

Алгоритм диагностики X-сцепленных форм умственной отсталости у детей

В.Ю. Воинова^{1,3}, С.Г. Ворсанова¹, Ю.Б. Юров², И.Ю. Юров^{2,4}¹ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. Ю.Е. Вельтищева» ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России», Москва;²ФГБНУ «Научный центр психического здоровья» РАН, Москва; ³ГБОУ ВПО «Московский государственный психолого-педагогический университет», Москва; ⁴ГБОУ «Российская медицинская академия постдипломного образования», Москва, Россия

An algorithm for the diagnosis of X-linked intellectual disability in children

V. Yu. Voinova^{1,3}, S. G. Vorsanova¹, Yu. B. Yurov², I. Yu. Yurov^{2,4}¹Academician Yu. E. Veltishchev Research Clinical Institute of Pediatrics, N. I. Pirogov Russian National Research MedicalUniversity, Ministry of Health of Russia, Moscow; ²Mental Health Research Center, Russian Academy of Sciences, Moscow;³Moscow State University of Psychology and Pedagogy, Moscow; ⁴Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow, Russia

X-сцепленная умственная отсталость — клинически и генетически гетерогенная группа наследственных заболеваний, обусловленных мутациями, локализованными на хромосоме X, приводящими к нарушению интеллектуального развития. В работе впервые определен удельный вес (6,54%) X-сцепленных заболеваний в структуре умственной отсталости у детей. Разработана система количественной оценки тяжести клинических проявлений при синдромах ломкой хромосомы X и Ретта. Научно обоснована система прогнозирования тяжести клинических проявлений X-сцепленных форм умственной отсталости, основанная на анализе влияния генетических и эпигенетических факторов (типа и положения мутации, инактивации хромосомы X). Определен вклад неслучайной X-инактивации в клинический полиморфизм различных форм X-сцепленной умственной отсталости, установлена ее роль как значимого диагностического маркера патологии. Показано, что исследование инактивации хромосомы X позволяет выявлять асимптотических носительниц X-сцепленных мутаций для медико-генетического консультирования семей. Разработан алгоритм диагностики X-сцепленной умственной отсталости среди недифференцированных форм нарушений психического развития детей.

Ключевые слова: дети; X-сцепленная умственная отсталость; синдром умственной отсталости, сцепленной с ломкой хромосомой X; синдром Ретта; инактивация хромосомы X.

Для цитирования: Воинова В.Ю., Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Юров И.Ю. Алгоритм диагностики X-сцепленных форм умственной отсталости у детей. Рос вестн перинатол и педиатр 2016; 61: 5: 34–41. DOI: 10.21508/1027-4065-2016-61-5-34-41

X-linked intellectual disability (XLID) is a clinically and genetically heterogeneous group of hereditary diseases caused by mutations on the X chromosome, which lead to impaired intellectual development. The paper determines for the first time the proportion of X-linked diseases (6.54%) in the pattern of intellectual disability in children. A system has been developed to quantify the clinical severity of fragile X mental retardation syndrome and Rett syndrome. A system has been scientifically justified to predict the clinical severity, which is based on an analysis of the impact of genetic and epigenetic factors (mutation type and location, X chromosome inactivation). The authors have determined the contribution of nonrandom X inactivation to the clinical polymorphism of various forms of XLID and established its role as an important diagnostic marker for pathology. It is shown that the study of X chromosome inactivation can identify asymptomatic female carriers of X-linked mutations to provide medical genetic counseling to families. An algorithm has been elaborated to diagnose XLID among the undifferentiated forms of mental developmental abnormalities in children.

Keywords: children, X-linked intellectual disability, fragile X mental retardation syndrome, Rett syndrome, X chromosome inactivation.

For citation: Voinova V. Yu., Vorsanova S. G., Yurov Yu. B., Yurov I. Yu. An algorithm for the diagnosis of X-linked intellectual disability in children. Ros Vestn Perinatol i Peditr 2016; 61: 5: 34–41 (in Russ). DOI: 10.21508/1027-4065-2016-61-5-34-41

X-сцепленная умственная отсталость (X-linked intellectual disability) представляет собой клинически и генетически гетерогенную группу наследственных

заболеваний, обусловленных мутациями, локализованными на хромосоме X и приводящими к нарушению интеллектуального развития. Суммарная частота данных заболеваний в популяции варьирует от 1:1000 до 1,8:1000 [1, 2]. Проблема X-сцепленной умственной отсталости чрезвычайно актуальна не только из-за ее высокой распространенности, но и в связи с тем, что она сопровождается тяжелым поражением нервной системы и ведет к глубокой инвалидности.

С клинических позиций X-сцепленную умственную отсталость принято разделять на синдромальную и несиндромальную (неспецифическую) [3]. При синдромальных формах при клиническом осмотре ребенка, лабораторных и функциональных исследованиях обнаруживают различные аномалии, помимо нарушений интеллекта. Больные

© Коллектив авторов, 2016

Адрес для корреспонденции: Воинова Виктория Юрьевна — д.м.н., вед. н. сотр. отдела психоневрологии и наследственных заболеваний НИКИ педиатрии им. Ю.Е. Вельтищева, проф. кафедры нейро- и патопсихологии развития Московского государственного психолого-педагогического университета
Ворсанова Светлана Григорьевна — д.б.н., проф., рук. лаборатории молекулярной цитогенетики нервно-психических заболеваний НИКИ педиатрии им. Ю.Е. Вельтищева
125412 Москва, ул. Талдомская, д. 2

Юров Юрий Борисович — д.б.н., проф., рук. лаборатории цитогенетики и геномики Научного центра психического здоровья

Юров Иван Юрьевич — д.б.н., проф., рук. лаборатории молекулярной генетики мозга науч. ц. п. з., проф. кафедры медицинской генетики Российской медицинской академии последипломного образования

115522 Москва, Каширское шоссе, д. 34

с синдромальными формами могут иметь нарушения физического развития, пороки развития мозга и других органов, комплекс микроаномалий, неврологические симптомы, особенности поведения, метаболические расстройства. При несиндромальных формах X-сцепленной умственной отсталости эти признаки отсутствуют и наблюдается изолированная умственная отсталость [4]. Следует отметить, что деление на синдромальные и несиндромальные формы патологии не является специфичным только для X-сцепленной умственной отсталости, а используется и в отношении ее аутосомных форм.

До сих пор существуют трудности диагностики X-сцепленной умственной отсталости среди недифференцированных нарушений интеллекта, не определена этиология многих заболеваний данной группы, недостаточно изучена роль инактивации хромосомы X в формировании клинического полиморфизма X-сцепленной умственной отсталости, а также асимптоматического носительства мутаций X-сцепленных генов, что затрудняет проведение медико-генетического консультирования и определение генетического риска возникновения повторных случаев патологии. В связи с вышеизложенным целью настоящего исследования была разработана система ранней эффективной диагностики X-сцепленных форм умственной отсталости на основе молекулярно-генетического, эпигенетического (исследование инактивации хромосомы X) и молекулярно-цитогенетического анализа клинического полиморфизма различных форм патологии.

Характеристика детей и методы исследования

В основу работы положено комплексное клинико-генетическое обследование 703 детей в возрасте от 3 мес до 18 лет с X-сцепленной умственной отсталостью, выявленных среди 10 749 больных с недифференцированными формами нарушений интеллекта. Наблюдались дети с моногенными X-сцепленными синдромами, проявляющимися преимущественно у гетерозиготных девочек, такими как синдромы Ретта, Блоха—Сульцбергера, Айкарди, Гольца и др. ($n=441$), моногенными X-сцепленными заболеваниями, проявляющимися преимущественно у гемизиготных мальчиков — синдромами ломкой хромосомы X (FRAXA), Хантера, Коффина—Лоури, Опица—Каведжиа, Симпсона—Голаби—Бемеля и др. ($n=208$). Кроме того, обследованы 36 больных со структурными микроаномалиями хромосомы X и 18 детей с несиндромальными формами X-сцепленной умственной отсталости.

Использовались клинико-генеалогический, функциональные, цитогенетический, молекулярно-цитогенетические и молекулярно-генетические методы. Для повышения эффективности клинической диагностики в ходе исследования разработаны системы количественной оценки тяжести течения наиболее

частых X-сцепленных форм умственной отсталости — синдромов ломкой хромосомы X и Ретта. Данные системы представляли собой ранговые шкалы, разработанные на основании анализа фенотипа больных с указанными заболеваниями, и включали оценку психологического и неврологического статусов, комплекса микроаномалий, признаков поражения соединительной ткани, а также антропометрических показателей (всего 25 признаков для синдрома Ретта и 23 признака для синдрома ломкой хромосомы X). Шкалы построены таким образом, что учитывают не только наличие, но и экспрессивность каждого признака, оценка которой включает число градаций от 0 до 5 баллов. Для оценки тяжести состояния ребенка проводилось суммирование количества баллов, соответствующих каждому из симптомов. Разработанные шкалы использовались нами с целью исследования клинического полиморфизма заболеваний и зависимости фенотипических признаков от генотипа больных.

Молекулярно-генетические, цитогенетический и молекулярно-цитогенетические методы были разработаны и осуществлялись в лабораториях молекулярной цитогенетики нервно-психических заболеваний НИКИ педиатрии и цитогенетики и геномики психических заболеваний Научного центра психического здоровья РАМН [5]. Определение мутаций гена *MECP2* проводилось с помощью прямого автоматического секвенирования. При анализе числа CGG-повторов в промоторе гена *FMR1* использовали метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим капиллярным электрофорезом в полиакриламидном геле. Анализ особенностей инактивации хромосомы X был основан на метилчувствительной рестрикции фланкирующих последовательностей экспансии тринуклеотидных (CAG)_n-повторов интрона 1 гена андрогенового рецептора (*AR*) с последующим количественным ПЦР-анализом. При анализе метафазных хромосом, полученных из культивированных лимфоцитов периферической крови, применялись методы G- и C-окрашивания. Для проведения серийной сравнительной геномной гибридизации (серийной CGH) использовался наночип Constitutional Chip® 4.0 фирмы Perkin Elmer, который позволяет сканировать геном с разрешением 0,5–1 млн парнуклеотидов (пн) и имеет более 600 ВАС проб на хромосому X [6].

Применялись стандартные методы статистической обработки: программа данных SPSS (Statistical Package for Social Sciences), включающая стандартные методы для медико-биологических исследований.

Результаты и обсуждение

Оценка удельного веса X-сцепленной умственной отсталости

Среди 10 749 детей с нарушениями интеллекта, наблюдавшихся в клиниках Научно-исследовательского клинического института педиатрии,

выявлены 703 (6,54%) ребенка с X-сцепленными заболеваниями. Удельный вес наиболее частых форм X-сцепленной умственной отсталости составил для синдрома Ретта 4,28% среди девочек, а для синдрома умственной отсталости, сцепленной с ломкой хромосомой X, — 4,16% среди мальчиков. Высокий удельный вес X-сцепленной умственной отсталости и наиболее часто встречающихся ее форм определяет актуальность исследований данной патологии. Согласно данным литературы, удельный вес X-сцепленных форм умственной отсталости оценивается как 10–12% [7]. Причина более низкой (выявленной нами по сравнению с ожидаемой) частотой патологии заключается в сложности идентификации случаев несиндромальных форм, нераспознаваемых клиническими методами. Удельный вес 6,54% в большей степени отражает частоту синдромальных форм X-сцепленной умственной отсталости, нежели патологии в целом. Следовательно, значительная часть случаев X-сцепленной умственной отсталости остается в группе недифференцированных форм. В связи с этим представляется особо значимым поиск лабораторных диагностических маркеров, общих для данной группы заболеваний, и разработка диагностического алгоритма для X-сцепленной умственной отсталости.

Генеалогические исследования в семьях с X-сцепленной умственной отсталостью

Проведен анализ 595 родословных детей с X-сцепленной умственной отсталостью, включавших сведения о 19 789 индивидуумах (табл. 1). Генеалогическое исследование имело наибольшее значение в семьях больных с несиндромальными формами патологии ($n=18$), поскольку X-сцепленный характер наследования нарушений интеллекта служил единственным критерием, согласно которому в этих семьях была идентифицирована X-сцепленная умственная отсталость.

Как видно из табл. 1, генеалогический анализ малоинформативен в диагностике X-сцепленных синдромов, проявляющихся преимущественно у гетерозигот: только в одной из 354 семей с синдромом Ретта и одной из 13 семей с синдромом Блоха–Сульцбергера заболевание встречалось более чем у одного индивидуума, а в остальных было спорадическим. В то же время генеалогический анализ сыграл значимую роль в диагностике синдромальных форм X-сцепленной умственной отсталости, проявляющихся преимущественно у гемизигот: в 35 (17%) из 208 проанализированных родословных заболевание наблюдалось более чем у одного мальчика, т.е. получены доказательства сцепленного с полом наследования заболевания (синдромы ломкой хромосомы X, Опица–Каведжиа, Менкеса, Аарского и др.).

Молекулярно-генетические, молекулярно-цитогенетические исследования и анализ корреляций генотип/фенотип при X-сцепленной умственной отсталости

У 114 детей мужского пола, отобранных из группы больных с недифференцированной умственной отсталостью при использовании шкалы количественной оценки клинических признаков синдрома ломкой хромосомы X (более 50 баллов), исследовалось количество CGG-повторов в гене *FMRI* (рис. 1, а). Экспансия тринуклеотидных повторов была обнаружена в 46 (40%) из 114 случаев, что в более чем 10 раз превышает процент подтверждения этого диагноза в зарубежных генетических центрах (2–3,8%) [8]. Полученные данные указывают на эффективность отбора больных с помощью количественной клинической шкалы. У родственников пациентов по материнской линии мутации и премутации гена *FMRI* были выявлены в 43 (84%) из 107 случаев (рис. 1, б). У этих родственников были обнаружены заболевания, ассоциированные с премутацией гена *FMRI*, — раннее наступление менопаузы у женщин и синдром тремора и атаксии у мужчин. Поскольку эти индивидуумы

Таблица 1. Результаты генеалогического анализа в семьях с X-сцепленной умственной отсталостью ($n=595$)

Нозологические формы	Число проанализированных родословных	Число семейных случаев	Удельный вес семейных случаев среди всех проанализированных, %
Синдромы, проявляющиеся преимущественно у гетерозиготных девочек	369	2	0,5
В том числе:			
Блоха–Сульцбергера	13	1	8
Ретта	354	1	0,3
Айкарди	1	0	0
Гольца	1	0	0
Синдромы, проявляющиеся преимущественно у гемизиготных мальчиков	208	35	17
В том числе:			
синдром ломкой хромосомы X	46	9	20
мукополисахаридоз II типа	17	1	6
редкие синдромы	155	33	21
Несиндромальные формы X-сцепленной умственной отсталости	18	18	100

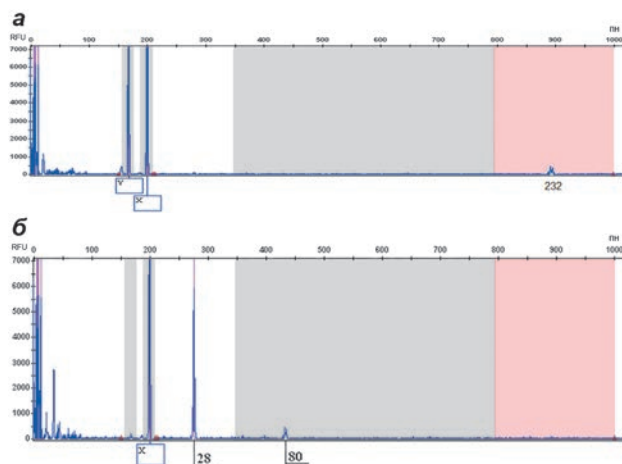


Рис. 1. Анализ количества тринуклеотидных повторов в промоторе гена *FMR1* методом ПЦР с последующим капиллярным электрофорезом.

На электрофореграммах продуктов ПЦР определено: а — ~232 CGG-повтора (полная мутация гена *FMR1*) у ребенка с синдромом FRAXA; б — 80 CGG-повторов (премутация гена *FMR1*) у матери ребенка с синдромом умственной отсталости, сцепленной с ломкой хромосомой X.

имеют высокий риск рождения детей с умственной отсталостью, то их выявление представляется исключительно важным.

Суммарная оценка тяжести фенотипа по клинической шкале и оценка экспрессивности отдельных признаков (зрительный контакт, ускоренный темп речи, комплекс лицевых микроаномалий, макроорхизм, аномалии соединительной ткани и увеличение окружности головы) у детей с синдромом ломкой хромосомы X была статистически достоверно выше, чем у больных с недифференцированными формами умственной отсталости (критерий Манна–Уитни, $p < 0,001$). Клинические признаки, по которым эти дети статистически достоверно отличались, можно считать наиболее специфичными для заболевания и использовать для его выявления среди недифференцированных форм умственной отсталости. У гетерозиготных по полной мутации девочек степень нарушений интеллекта широко варьировала.

У детей с синдромом Ретта мутации гена *MECP2* были обнаружены в 315 (91%) из 354 случаев, что является одним из самых высоких среди опубликованных в литературе показателей эффективности клинической диагностики заболевания и, по-видимому, служит результатом строгого отбора детей с помощью разработанной клинической шкалы. Рекуррентные мутации были определены у 201 (64%) ребенка, наиболее частой была мутация R255X, найденная у 50 (16%) детей, в том числе у пары конкордантных по синдрому Ретта близнецов. Вторая наблюдавшаяся нами пара конкордантных близнецов имела мутацию R270X, частота которой в наблюдавшейся когорте детей с мутациями составила 11%. Частоты других рекуррентных мутаций: 3% для R106W,

7% для R133C, 14% для T158M, 11% для R168X, 3% для R294X и 8% для R306C. Большинство детей с мутациями в гене *MECP2* были женского пола, за исключением двух мальчиков с классическим течением заболевания, у которых определен соматический мозаицизм по мутациям R168X и R270X. У одного из мальчиков (с мутацией R270X) наблюдался тканеспецифический мозаицизм по анеуплоидии хромосомы X, обнаруженной в 14% ядер мышечных клеток (кариотип — 47,XXY/46,XY).

Среди детей с врожденной формой синдрома Ретта и формой с ранним началом судорог мутаций гена *MECP2* не найдено. У 7 девочек с вариантом синдрома Ретта с ранним началом судорог обнаружены мутации гена *CDKL5*, что позволило установить диагноз атипичного синдрома Ретта.

Анализ влияния типа мутации в гене *MECP2* на тяжесть течения заболевания показал, что суммарная оценка тяжести фенотипа в баллах у больных с нонсенс-мутациями и мутациями со сдвигом рамки считывания статистически достоверно выше, чем у детей с миссенс-мутациями (44,6 балла против 33,8 балла, $t=4,031$, $p < 0,001$). Проведен анализ тяжести течения заболевания в зависимости от позиции мутации в гене *MECP2* (рис. 2). Наибольшая тяжесть клинических проявлений наблюдалась у больных с мутациями, локализованными между 158 и 270 аминокислотными остатками белка MeCP2 (мутации R168X, R255X и R270X), а наименьшая тяжесть — у детей с мутациями R106W и R133C, а также с мутациями, расположенными ближе к 3'-концу гена (мутации R294X, R306C, делеции на 3'-конце). Таким образом, показана зависимость тяжести течения синдрома Ретта от типа и позиции мутации в гене *MECP2*, что важно для понимания генетических основ клинического полиморфизма заболевания и прогнозирования его течения.

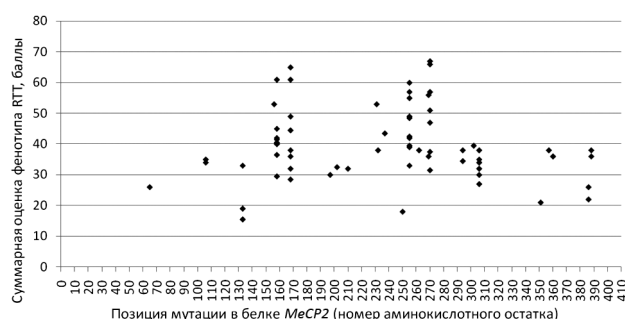


Рис. 2. Оценка зависимости тяжести течения синдрома Ретта от позиции мутации.

У детей с синдромом Ретта ($n=34$), у которых молекулярно-генетическим методом мутации гена *MECP2* не были установлены, проведено исследование с помощью технологии arrayCGH, в результате чего в 10 случаях выявлены микроделеции Xq28, захватывающие ген *MECP2*. Следовательно, впервые было показано возникновение синдрома Ретта в результате полной делеции данного гена [9].

Анализ особенностей инактивации хромосомы X был проведен у 247 индивидуумов женского пола из 150 семей с X-сцепленными формами умственной отсталости, 25 женщин из 22 семей с недифференцированными нарушениями интеллекта и у 80 здоровых женщин контрольной группы. Инактивация хромосомы X определялась как соотношение инактивированных аллелей гена андрогенового рецептора разного родительского происхождения и оценивалась как неслучайная, если это соотношение превышало 20:80.

В целом при X-сцепленных синдромах, проявляющихся у гетерозиготных девочек, неслучайная X-инактивация (сдвиг X-инактивации) наблюдалась у 45% больных, а при X-сцепленных заболеваниях, проявляющихся у гемизигот, определена у 46% женщин из семей больных мальчиков (в 7 раз чаще, чем в контроле). Исследования X-инактивации позволили особо выделить синдром Блоха—Сульцберге-ра, при котором у всех наблюдавшихся нами больных ($n=13$) был обнаружен сдвиг X-инактивации. Полученные результаты подтверждают высказывавшееся ранее мнение о том, что анализ X-инактивации можно использовать как диагностический критерий данного заболевания [10]. X-инактивация была неслучайной также у матерей детей с синдромами Коффина—Лоури, Барта, Симпсона—Голаби—Бемеля, Опица—Каведжиа, отопалатодигитальным синдромом 1-го типа и др. и указывала на носительство этими женщинами X-сцепленных мутаций, связанное с высоким риском повторного рождения детей с умственной отсталостью. Наиболее значимым, на наш взгляд, являлся анализ X-инактивации у женщин в семьях с недифференцированными формами умственной отсталости: у 5 (23%) из 22 женщин из 19 семей был выявлен сдвиг X-инактивации, что с высокой вероятностью указывает на X-сцепленный характер наследования патологии. Необходимо отметить, что 5 (6,5%) из 76 женщин контрольной группы также имели сдвиг X-инактивации. Последних, по-видимому, следует отнести к группе риска носительства X-сцепленных генетических дефектов.

Полученные данные согласуются с представлениями о том, что неслучайная инактивация хромосомы X является одной из характерных эпигенетических особенностей X-сцепленных форм умственной отсталости [11, 12]. В настоящей работе показано, что исследование X-инактивации повышает эффективность диагностики X-сцепленной умственной отсталости среди недифференцированных форм патологии и позволяет выявлять асимптоматических носительниц X-сцепленных мутаций.

Особенности инактивации хромосомы X значительно влияют на фенотип гетерозигот по мутациям X-сцепленных генов. Как видно на рис. 3, у девочек с выраженным сдвигом X-инактивации (81–100%) наблюдались преимущественно легкие формы синдрома Ретта, а у девочек с равной

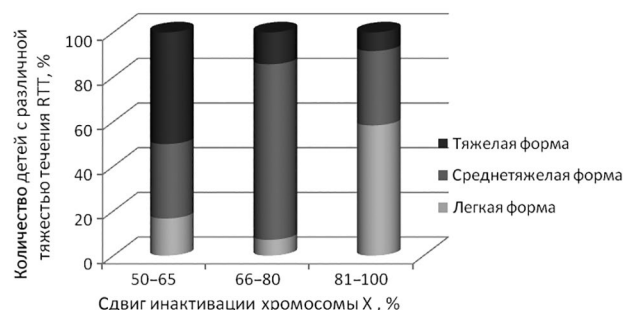


Рис. 3. Зависимость тяжести течения синдрома Ретта (РТТ) от степени сдвига X-инактивации.

Показано уменьшение доли детей с тяжелыми и возрастание доли больных с легкими формами заболевания при увеличении сдвига X-инактивации.

X-инактивацией — тяжелые формы. Следует подчеркнуть, что не только степень сдвига X-инактивации, но и его направление влияли на фенотип гетерозигот. Чем выше был процент клеток с активной нормальной хромосомой X, тем чаще наблюдались легкие формы заболеваний. В тех случаях, когда была преимущественно активна хромосома X с мутацией, наблюдалось развитие выраженных клинических проявлений X-сцепленных форм патологии у гетерозигот. Полученные результаты указывают на возможность прогнозирования тяжести клинических проявлений у девочек с мутациями X-сцепленных генов.

На основе полученных данных разработана система прогнозирования тяжести состояния детей с синдромом Ретта (табл. 2), которая основывается на исследовании типа, позиции мутации гена *MECP2*, определенных рекуррентных мутаций, а также особенностей инактивации хромосомы X. При этом сдвиг X-инактивации против мутантной хромосомы X может облегчать течение болезни, а сдвиг X-инактивации против нормальной хромосомы X — делать его более тяжелым.

Индивидуальный анализ числа CGG-повторов в гене *FMR1* и особенностей инактивации хромосомы X дает возможность прогнозировать фенотипические признаки больных с синдромом ломкой хромосомы X и членов их семей. Как видно из табл. 3, клинические проявления у лиц как мужского, так и женского пола с экспансией тринуклеотидных повторов в гене *FMR1* определяются наличием премутации либо полной мутации данного гена. На фенотип женщин влияют особенности инактивации хромосомы X: снижение интеллекта у женщин с полной мутацией гена *FMR1* пропорционально проценту клеток с активной мутантной хромосомой X.

Применение таких высокоразрешающих технологий, как серийная сравнительная геномная гибридизация (CGH), показало, что X-сцепленная умственная отсталость может быть результатом вариации количества копий генов хромосомы X [13–15]. Ранее некоторыми авторами были выявлены микроделеции и микродупликации хромосомы X не менее чем в 13%

Таблица 2. Прогнозирование тяжести течения синдрома Ретта на основе определения мутации гена *MECP2* и анализа инактивации хромосомы X

Генетические и эпигенетические факторы, определяющие тяжесть течения синдрома Ретта	Течение заболевания	
	тяжелое	легкое
Тип и позиция мутации гена <i>MECP2</i>	Нонсенс мутации Мутации со сдвигом рамки считывания за исключением делеций на 3'-конце гена <i>MECP2</i>	Миссенс мутации Делеции на 3'-конце гена <i>MECP2</i>
Особенности рекуррентных мутаций гена <i>MECP2</i>	R168X R255X R270X T158M	R106W R133C R294X R306C
Особенности инактивации хромосомы X	Равная инактивация хромосомы X Преимущественная инактивация хромосомы X с нормальным аллелем гена <i>MECP2</i>	Преимущественная инактивация хромосомы X с мутацией гена <i>MECP2</i>

Таблица 3. Прогнозирование фенотипа на основе определения числа CGG-повторов в гене *FMR1* и анализа инактивации хромосомы X

Генетические и эпигенетические факторы, определяющие фенотип	Фенотип больных	
	мужской пол	женский пол
Число CGG-повторов в гене <i>FMR1</i> от 55 до 200	Когнитивные нарушения и нарушения поведения Повышен риск развития синдрома тремора и атаксии	Когнитивные нарушения и нарушения поведения Повышен риск развития: • дисфункции яичников; • синдрома преждевременного прекращения функции яичников (менопауза до 40-летнего возраста); • эстрогензависимых опухолей; • синдрома тремора и атаксии
Число CGG-повторов в гене <i>FMR1</i> более 200	Синдром умственной отсталости, сцепленной с ломкой хромосомой X	Синдром умственной отсталости, сцепленной с ломкой хромосомой X Асимптоматическое носительство мутации
Особенности инактивации хромосомы X	—	Снижение интеллекта у женщин с полной мутацией гена <i>FMR1</i> пропорционально проценту клеток с активной мутантной хромосомой X

случаев недифференцированной X-сцепленной умственной отсталости [16]. Нами наблюдались 34 больных с субмикроскопическими аномалиями хромосомы X (микродупликациями и микроделециями), выявленными с помощью методов CGH и arrayCGH в лаборатории цитогенетики и геномики Научного центра психического здоровья РАМН [17]. Таким образом, X-сцепленная умственная отсталость представляется как группа заболеваний, которые возникают как вследствие генных мутаций на хромосоме X, так и в результате нарушения количества копий X-сцепленных генов. Последнее привело к открытию новых нозологических форм X-сцепленной умственной отсталости. Так, был выделен синдром микродупликации Xq28, который предположительно является одной из частых причин умственной отсталости у мальчиков [18]. У наблюдавшихся нами четырех детей с данным заболеванием умственная отсталость оставалась недифференцированной до применения технологии arrayCGH.

Алгоритм диагностики X-сцепленной умственной отсталости

На основе проведенных исследований разработан диагностический алгоритм, основанный

на поэтапном применении клинко-генеалогического анализа, молекулярно-генетических исследований мутаций генов хромосомы X, молекулярно-цитогенетических методов диагностики, анализа инактивации хромосомы X. На рис. 4 представлен алгоритм диагностики X-сцепленной умственной отсталости у мальчиков. Первым этапом обследования пробанда с умственной отсталостью является клинко-генеалогический анализ. После его проведения может быть установлен диагноз X-сцепленного синдрома (А) либо несиндромальной X-сцепленной умственной отсталости (Б). Возможна также клиническая диагностика наследственных заболеваний, связанных с мутациями аутосомных генов. Однако после клинко-генеалогического исследования остается большая группа детей с недифференцированными формами нарушений интеллекта (В), что требует применения других методов. При выявлении типичной клинической картины X-сцепленного синдрома необходим анализ мутаций соответствующего гена хромосомы X. Если мутация определена, то диагноз следует считать подтвержденным и рекомендуется обследовать мать пробанда на ее носительство. Обнаружение мутации у матери указывает на высокий

(50%) риск рождения больного ребенка при каждой последующей беременности.

Если анализ мутаций определенного гена недоступен или мутаций в гене не обнаружено, а фенотип указывает на синдромальную форму X-сцепленной умственной отсталости, то осуществляется переход к следующему этапу — исследованию инактивации хромосомы X у матери пробанда, выявление которой подтверждает диагноз у пробанда и носительство X-сцепленного заболевания матерью. Если сдвиг X-инактивации не обнаружен при нормальном фенотипе женщины, то делается вывод о возникновении X-сцепленного синдрома у пробанда в результате мутации *de novo* с низким риском его повторения в семье.

При подозрении на несиндромальную X-сцепленную умственную отсталость рекомендуется прежде всего провести исследование инактивации хромосомы X у матери больного. Обнаружение сдвига X-инактивации позволит подтвердить диагноз X-сцепленного заболевания у ребенка и состояние носительства у матери, а также сделает более оправданным трудоемкий поиск мутаций генов несиндромальной X-сцепленной умственной отсталости.

Относительно форм умственной отсталости, которые остались недифференцированными после клинико-генеалогического исследования, диагностика

осуществляется методом исключения: у части больных при цитогенетических и молекулярно-цитогенетических исследованиях могут быть обнаружены хромосомные аномалии, у другой части — наследственные метаболические болезни. У оставшихся мальчиков необходимо использовать методы CGH либо агауCGH для выявления микроделетий и микродупликаций хромосом. Если умственная отсталость остается недифференцированной после применения перечисленных выше методов, следует использовать анализ инактивации хромосомы X. При этом обнаружение сдвига X-инактивации у матерей мальчиков позволит отнести заболевание к группе X-сцепленных состояний, а у матери определить носительство данной патологии. К исследованию X-инактивации при недифференцированной умственной отсталости можно прибегнуть сразу, минуя другие методы (пунктирная линия на рис. 4).

При обследовании девочек с недифференцированной умственной отсталостью алгоритм выявления X-сцепленных состояний в целом такой же, как у мальчиков, однако анализ X-инактивации необходимо осуществлять как у больных девочек, так и у их матерей. Интерпретация результатов исследования X-инактивации у девочек с нарушениями интеллекта более сложна и требует учета ее особенностей у пробанда и матери.



Рис. 4. Алгоритм диагностики X-сцепленных форм умственной отсталости у мальчиков с недифференцированными формами нарушений интеллекта.

А, Б, и В — три возможных направления диагностического поиска.

Заключение

Таким образом, проблема сцепленных с полом нарушений психического развития детей носит медико-социальный характер в связи с высокой распространенностью патологии. Так, удельный вес X-сцепленной умственной отсталости среди детей с нарушениями интеллекта, наблюдавшихся в генетической клинике, составил 6,54%. Разработанные шкалы количественной оценки фенотипа в баллах для наиболее частых форм этой патологии — синдромов Ретта и умственной отсталости, сцепленной с ломкой хромосомой X, в сочетании с современными молекулярно-генетическими методами повышают эффективность диагностики указанных заболеваний до 91 и 40% соответственно.

Эпигенетический феномен неравной инактивации хромосомы X является характерной особенностью X-сцепленной умственной отсталости. Исследование X-инактивации повышает эффективность выявления гетерозиготных носительниц X-сцепленных мутаций в семьях детей с X-сцепленной патологией.

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Chiurazzi P., Hamel B.C., Neri G. XLID-genes: update 2000. Eur J Hum Genet 2001; 9: 71–78.
2. Ropers H.H. Genetics of intellectual disability. Curr Opin Genet Dev 2008; 18: 241–250.
3. Kerr B., Turner G., Mulley J. et al. Non-specific mental retardation. J Med Genet 1991; 28: 378–382.
4. Gecz J., Mulley J. Genes for cognitive function: developments on the X. Genome Res 2000; 10: 157–163.
5. Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Чернышов В.Н. Медицинская цитогенетика. М: Медпрактика 2006; 318 (Vorsanova S.G., Yurov Yu.B., Chernyshov V.N. Medical cytogenetics. Moscow: Medpraktika, 2006; 318. (in Russ))
6. Юров И.Ю., Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б. Геномные и хромосомные болезни центральной нервной системы: молекулярные и цитогенетические аспекты. М: МЕДПРАКТИКА 2014; 384 (Yurov I.Yu., Vorsanova S.G., Yurov Yu.B. Genomic and chromosomal diseases of the central nervous system: molecular and cytogenetic aspects. Moscow: MEDPRAKTIKA, 2014; 384. (in Russ))
7. Ropers H., Hamel B. X-linked mental retardation. Nature reviews genetics 2005; 6: 46–57.
8. Stevenson R.E., Schwartz C.E. X-linked intellectual disability: unique vulnerability of the male genome. Dev Disabil Res Rev 2009; 15: 361–8.
9. Yurov I. Yu., Vorsanova S.G., Voinova V. Yu. et al. Xq28 (MECP2) microdeletions are common in mutation-negative females with Rett syndrome and cause mild subtypes of the disease. Mol Cytogenet 2013; 6: 53. doi: 10.1186/1755–8166–6–53.
10. Migeon B.R. Females are mosaics. X inactivation and Sex Differences in Disease. Oxford university press, 2007; 271.
11. Юров И.Ю., Ворсанова С.Г., Воинова-Улас В.Ю. и др. Эпигенетические исследования синдрома Ретта как адекватной модели аутистических расстройств. Журн неврол и психиатр 2005; 105: 4–11. (Yurov I.Yu., Vorsanova S.G., Voinova-Ulas V.Yu. et al. Epigenetic study of Rett syndrome as an adequate model of autism spectrum disorders. Zhurn nevrologii i psikiatrii 2005; 105: 4–11. (in Russ))
12. Plenge R.M., Stevenson R.A., Lubs H.A. et al. Skewed X-chromosome inactivation is a common feature of X-linked mental retardation disorders. J Hum Genet 2002; 71: 168–173.
13. Bauters M., Weuts A., Vandewalle J. et al. Detection and validation of copy number variation in X-linked mental retardation. Cytogenet Genome Res 2008; 123: 44–53.
14. Yurov I.Yu., Vorsanova S.G., Yurov Yu.B. Recent patents on molecular cytogenetics. Recent Pat DNA Gene Seq 2008; 2: 6–15.
15. Gecz J., Shouridge C., Corbett M. The genetic landscape of intellectual disability arising from chromosome X. Trends Genet 2009; 25: 308–16.
16. Froyen G., Van Esch H., Bauters M. et al. Detection of genomic copy number changes in patients with idiopathic mental retardation by High-Resolution X-Array-CGH: important role for increased gene dosage of XLID genes. Hum Mut 2007; 28: 1042–43.
17. Yurov I. Yu., Vorsanova S.G., Kurinna O.S. et al. Molecular karyotyping by array CGH in a Russian cohort of children with intellectual disability, autism, epilepsy and congenital anomalies. Mol Cytogenet. 2012; 5: 46. doi: 10.1186/1755–8166–5–46.
18. Van Esch H., Bauters M., Ignatius J. et al. Duplication of the MECP2 region is a frequent cause of severe mental retardation and progressive neurological symptoms in males. Am J Hum Genet 2005; 77: 442–453.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект №14-15-00411).

Поступила 01.07.2016
Received on 2016.07.01