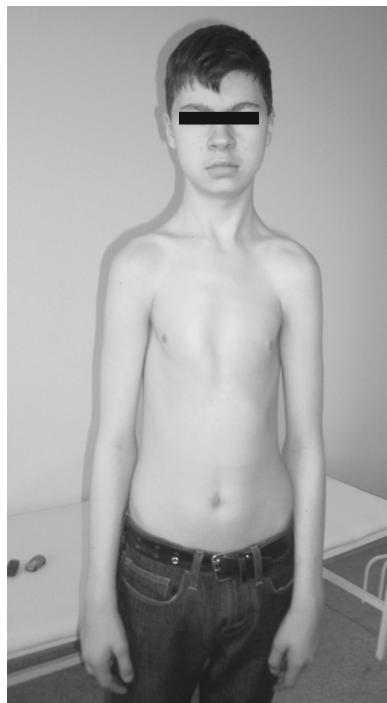


Рис. 1. Пробанд в возрасте 13 лет. Видны: астеническое телосложение, долихостеномелия, деформация грудной клетки и лицевые аномалии (крупные черты лица, синофриз, толстые губы).

Описание случая

Мальчик 13 лет был направлен на консультацию генетика эндокринологом для исключения синдрома Клейнфелтера. При осмотре: масса 46,5 кг (менее 6 центиляй), рост — 175 см (более 8 центиляй). Телосложение астеническое диспластичное (долихостеномелия), сколиоз, вялая осанка. Отмечены также следующие признаки: узкая деформированная грудная клетка, высокая талия, снижение мышечного тонуса, повышенная подвижность суставов и лицевые аномалии (большие диспластичные ушные раковины, крупные черты лица, синофриз, широкий нос, толстые губы) (рис. 1).

Из анамнеза: ребенок от 4-й беременности, протекавшей с гестозом, хронической внутриутробной гипоксией, угрозой прерывания. Родители здоровы, рост матери — 164 см, отца — 180 см. I беременность закончилась медицинским абортом, II — срочными родами, ребенок здоров, III — самопроизвольным выкидышем до 12 недель. Роды в срок, кесарево сечение по поводу ягодичного предлежания плода. Ребенок родился с массой 3300 г, длиной 54 см, оценка по шкале Apgar 7/8 баллов. До года наблюдался неврологом по поводу перинатальной энцефалопатии, спастического синдрома. Отмечена небольшая задержка психомоторного развития (ходит с 1 года 4 мес.), говорит с 2 лет, с 4 лет занимался с логопедом.

В возрасте 3 и 4 лет проводилась поэтапная хирургическая коррекция крипторхизма (абдоминальная форма). С 7 лет наблюдается ортопедом по поводу килевидной деформации грудной клетки, сколиоза I степени, укорочения левой нижней конечности (на 0,5 см), продольного плоскостопия. С этого же возраста наблюдался неврологом по поводу последствий органического поражения центральной нервной системы, пирамидной недостаточности, гиперактивного недержания мочи. Ребенок учился в общеобразовательной школе, закончил 6 классов. В 13 лет был направлен на консультацию к неврологу из-за трудностей в обучении. Был обследо-

ван и проконсультирован специалистами. Выявлено: высокий рост конституционального генеза, дефицит веса, последствия органического поражения центральной нервной системы, диффузная мышечная гипотония, гипермобильность суставов, корригированный двусторонний крипторхизм, атрофия яичек II ст. Со стороны сердца: функциональная кардиопатия, нарушение электрической активности правых отделов сердца, неполная блокада правой ножки пучка Гиса. Для исключения наследственной патологии ребенок был направлен на консультацию к генетику.

Методы и результаты исследования

Цитогенетическое исследование было проведено по стандартной методике и выявило интерстициальную делецию короткого плеча хромосомы 4, которая была расценена как *del(4)(p15.2p16)* (рис. 2).

Кариотипы родителей были нормальными.

Для уточнения размера и характера перестройки были использованы методы флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) и метафазной сравнительной геномной гибридизации (CGH). FISH была проведена по протоколам фирмы-производителя. Денатурация и гибридизация проводились с использованием гибридизационной системы «ThermoBrite» (StatSpin). Для контроκрашивания хромосом использовали флуоресцентный краситель DAPI. Анализировали препараты на эпифлуоресцентном микроскопе «AxioImagerM.1» (CarlZeiss) с соответствующим набором светофильтров, оснащенном компьютерной программой обработки цифровых изображений «Isis» (MetaSystems). Были применены субтеломерные зонды на хромосому 4: Sub-Telomere 4pter (D4S3360) (Kreatech) и Sub-Telomere 4qter (D4S2283) (Kreatech)4p, а также зонд соответствующий критическому локусу для синдрома Вольфа—Хиршхорна — MD Wolf—Hirschhorn WHSC1(4p16)/SE4 (Kreatech). Результаты: *ish subtel* (4px2,4qx2) (рис. 3) и *ish 4p13.3(WHSC1x2)* (рис. 4). Таким образом, исследование показало сохранность субтеломерных районов и локусов, ответственных за формирование синдрома Вольфа—Хиршхорна.

При исследовании методом CGH в качестве референсной ДНК использовали образец, полученный из периферической крови мужчины с нормальным кариотипом. Геномная ДНК была выделена путем химической экстракции фенол-хлороформом. Исследуемая ДНК (опытная) и референсная ДНК (контрольная) были мечены в реакции ник-трансляции с SpectrumGreendUTP и SpectrumReddUTP соответственно, с использованием NickTranslationReagentKit (AbbottMolecular). В качестве платформы для совместной гибридизации опытной и референсной ДНК был использован препарат с метафазными пластинками, приготовленный в соответствии со стандартным протоколом из культуры лимфоцитов периферической крови от мужчины с нормальным ка-

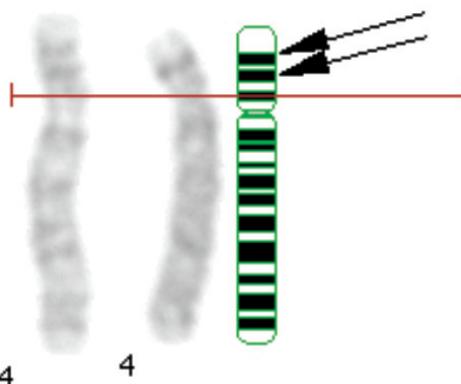


Рис. 2. Хромосомы 4 probанда, стрелками обозначены точки разрывов.

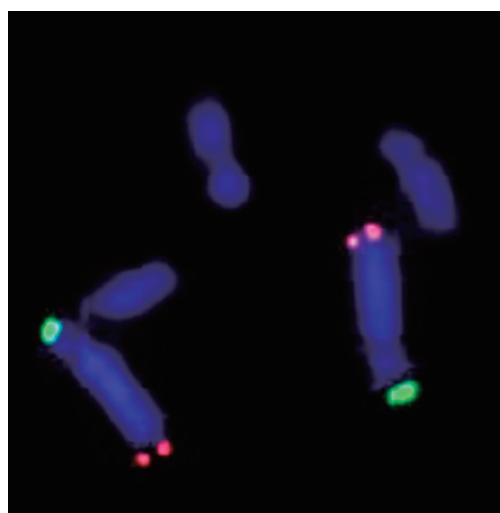


Рис. 3. Хромосомы 4 probанда, FISH с субтеломерными зондами. Зеленым флуорохромом мечены субтеломерные области коротких плеч, красным — длинных.

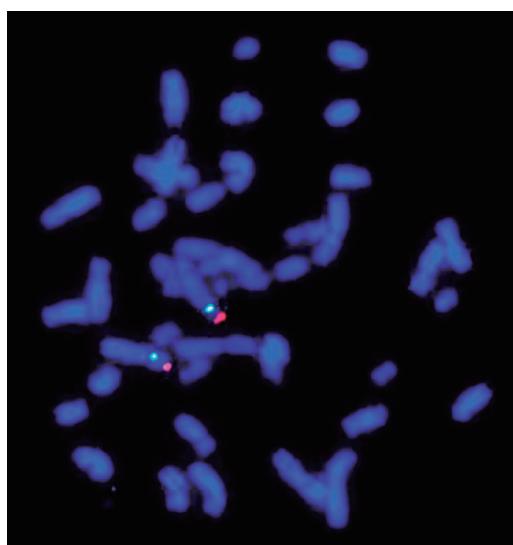


Рис. 4. Метафазная пластина probанда, FISH с зондом на локус, соответствующий критическому сегменту для синдрома Вольфа—Хиршхорна, он мечен красным флуорохромом, центромера хромосомы 4 — зеленым.

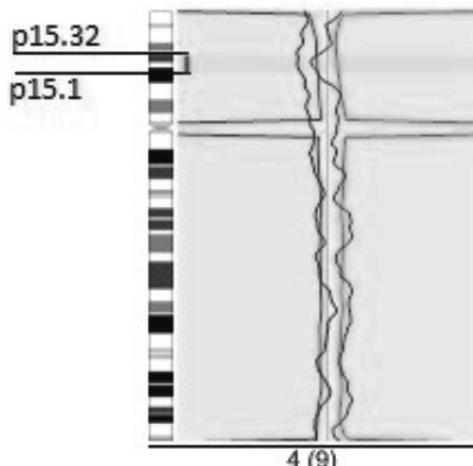


Рис. 5. Профиль гибридизации хромосомы 4.

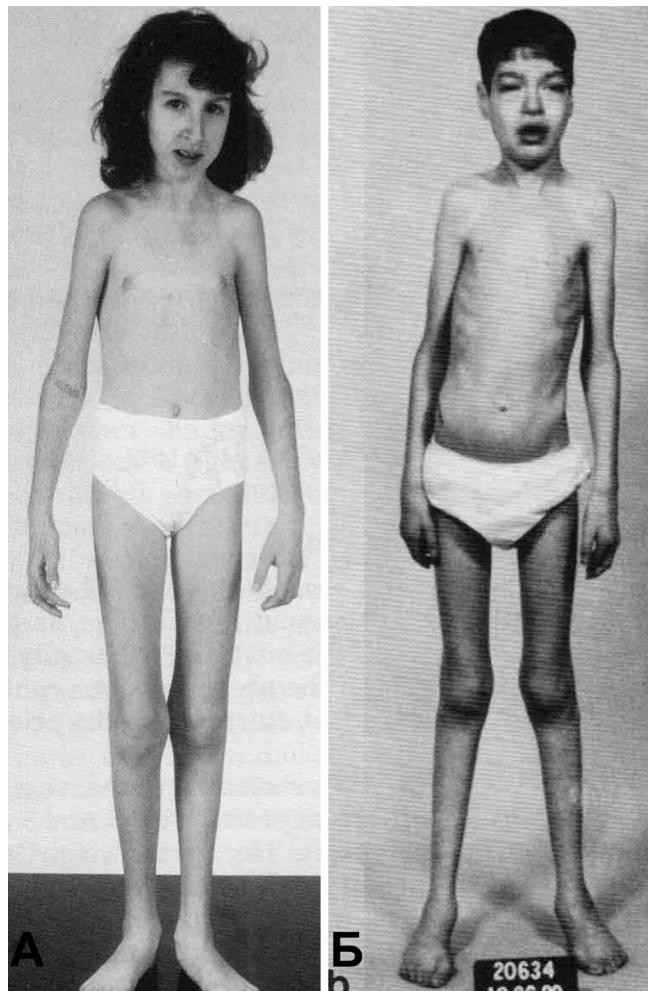


Рис. 6. Особенности телосложения:
А – девочки 10 лет с $\text{del}(4)(\text{p}15.2\text{p}15.33)$ [3]; Б – мальчика 14 лет с $\text{del}(4)(\text{p}14\text{p}16)$ [4]:
астеническое телосложение, слабое развитие мышц и подкожно-жировой клетчатки.

риотипом. Реакцию сравнительной геномной гибридизации и постгибридизационную отмытку проводили по протоколу фирмы производителя (AbbottMolecular). Для контрокрашивания хромосом был использован DAPI I (AbbottMolecular) в растворе Vectashield (VectorLabs) в соотношении 1:20. Было проанализировано 15 метафазных пластинок. Для анализа изображений метафазных хромосом была применена программа обработки изображения «LUCIACGH», установленная в комплексе с эпифлуоресцентным микроскопом «eclipse 90i» (Nikon) и CCD камерой «ProgResMF» (JENOPIK). При анализе профилей гибридизации была выявлена интерстициальная делеция в коротком плече хромосомы 4 (p15.1-p15.32): *ish cgh dim (4)(p15.1p15.32)* (рис. 5).

Обсуждение

Интерстициальные делеции являются редкой формой хромосомных перестроек. В большинстве случаев они возникают *de novo* в результате двух разрывов в хромосоме с последующим воссоединением. Очень редко встречается родительская инсерция или прямая передача от родителей к детям. Делециям короткого плеча хромосомы 4 было уделено большое внимание при изучении синдрома Вольфа–Хиршхорна — одного из первых описанных синдромов частичных моносомий. Критическим сегментом для этого синдрома является 4p16.3. Интерстициальные делеции, не захватывающие сегмент 4p16.3, не приводят к формированию синдрома Вольфа–Хиршхорна, однако нужно отметить, что в большинстве случаев терминальных делеций разрыв происходит в сегменте 4p15. При этом гаплосостояние по сегментам 4 (p14-4p16.2) не вносит каких-то специфических особенностей в фенотип этого синдрома. Регистр несбалансированных аномалий хромосом Европейской цитогенетической ассоциации (ECARUCA) [1] содержит 17 случаев делеций различной протяженности, включающих районы 4 (p14-p16). Описаны интерстициальные делеции различного размера и локализации, в том числе p14-p15.2, p14-p15.32, p14-p16, p15.1p15.3, p15.1-p16.1, p15.2p15.32, p15.2-p15.33, p15.2-p16.1, p15.31- p16.2, p15.32-p16.3 и др., что говорит об отсутствии особенностей строения генома, предрасполагающих к определенным разрывам в данном районе. В некоторых случаях интерстициальная делеция 4p первоначально расценивалась как терминальная, а в дальнейшем, в связи с отсутствием у пациента фенотипической картины синдрома Вольфа–Хиршхорна, диагноз был уточнен. Так, Moller R.S. et al. [2] описали пациентку 38 лет с $\text{del}(4)(\text{p}15.1\text{p}15.3)$, у которой диагноз был уточнен методом *array-CGH*. У женщины наблюдались умственная отсталость легкой степени, эпилепсия, полимикроргия, арахноидальная киста левой височной доли, а также стрabизм, нерегулярные зубы, повышенная подвижность суставов, запавшая грудина, вальгусная деформация коленных суставов и плоскостопие. Лицевые ано-

малии были слабо выражены и включали редкие брови, увеличенную нижнюю челюсть, толстую нижнюю губу, раздвоенный кончик носа и сглаженный фильтр. Размер и локализация делеции у этой пациентки и в представленном нами случае очень сходны, однако общими признаками являются только повышенная подвижность суставов и деформации костной системы, а из лицевых аномалий — толстая нижняя губа. Chitayat D. et al. [3] и White D.M. et al. [4] представили описания собственных наблюдений и обзоры опубликованных случаев в общей сложности 19 пациентов, среди которых было 5 детей до 2 лет, 6 детей в возрасте от 7 до 17 лет и 8 взрослых. На основании анализа клинических проявлений больных авторы делают заключение о возможности клинического распознавания синдрома интерстициальной делеции короткого плеча хромосомы 4, включающей сегменты 4p15.2-p15.33. Несмотря на различия в размере и локализации делеций (p14p-15.32, p14-p16.1, p15.1p16.1 и p15.1p16.1), все пациенты, описанные White D.M. et al. [4], имели весьма сходную клиническую картину. Возможно, это связано с тем, что группа из 7 человек включала 4 взрослых больных, являющихся близкими родственниками (мать и трое ее детей). В качестве характерных отмечены такие признаки, как умственная отсталость средней степени или легкая, астеническое телосложение (дефицит веса), мышечная гипотония и лицевые аномалии (длинное лицо, гипоплазия средней трети лица, монголоидный разрез глаз, эпикант, большой клювообразный нос, толстая

нижняя губа, микрогнатия). Характерными являются также высокое нёбо, широкая и короткая грудная клетка, широкие стопы и кисти. На рис. 6 представлены особенности телосложения у пациентов с интерстициальной делецией короткого плеча хромосомы 4.

На рис. 7 представлены лицевые аномалии у пациентов различного возраста с интерстициальной делецией хромосомы 4.

При анализе фенотипических проявлений у всех 19 пациентов, представленных в обзорах [3, 4], картина значительно менее однородная, указанные признаки присутствуют в различных сочетаниях, и только умственная отсталость характерна для всех пациентов. Большинству детей школьного возраста и взрослых пациентов присущее также астеническое телосложение с дефицитом веса. Часто (10/19) отмечены аномалии позвоночника (кифоз, лордоз или сколиоз), а также деформация грудной клетки (запавшая или ладьевидная грудь) (5/19). Патология суставов встретилась у 6 из 18 пациентов, в трех случаях в виде повышенной подвижности, в двух — ограничения подвижности и в одном — деформации. У 7 из 9 мальчиков отмечен криптотихизм, описаны также гипогонадизм и маленькие яички. Помимо перечисленных выше лицевых аномалий с меньшей частотой встретились аномалии ушей (маленькие, деформированные, выступающие или чашеобразные), аномалии области глаз и зрения (птоз, глубоко посаженные глаза и густые брови, миопия, страбизм и микрокорнеа), аномалии зубов (широко расположенные, неправильный

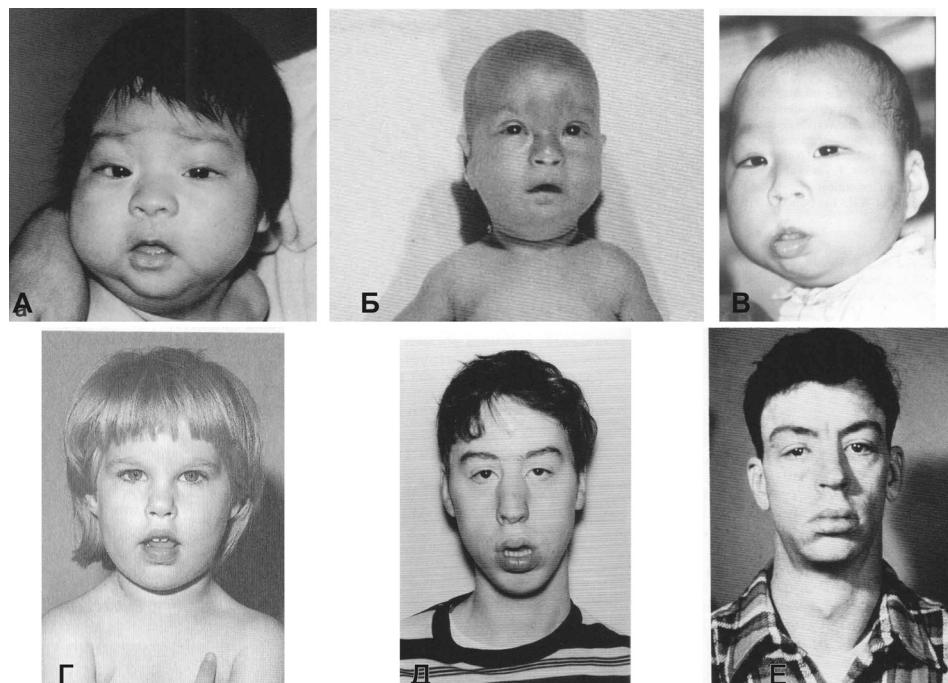


Рис. 7. Лицевые аномалии у пациентов различного возраста:

А — девочки 3 мес. с del(4)(p15.2p16.1) [4]; Б — мальчика 10 мес. с del(4)(p14p16) [4]; В — мальчика 13 мес. с del(4)(p15.2p15.32) [5]; Г — девочки 4 лет с делецией 4(p16.1p15.2) [6]; Д, Е — братьев 19 и 34 лет с del(4)(p16.1p15.1) [3].

КРАТКОЕ СООБЩЕНИЕ

прикус, аномальная форма). Астеническое телосложение и аномалии соединительной ткани являются характерными признаками представленного нами пациента. На астеническое телосложение при нормальных ростовых показателях в качестве характерного признака интерстициальной делеции 4р указывают также Tonk V.S. et al. [7], описавшие случай передачи интерстициальной делеции хромосомы 4 (p15.2p16.1) от матери к дочери. Обе пациентки имели умственную отсталость, микрономалии развития и характерные лицевые проявления.

В целом, анализ данных литературы свидетельствует о том, что для больных с интерстициальной делецией короткого плеча хромосомы 4 не характерны врожденные пороки и тяжелое нарушение развития. В значительной мере это объясняет тот факт, что несмотря на отставание в развитии и значительное количество микрономалий, большинству пациентов диагноз не был поставлен в раннем возрасте — описания относятся к детям школьного возраста, подросткам и взрослым. Особенностью проявлений синдрома является также то, что такие характерные лицевые аномалии как длинное лицо, большой клювообразный нос и толстая нижняя губа формируются с возрастом, в раннем детстве они менее заметны. С возрастом формируются также нарушения осанки и скелетные деформации. История представленного нами случая типична для заболевания. Несмотря на то, что ребенок с раннего возраста находился под наблюдением врачей по поводу различных нарушений (крипторхизма, энуреза, изменений опорно-двигательной системы), подозрений на хромосомное заболевание не возникало, а небольшое отставание в развитии было расценено как следствие перинатального поражения нервной системы. И даже когда трудности в обучении все же явились причиной более детального обследования

ния пациента, на цитогенетическое исследование он был направлен для исключения синдрома Клайнфелтера.

Заключение

Метод метафазной сравнительной геномной гибридизации позволяет уточнить размер и локализацию хромосомной перестройки, что является важным при оценке корреляций «генотип — фенотип». Случай представляет интерес как описание редкой формы хромосомной патологии.

Список литературы

1. ECARUCA — E.C.A. Register of Unbalanced Chromosome Aberrations: www.ecaruka.net
2. Moller R.S., Hansen C.P., Jackson G.D. et al. Interstitial deletion of chromosome 4p associated with mild mental retardation, epilepsy and polymicrogyria of the left temporal lobe // Clin. Genet. — 2007. — Vol. 72. — P. 593—598.
3. Chitayat D., Ruvalcaba R.H., Babul R. et al. Syndrome of proximal interstitial deletion 4p15: report of three cases and review of the literature // Am. J. Med. Genet. — 1995. — Vol. 55. — P. 147—154.
4. White D.M., Pillers D.A., Reiss J.A. et al. Interstitial deletions of the short arm of chromosome 4 in patients with a similar combination of multiple minor anomalies and mental retardation // Am. J. Med. Genet. — 1995. — Vol. 57. — P. 588—597.
5. Ishikava T., Sumi S., Fujimoto S. et al. Syndrome of the short arm of chromosome 4 in a boy with mild psychomotor retardation and dysmorphism // Clin. Genet. — 1990. — Vol. 38. — P. 59—61.
6. Schinzel A. Catalogue of unbalanced chromosome aberrations in man. — Walter de Gruyter. — Berlin — New York, 2001. — 966 p.
7. Tonk V.S., Jalal S.M., Gonzalez J. et al. Familial interstitial deletion of chromosome 4 (p15.1p16.1) // Ann. Genet. — 2003. — Vol. 46. — P. 453—458.

A case of interstitial deletion in the short arm of chromosome 4 on a boy of thirteen years old with deficit in weight and learning disability

Antonenko V.G., Markova N.V., Markova J.G., Musatova E.V., Kozlova Yu.O., Shilova N.V.

We report on a rare case of interstitial deletion in the short arm of chromosome 4 including the segment p15.1-p15.32 and not including the critical region of Wolf-Hirschhorn syndrome. Size and location of this deletion were specified by metaphase CGH. Special aspects of phenotypic appearance of this syndrome are discussed.

Key words: interstitial deletion 4p, CGH