

УДК 616.717.4-007:576.316

В.О. Галаган

РІДКІСНІ ХВОРОБИ ЛЮДИНИ: ДЕЛЕЦІЯ КОРОТКОГО ПЛЕЧА ХРОМОСОМИ 9

Медико-генетичний центр Національної дитячої спеціалізованої лікарні
«ОХМАТДИТ» МОЗ України
вул. Чорновола 28/1, Київ, 01135, Україна
Medical Genetics Center of the National Children's Hospital
"Ohamatdyt" of Ministry of Health of Ukraine
Chornovola str., 28/1, Kyiv, 01135, Ukraine
e-mail: ohmadet-asy@mail.ru

Ключові слова: моносомія короткого плеча хромосоми 9, тригоноцефалія
Key words: monosomy of chromosome 9, trigonocephaly

Реферат. Редкие заболевания человека: моносомия короткого плеча хромосомы 9. Галаган В.А. Задача исследования состояла в анализе анамнеза, фено- и генотипа у пациентов с такой редкой патологией как моносомия короткого плеча хромосомы 9. Использованы как генетические (клинико-генеалогический, цитогенетический, FISH-метод), так и параклинические и инструментальные методы обследования. Карiotипирование проводили по стандартной методике (G-метод дифференцированной окраски хромосом). За 10 последних лет работы МГЦ было диагностировано всего три случая патологии. По данным анамнеза никто в родословной, которая была представлена тремя поколениями, не имел вредных привычек, профессиональных вредностей, в т.ч. не был участником ликвидации аварии на ЧАЭС и не проживал на радиационно загрязненной территории. У родителей пробандов клинические признаки патологии не выявлены. У всех пробандов фенотипически были обнаружены тригоноцефалия (краниосиностоз), эпикант, глазной гипертелоризм, монголоидный разрез глазных щелей, длинный филтър (расстояние между носом и верхней губой), плоское лицо и спинка носа, деформация ушных раковин. У двоих из трех пациентов обнаружен экзофтальм, контрактуры второго и третьего пальцев кисти, гипоплазия наружных половых органов. Во всех трех случаях обнаружена моносомия хромосомы 9 критического сегмента p 24. При карiotипировании родителей пробандов хромосомные перестройки не выявлены, то есть у пациентов обнаружены новые мутации. Задержка физического, статокинетического и психоречевого развития у пробанда, особенно в сочетании с микроаномалиями развития, является показанием для медико-генетического консультирования в медико-генетических учреждениях второго и третьего уровней. При репродуктивных потерях неясного генеза в анамнезе необходимо проводить цитогенетическое исследование плодного материала.

Abstract. Rare human diseases: 9p deletion syndrome. Galagan V.O. Objective of the study was to review the anamnesis, pheno - and genotype in patients with rare chromosome disorders such as 9p deletion syndrome. Genetic methods of investigation (clinical and genealogical, cytogenetic, FISH- method), paraclinical and instrumental methods of examination were used. Karyotyping was performed by the G-method of differential staining of chromosomes. Only three cases of pathology were diagnosed in the Medical Genetics Center over the last 10 years. By anamnesis data nobody in the probands' families had bad habits, was exposed to occupational hazards, took part in the elimination of the Chernobyl accident or lived in contaminated areas. Clinical signs of diseases have not been identified in probands' parents. All probands had trigonocephaly, bilateral epicanthal folds, ocular hypertelorism, downslanting palpebral fissures, long philtrum, flat face and nasal bridge, low set ears with malformed auricles. Two patients of three ones had exophthalmos, contracture of the second and third fingers, abnormal external genitalia. In all three cases there was monosomy of chromosome 9 of critical segment p 24. Normal karyotypes were seen in all parents, so there were three cases of new mutations of 9p deletion syndrome. Retardation of physical, psycho-speech, mental development in proband with or without congenital anomalies requires medical genetic counseling in a specialized institution. Cases of reproductive loss in anamnesis require cytogenetic investigation of fetal membranes and amniotic fluid.

Увагу до рідкісних (сирітських, орфанних) хвороб суспільство почало виявляти тільки в останні десятиліття, ймовірно, у зв'язку з тим, що для їхнього лікування потрібні були обмежені кількості певних фармакологічних препаратів, які не приносили великих зисків фармакологічним компаніям. Так, у Сполучених Штатах Америки був виданий закон щодо

сирітських фармакологічних препаратів (Orphan Drug Act, 1983); рідкісних хвороб (Rare Disease Act, 2002), в яких визначено, що рідкісними є хвороби, які зустрічаються 1: 1 500 (у США загалом це становить близько 200 тис. осіб). Відповідну законодавчу базу має і Російська Федерація. Для допомоги пацієнтам з рідкісними

захворюваннями країни, зокрема і наша держава, об'єдналися в мережу Orphanet.

Слід визнати, що при діагностиці рідкісних хвороб, більшість з яких має генетичну основу, виникають певні труднощі, в т.ч. і у зв'язку з тим, що медичні генетики протягом своєї клінічної практики не завжди стикаються з пацієнтами, котрі страждають на такі хвороби.

Синдром Альфі (синдром 9p-) є вродженим і вперше описаний у 1973 році. Цитогенетичні варіанти можуть бути різними: часткова делеція короткого плеча 9 хромосоми, ізохромосома 9q, незбалансовані транслокації, проте в усіх випадках спостерігається втрата сегмента 9p22.

Діагностичними ознаками захворювання є тригоноцефалія, різко виступаючий лоб, монголоїдний розріз очей, епікант, екзофтальм, гіпертелоризм, сплющене і широке перенісся, маленький рот з великою верхньою губою, високе піднебіння. Вушні раковини без мочки або вона недорозвинена, зі згладженим завитком. Шия коротка, пальці рук і ніг довгі, нігті широкі, опуклі, квадратної форми. У дівчаток виражена гіпоплазія малих і великих статевих губ, у хлопчиків - гіпоплазія мошонки і статевого члена. З вад внутрішніх органів відмічено ураження серцево-судинної системи і гідронефроз нирок. Спостерігається розумова відсталість різного ступеня вираженості. За характером хворі ласкаві, спокійні, слухняні. Прогноз для життя сприятливий [1].

Слід також зазначити, що більш часто, ніж вроджені синдроми, цитогенетичні зміни короткого плеча хромосоми 9 (від 9 p11 до 9 p 24) спостерігають при неоплазіях кровотворної системи. Делеції короткого плеча переважно реєструють при гострому лімфобластному лейкозі [1, 4, 6]. Відповідно до даних, викладених у літературі, 7-12% хворих на гостру лімфобластну лейкемію мають вищевказані цитогенетичні зміни, які виникають на рівні мультипотентної стоволової клітини [8]. Молекулярно-генетичні дослідження, виконані в цій області, дозволяють припустити, що причиною неоплазії може бути втрата генетичного матеріалу, який містив гени, що стримували ріст пухлини [4, 5].

Таким чином, за даними літератури існують усі підстави вважати втрату генетичного матеріалу в короткому плечі хромосоми 9 значущою як для виникнення вроджених хвороб, так і для розвитку неоплазій кровотворної системи. Завдання представленої роботи полягало в аналізі анамнезу, фенотипу та генотипу у пацієнтів з такою рідкісною вродженою патологією як моносомія короткого плеча хромосоми 9.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

У роботі використані генетичні (клініко-генеалогічний, цитогенетичний, FISH-метод), параклінічні та інструментальні методи обстеження. Каріотипування проводили за стандартною методикою (G-метод диференційного фарбування хромосом) [2].

Для верифікації мікрodelеційних синдромів застосовували метод флуоресцентної *in situ* гібридизації з використанням локус-специфічних зондів: Vysis DiGeorge Region Probe – LSI TUPLE 1 SpectrumOrange/LSI ARSA SpectrumGreen; Vysis Williams Region Probe – LSI ELN SpectrumOrange/LSI D7S486, D7S522 SpectrumGreen. FISH-метод виконували згідно з інструкцією в комплекті із зондами.

Аналіз стандартних цитогенетичних препаратів проводили на мікроскопі Nikon E400 (Японія); FISH – на флуоресцентному мікроскопі Nikon E600 (Японія).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У медико-генетичному центрі (МГЦ) Національної дитячої спеціалізованої лікарні «ОХМАТДИТ» МОЗ України з 2004 по 2013 рік було діагностовано всього три випадки синдрому Альфі (всі пробанди – дівчатка). Два пацієнти – жителі м. Києва – були спрямовані до МГЦ дитячими неврологами, один пацієнт проживав у м. Житомир і мав направлення Житомирського обласного Центру планування сім'ї та репродукції людини.

Перший пробанд А. поступив на консультування у МГЦ у місячному віці. Сім'я проживає у м. Києві. Батькам по 38 років, ознак патології у них не виявлено. Тато від попереднього шлюбу має здорову 19-річну дитину. У цьому шлюбі перша вагітність закінчилася викиднем на терміні 24 тижні. При патологонатомічному дослідженні плода ознак вродженої патології не виявлено, однак плід не був обстежений цитогенетично.

Другий пробанд Б. був діагностований у віці один місяць 3 тижні. Сім'я проживала у м. Києві. Клінічно здорові батьки (мати віком 34 роки, батько - 39) були TORCH інфіковані. Подружжя мало здорову 8-річну дитину та самовільний викидень на терміні 5-6 тижнів (цитогенетично не обстежений).

Третій пробанд В. поступив на обстеження у дворічному віці. При цьому за місцем проживання (м. Житомир) було проведено каріотипування – 46XX. У батьків (мати – 25, батько – 29 років) ознак будь-якої патології не виявлено. У них обох є по одній здоровій дитині від попередніх шлюбів.

Родоводи пробандів були представлені трьома поколіннями. У всіх представників третього покоління (за словами батьків пробандів та фотографіями) клінічні ознаки вродженої патології не виявлені. За даними анамнезу ніхто в родоводі не мав шкідливих звичок, не піддавався впливу професійних шкідливостей, у т.ч. не був учасником ліквідації аварії на ЧАЕС та не проживав на радіаційно забрудненій території.

Слід також зазначити, що, незважаючи на прямі показання (вік майбутніх батьків, репродуктивні втрати в анамнезі), до народження пробандів жодна з сімей не отримала медико-генетичного консультування.

Всі пробанди при народженні мали масу 3000 – 3370 г і середній зріст 52-54 см.

Під час медико-генетичного консультування у всіх пробандів фенотипово були виявлені тригоноцефалія (краніосиностоз), епікант, очний гіпертелоризм, монголоїдний розріз очних щілин, подовжений фільтр (відстань між носом і верхньою губою), пласкі обличчя та спинка носа, деформація вушних раковин. У двох з трьох пацієнтів мав місце екзофтальм, контрактури другого і третього пальців кисті, гіпоплазія зовнішніх статевих органів.

Два з трьох пробандів мали двобічну пахову килу та вроджений стеноз легеневої артерії.

У неврологічному статусі у всіх пробандів відзначена м'язова гіпотонія, гіпорексія, затримка фізичного та психомовного розвитку.

За даними літератури, критичним регіоном хромосоми 9 при такому синдромі є сегмент р 24

[3]. У представленому дослідженні каріотиби пробандів А, В., В. характеризувались як 46, XX, del (9) (p23); 46, XX, del (9) (p21); 46, XX, del (9) (: p22 **q ter) відповідно, тобто у всіх трьох випадках мала місце моносомія хромосоми 9 критичного сегмента р 24.

При каріотипуванні батьків пробандів хромосомні перебудови у них не виявлені, тобто у пацієнтів мали місце нові мутації.

Пацієнти отримували симптоматичне лікування залежно від діагностованої органної патології, а також відповідний реабілітаційний комплекс у центрах реабілітації для дітей з ураженнями центральної нервової системи.

ВИСНОВКИ

1. Найбільш характерною клінічною ознакою у пацієнтів з моносомією хромосоми 9 є тригоноцефалія, яка в сполученні з іншими фенотиповими проявами (стигми дизембріогенезу) надає можливість запідозрити хромосомну патологію, яка повинна бути підтверджена цитогенетично.

2. Наявність у пробанда затримки фізичного, статокінетичного та психомовного розвитку, особливо в сполученні з мікроаномаліями розвитку, є показанням для медико-генетичного консультування у медико-генетичних закладах другого та третього рівнів.

3. При репродуктивних втратах невстановленого генезу в анамнезі необхідно проводити цитогенетичне дослідження плідного матеріалу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ворсанова С.Г. Медицинская цитогенетика (учебное пособие) / С.Г. Ворсанова, Ю.Б. Юров, В.Н. Чернышов. – М.: Медпрактика-М, 2006. – 299 с.
2. Зерова-Любимова Т.Е. Цитогенетичні дослідження хромосом людини: методичні рекомендації / Т.Е. Зерова-Любимова. – К., 2003. – 23 с.
3. Перестройки хромосоми 9 при различных гематологических неоплазиях / С.В. Андреева, В.Д. Дроздова, Е.В. Поночевная, Н.В. Кавардакова // Цитология и генетика. – 2008. – № 5. – С. 72-79.
4. Childhood and Adolescence lymphoid and Myeloid Leukemia / Ch. H.Pui, M. Schrappe, R. Ribeiro, C. Niemeyer // Hematology Amer. Soc. Hematol. Educ. Program. – 2004. – P. 118-145.
5. Gilliland D.G. Targeted therapies in myeloid leukemia. Acute leukemias XI. Prognostic factors and treatment strategies / D.G. Gilliland // Ann. Hematol. – 2004. – Vol. 83, Suppl. 1. – P. 75-76.
6. Human Cytogenetics. A practical approach. Malignancy and acquired abnormalities / Eds D.E. Rooney, B.H. Czepulkovsky. – New York : Oxford Univer. Press, 1995. – 293 p.
7. Karyotype evolution: cytogenetics follow_up study in children acute lymphoblastic leukemia / P. Meldipour, R. Mirfakhraie, M. Jahani, A.R. Meldipour // Asian Pac. J. Cancer Prev. – 2003. – Vol. 4, N 4. – P. 358-368.
8. Raimondi S.C. Current status of cytogenetic research in childhood acute lymphoblastic leukemia / S.C. Raimondi // Blood. – 1993. – Vol. 81, N 1. – P. 2237-2251.

REFERENCES

1. Vorsanova SG, Yurov YuB, Chernyshov VN. [Medical cytogenetics (manual)]. Moskow: Medpraktika-M; 2006. Russian.
2. Zerova-Lyubimova TE. [Cytogenetic researches of chromosomes of the person: methodical recommendations]. Kyiv; 2003. Ukrainian.
3. Andreeva SV, Drozdova VD, Ponochevnaya EV, Kavardakova NV. [Reorganizations of chromosome 9 in various hematologic neoplaziyakh]. Tsitologiya i genetika. 2008;5:72-79. Russian.
4. Pui CH, Schrappe M, Ribeiro RC, Niemeyer CM. Childhood and Adolescence lymphoid and Myeloid Leukemia. Hematology Amer. Soc. Hematol. Educ. Program. 2004;118-145.
5. Gilliland DG. Targeted therapies in myeloid leukemia. Acute leukemias XI. Prognostic factors and treatment strategies. Ann. Hematol. 2004;83(1): 75-76.
6. Human Cytogenetics. A practical approach. Malignancy and acquired abnormalities. Eds D.E. Rooney, B.H. Czepulkovsky. New York: Oxford Univ. press., 1995;293.
7. Meldipour P, Mirfakhraie R, Jahani M, Meldipour AR. Karyotype evolution: cytogenetics follow_up study in children acute lymphoblastic leukemia. Asian Pac. J. Cancer Prev. 2003;4:358-68.
8. Raimondi SC. Current status of cytogenetic research in childhood acute lymphoblastic leukemia. Blood. 1993;81(1):2237-51.



УДК 618.19-006.6-06:577.215/.216

**В.М. Запорожан,
В.В. Бубнов,
В.Г. Марічереда,
Ю.Ю. Петровський,
Д.Ю. Андронов**

**ОЦІНКА ІНФОРМАТИВНОСТІ СТУПЕНЯ
МЕТИЛЮВАННЯ ДНК ГЕНА DKK4
ЯК ДІАГНОСТИЧНОГО КРИТЕРІЮ ПРИ
АДЕНОКАРЦИНОМІ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ**

*Одеський національний медичний університет
пров. Валіхівський, 2, Одеса, 65082, Україна
Odessa National Medical University
In. Valihovskyy, 2, Odessa, 65082, Ukraine
e-mail: andronov_d@bk.ru*

Ключові слова: метилювання ДНК, ген DKK4, CG сайт, аденокарцинома молочної залози.
Key words: DNA methylation, DKK4 gene, CG site, breast adenocarcinoma

Реферат. Оценка информативности степени метилирования ДНК гена DKK4 как диагностического критерия при аденокарциноме молочной железы. Запорожан В.Н., Бубнов В.В., Маричереда В.Г., Петровский Ю.Ю., Андронов Д.Ю. Аномалии метилирования ДНК играют значительную роль в возникновении и развитии онкологических заболеваний. Целью данного исследования была оценка значимости количественного определения гиперметилювания первого экзона гена DKK4 в качестве биомаркера опухолевой трансформации эпителиальных клеток молочной железы больных аденокарциномой 2-3 стадии. Анализ метилирования был проведен методом количественного пиросеквенирования с использованием набора PSQ96MA фирмы Qiagen. Установлено, что содержание метилированной ДНК гена DKK4 в образцах ткани аденокарциномы молочной железы значительно выше, чем в образцах неизменной ткани молочной железы, взятых от этих же больных. Так содержание метилированной ДНК при раке молочной железы в среднем составило 36,8±12,63 процента, тогда как в образцах условно нормальной ткани молочной железы – 19,37±7,1 процента, $p \leq 0,01$. Из 23 образцов ткани аденокарциномы молочной железы высокий уровень содержания метилированной ДНК первого экзона гена DKK4 был выявлен в 20 образцах (86,96 %, $p \leq 0,01$); в 3 образцах уровень метилированной ДНК был сопоставим с содержанием в образцах условно нормальной ткани.