

Цитогенетические и молекулярно-цитогенетические исследования в диагностике мозаичных форм хромосомных аномалий у детей

А.Д. Колотий, С.Г. Ворсанова, И.Ю. Юров, И.А. Демидова, А.К. Берешева,
О.С. Куринная, В.С. Кравец, Ю.Б. Юров

Cytogenetic and molecular cytogenetic investigations in the diagnosis of mosaic forms of chromosomal abnormalities in children

A.D. Kolotiy, S.G. Vorsanova, I.Yu. Yurov, I.A. Demidova, A.K. Beresheva,
O.S. Kurinnaya, V.S. Kravets, Yu.B. Yurov

Московский НИИ педиатрии и детской хирургии; Научный центр психического здоровья РАМН, Москва

Обследовано 354 ребенка (с задержкой развития, пороками и/или микроаномалиями) цитогенетическим методом и 29 детей с предполагаемым хромосомным мозаицизмом молекулярно-цитогенетическим методом FISH. Хромосомный мозаицизм наблюдался только при численных аномалиях хромосом и составил после цитогенетического анализа 3,4% от всех больных или 18,2% от случаев с хромосомной патологией. После проведения молекулярно-цитогенетического исследования доля случаев с хромосомным мозаицизмом составила 5,9%. Мозаичные формы хромосомных аномалий наблюдались в 4 раза чаще у девочек — (соотношение полов мужской/женский 4/17 (0,24). Показано, что выявление возможного мозаицизма молекулярно-цитогенетическими методами диагностики требуется пациентам со стертой клинической картиной таких хромосомных синдромов, как Дауна, Эдвардса, Шерешевского—Тернера, трисомии X, а также девочкам с дисгенезией гонад при нормальном кариотипе, определенном цитогенетическим методом.

Ключевые слова: дети, хромосомные аномалии, хромосомный мозаицизм, молекулярно-цитогенетическая диагностика.

The authors examined a group of 354 children with developmental retardation, defects, and/or microanomalies by the cytogenetic method and 29 with presumed chromosomal mosaicism by the molecular cytogenetic technique FISH. Chromosomal mosaicism was observed only in the presence of numeric chromosomal abnormalities and after cytogenetic analysis it was 3,4% of all the patients or 18,2% of cases of chromosomal pathology. After molecular cytogenetic analysis, the proportion of cases with chromosomal mosaicism was 5,9%. The mosaic forms of chromosomal abnormalities were detected 4 times more frequently in girls — (male/female ratio 4:17 (0,24). It was shown that possible mosaicism should be detected by molecular cytogenetic diagnostic methods in patients with the subtle clinical picture of chromosomal syndromes, such as Down's, syndrome, Edwards' syndrome, Shereshevsky-Turner syndrome, and trisomy X, and in girls with gonadal dysgenesis and a normal karyotype detected by the cytogenetic method.

Key words: children, chromosomal abnormalities, chromosomal mosaicism, molecular cytogenetic diagnosis.

Среди всей хромосомной патологии численные хромосомные аномалии (анеуплоидии хромосом) остаются одной из основных причин умст-

венной отсталости, врожденных пороков развития, а также отягощенного акушерского анамнеза [1—4]. Большинство анеуплоидий, по данным многочисленных исследований, возникают на стадии мейоза при формировании родительских гамет. Однако если неправильное расхождение хромосом произошло в процессе митотического деления клеток будущего организма, например, на стадии бластоцисты, хромосомная аномалия возникает не во всех клетках, а лишь в некоторых из них. Такое явление носит название хромосомного мозаицизма, или мозаичной формы хромосомной аномалии — явления, обусловленного наличием в организме двух или более клеточных линий, например, аномальной и нормальной.

Хромосомный мозаицизм чаще наблюдается при численных хромосомных аномалиях в отличие от структурных, что было установлено многими

© Коллектив авторов, 2011

Ros Vestn Perinatol Pediat 2011; 2:23–29

Адрес для корреспонденции: Ворсанова Светлана Григорьевна — д.б.н., проф., зав. лабораторией молекулярной цитогенетики нервно-психических заболеваний МНИИ педиатрии и детской хирургии

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

Демидова Ирина Александровна — к.б.н., в.н.с. той же лаборатории

Берешева Альфия Камилловна — к.б.н., в.н.с. той же лаборатории

Куринная Оксана Сергеевна — н.с. той же лаборатории

Кравец Виктор Сергеевич — н.с. той же лаборатории

125412 Москва, ул. Талдомская, д. 2

Юров Юрий Борисович — д.б.н., проф., зав. лабораторией цитогенетики Научного центра психического здоровья РАМН

Юров Иван Юрьевич — к.б.н., вед. н. сотр. той же лаборатории

113152 Москва, Загородное ш., д. 2

исследованиями [5, 6]. Клинические проявления при хромосомном мозаицизме зависят главным образом от доли аномальных клеток в организме, а также от того, какие органы и ткани имеют хромосомную патологию. Наличием мозаицизма можно объяснить разную степень тяжести заболевания при различных хромосомных синдромах [7–12]. Присутствие у больного определенной доли нормальных клеток при таких хромосомных синдромах, как Шерешевского — Тернера, Клайнфельтера, Дауна, Эдвардса, трисомии хромосом 22 и X, предполагает более благоприятный прогноз течения болезни, а своевременная эффективная диагностика мозаичных форм хромосомных аномалий способствует лечебной коррекции, особенно при мозаичных формах аномалий половых хромосом. Обнаружение незначительной доли клеток с хромосомной аномалией может объяснить причину идиопатической умственной отсталости, пороков и аномалий развития у ребенка. Выявление так называемого «скрытого» хромосомного мозаицизма с помощью современных молекулярно-цитогенетических методов позволит провести эффективную медико-генетическую консультацию, определить прогноз и соответствующую терапию больному ребенку.

В настоящее время методический арсенал для выявления хромосомного мозаицизма весьма ограничен. Наиболее применяемым методом молекулярно-цитогенетической диагностики для данной задачи является метод флюоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), основанный на использовании хромосомоспецифичных ДНК проб. Данный метод может быть с успехом применен не только на метафазных хромосомах, но и на интерфазных ядрах, что позволяет избежать проблем, связанных с получением хромосомных препаратов, дает возможность исследовать клетки различных тканей и при анализе большого числа клеток за короткое время получить достоверные результаты [3, 13–15].

Целью настоящего исследования являлось определение удельного веса мозаичных форм различных хромосомных аномалий в группе детей до 5 лет с задержкой развития, пороками и/или микроаномалиями развития и на основе этого разработать показания к применению молекулярно-цитогенетической диагностики.

ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕТЕЙ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Стандартное цитогенетическое исследование было проведено у 354 детей в возрасте от 1 нед до 5 лет (средний возраст 2 года 3 мес ± 1 год 6 мес) с задержкой психомоторного, психоречевого и физического развития, врожденными пороками и/или микроаномалиями развития, проходивших обследование в Московском НИИ педиатрии и детской хирургии. Соотношение полов (мужской/женский) — 183/171 (1,07). Матери-

алом для исследования являлась 72-часовая культура лимфоцитов периферической крови. Анализировали, как минимум, 20 метафаз у каждого пациента.

Молекулярно-цитогенетическую диагностику методом *in situ* FISH проводили 29 детям для уточнения или выявления хромосомного мозаицизма. При этом применялись ДНК пробы на прицентромерные участки хромосом: 11, 15, 18, 13/21, 14/22, X и Y. Проводился анализ 50–100 метафазных пластинок и 100–1000 интерфазных ядер.

В работе использовались ДНК пробы из оригинальной коллекции лаборатории цитогенетики Научного центра психического здоровья РАМН и лаборатории молекулярной цитогенетики нервно-психических заболеваний Московского НИИ педиатрии и детской хирургии. Описание этих ДНК проб представлено в работах Ю. Б. Юрова и соавт. [16–18] и И. В. Соловьева и соавт. [13, 19, 20].

Флюоресцентную гибридизацию *in situ* на метафазных и интерфазных клетках проводили согласно протоколу, разработанному в лаборатории цитогенетики Научного центра психического здоровья РАМН [19, 21, 22]. При FISH исследовании мозаичные формы определяли на основании следующих данных: доля анеуплоидного по аутосоме или нормального клона учитывалась в 5% клеток и более [12, 23, 24]; моносомия хромосомы X у детей женского пола учитывалась в том случае, если она была больше 1,6%, т.е. больше значения, определенного в исследовании у здоровых детей до 5 лет [25].

Исследования разрешены этическим комитетом Московского НИИ педиатрии и детской хирургии и проводились в соответствии с международными этическими и правовыми нормами для генетических исследований.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате цитогенетического обследования 354 детей хромосомная патология была выявлена у 66 (18,6%). Среди них было 28 (7,9%) пациентов с синдромом Дауна и 38 (10,7%) пациентов с другими формами хромосомных аномалий.

Среди хромосомной патологии выявлено: 45 (68,2%) численных аномалий и 21 (31,8%) структурная аномалия хромосом. Численные аномалии включали: трисомию хромосомы 21 (синдром Дауна) — 28 случаев (42,4% от всех хромосомных аномалий), анеуплоидию хромосомы X, представленную в основном моносомией, — 9 (13,6%) случаев, трисомию хромосомы 18 (синдром Эдвардса) — 2 (3%) случая, трисомию хромосомы 22 — в 2 (3%) случаях и дополнительные маркерные хромосомы — 4 (6%) случая. Удельный вес разных форм хромосомной патологии представлен на рис. 1.

Мозаичные формы хромосомной патологии цитогенетическим методом были выявлены у 12 из 354 детей, что составило 3,4% от всех больных или 18,2% от случаев с хромосомной патологией. Мозаичными



Рис. 1. Хромосомная патология, выявленная цитогенетическим методом.

не считались случаи обнаружения лишь одной клетки, отличающейся кариотипом от преобладающей клеточной линии, согласно общепринятым цитогенетическим правилам [26, 27]. Таких случаев было 6, и до проведения FISH диагностики эти случаи учитывались как регулярные формы. На рис. 2 представлено соотношение регулярных и мозаичных форм численных хромосомных аномалий, обнаруженных цитогенетическим методом.

Все мозаичные случаи наблюдались по численным хромосомным аномалиям, кроме одного случая с кольцевой хромосомой 11 при кариотипе 46,XX,r(11) [16]/47, XX,r (11) x² [2]/45, XX, — 11 [4], который был отнесен к структурным хромосомным аномалиям, но мозаицизм при этом наблюдался по анеуплоидии хромосомы 11. Следует отметить, что согласно данным литературы и результатам соб-

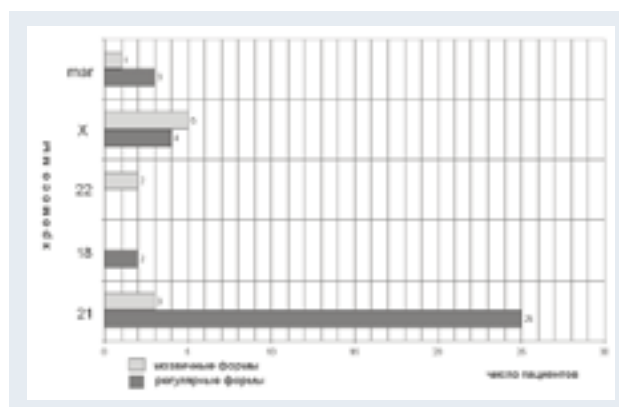


Рис. 2. Соотношение мозаичных и регулярных численных хромосомных аномалий, обнаруженных цитогенетическим методом.

ственных исследований, мозаицизм при кольцевых хромосомах наблюдается достаточно часто [2, 28, 29]. Кроме этого случая далее в исследовании рассматривалась только численная хромосомная патология.

Дополнительная FISH диагностика проводилась 29 детям, в том числе 12 детям с мозаицизмом, выявленным цитогенетически, для уточнения доли мозаичных клонов (см. таблицу, № 1—12); 6 детям, у которых при цитогенетическом анализе была обнаружена лишь одна клетка, отличающаяся по кариотипу от преобладающей клеточной линии (см. таблицу, № 13—18) и 11 детям с регулярным аномальным или нормальным кариотипом, у которых была стертая клиническая картина синдрома и которые могли иметь «скрытый» мозаицизм (см. таблицу, № 19—29). Результаты диагностики FISH методом представлены в таблице.

Таблица. Результаты FISH диагностики в группе обследованных детей

№ п/п	Возраст	Клинические проявления	Результаты цитогенетического исследования	Результаты FISH исследования	Подтверждение мозаичных форм методом FISH
1	7 мес	Нетипичный фенотип синдрома Дауна, отсутствие характерных лицевых МАР, отсутствие поперечной борозды на ладонях	47,XX,+21[18]/46,XX[2]	47,XX,+21[551]/46,XX[49]	+
2	3 мес	ЗПМР, микроцефалия, колобома радужки, глаукома, мышечная гипотония	47,XX,+21[14]/46,XX[7]	47,XX,+21[143]/46,XX[157]	+
3	5 лет	Грубая задержка психоречевого развития, гипертелоризм глазных щелей, готическое небо, гиперпигментированные невусы	47,XX,+21[5]/46,XX[15]	47,XX,+21[27]/46,XX[143]	+
4	5 лет	ЗПРР, ожирение. У матери в анамнезе спонтанные аборты	47,XX,+22[4]/46,XX[17]	47,XX,+22[14]/46,XX[86]	+
5	1 год 2 мес	ЗПРР, МАР: монголоидный разрез коротких глазных щелей, брахидактилия, поперечная борозда на ладонях	47,XY,+22[2]/46,XY[28]	47,XY,+22[15]/46,XY[146]	+
6	11 мес	ЗПМР, гипотрофия, готическое небо, варусная постановка стоп, открытое овальное окно, низкая граница роста волос	45,X[2]/46,XX, fra(16)(q22)[10]/46,XX[19]	45,X[17]/46,XX[510]	+

Таблица. Результаты FISH диагностики в группе обследованных детей (продолжение)

№ п/п	Возраст	Клинические проявления	Результаты цитогенетического исследования	Результаты FISH исследования	Подтверждение мозаичных форм методом FISH
7	1 год	ЗППР, МАР: короткая шея, гипертелоризм глазных щелей и сосков	45,X[3]/ 46,XX[23]	45,X[42]/ 46,XX[258]	+
8	5 лет	Задержка роста, короткая шея, клинодактилия V пальцев кистей	45,X[3]/ 46,XX[40]	45,X[4]/ 46,XX[296]	-
9	5 лет	Задержка роста, признаки СШТ; ЗППР, клинодактилия IV и V пальцев стоп и кистей	45,X[7]/ 46,X,i(X)(q10)[14]	45,X[236]/ 46,X,i(X)(q10)[364]	+
10	3 мес	Дисгенезия гонад	45,X[14]/ 47,XXX[4]/ 46,XX[7]	45,X[164]/ 47,XXX[21]/ 46,XX[15]	+
11	3 года	Фенотип синдрома Прадера—Вилли	47,XX,+mar[14]/ 46,XX[8]	47,XX,+der(15)[75]/ 46,XX[56]	+
12	10 мес	ЗПМР, микроцефалия, поперечная борозда на ладонях, трезубец пальцев левой стопы, микрофтальм, антимонголоидный разрез глазных щелей, атрофия дисков зрительных нервов	46,XX,r(11)(p15.5q23.3)[16]/ 47,XX,r(11)x2[2]/ 45,XX,-11[4]	46,XX,r(11)[295]/ 47,XX,r(11)x2[12]/ 45,XX,-11[60]	+
13	10 дней	Предположительно синдром Дауна	47,XX,+21[20]/ 46,XX[1]	47,XX,+21[236]/ 46,XX[46]	+
14	5 лет	ЗППР, аутизм	47,XXX[27]/ 46,XX[1]	47,XXX[524]/ 46,XX[28]	+
15	3 года 7 мес	ЗППР, аномальные ушные раковины, высокое небо, эпикант, короткие мизинцы, паховая грыжа, аномалии половых органов	47,XY,+18[1]/ 46,XY[23]	47,XY,+18[1]/ 46,XY[391]	—
16	1 год	ЗФР и ЗПМР, множественные МАР	47,XX,+18[1]/ 46,XX[26]	46,XX[350]	—
17	1 год 10 мес	ЗППР, низкий рост, короткая шея, воронкообразная грудная клетка, поперечная ладонная борозда, мегалокорнея	45,X[1]/ 46,XX[26]	45,X[3]/ 47,XXX[1]/ 46,XX[546]	—
18	3 года 4 мес	Задержка роста, короткая шея, крыловидная складка, антимонголоидный разрез глазных щелей, телекант	45,X[1]/ 46,XX[28]	45,X[4]/ 46,XX[570]	—
19	3 мес	Нетипичный фенотип синдрома Эдвардса	47,XX,+18	47,XX,+18[548]/ 46,XX[2]	—
20	1 мес	МВПР: пороки сердца и головного мозга, синдактилия, полидактилия	47,XX,+18	47,XX,+18[534]/ 46,XX[30]	+
21	3 мес	Нетипичная клиническая картина синдрома Дауна	47,XY,+21	47,XY,+21[236]/ 46,XY[28]	+
22	3 мес	МВПР, ЗФР, гипертелоризм коротких глазных щелей, низкопосаженные ушные раковины, поперечная борозда на ладони, ВПС	47,XY,+21	47,XY,+21[188]/ 46,XY[12]	+
23	9 мес	Нетипичная клиническая картина синдрома Дауна	47,XY,+21	47,XY,+21[994]/ 46,XY[56]	+
24	3 года 4 мес	ЗППР, ВПС, микроцефалия, монголоидный разрез глазных щелей, поперечная борозда на ладони, крупные ушные раковины, арахнодактилия	47,XXX	47,XXX[518]/ 48,XXX[2]/ 46,XX[31]	+

Таблица. Результаты FISH диагностики в группе обследованных детей (продолжение)

№ п/п	Возраст	Клинические проявления	Результаты цитогенетического исследования	Результаты FISH исследования	Подтверждение мозаичных форм методом FISH
25	4 года	Предположительно СШТ, ЗППР, задержка роста, короткая шея, широкая грудная клетка, микроцефалия, поперечная складка ладони, гипотелоризм глазных щелей	46,XX	45,X[7]/ 47,XXX[2]/ 46,XX[988]	—
26	1,5 года	Предположительно СШТ в связи с низкорослостью	46,XX	45,X[28]/ 47,XXX[1]/ 46,XX[971]	+
27	4 года 5 мес	То же	46,XX	45,X[15]/ 46,XX[985]	—
28	3 года	Предположительно СШТ	46,XX	45,X[6]/ 47,XXX[7]/ 46,XX[500]	+
29	5 лет	» »	46,XX	45,X[18]/ 47,XXX[6]/ 46,XX[973]	+

Примечание. + мозаицизм подтвержден; — мозаицизм не подтвержден; в квадратных скобках — количество проанализированных клеток, согласно международной цитогенетической номенклатуре [30]. ВПС — врожденный порок сердца; ЗППР — задержка психоречевого развития; ЗПМР — задержка психомоторного развития; ЗФР — задержка физического развития; МВПП — множественные врожденные пороки развития; МАР — микроаномалии развития; СШТ — синдром Шерешевского—Тернера.

В результате проведения молекулярно-цитогенетической диагностики были получены следующие данные: среди 12 детей с мозаицизмом, обнаруженным цитогенетически, мозаичная форма анеуплоидии подтвердилась у 11 и была исключена у 1; среди 17 детей с немозаичным кариотипом, выявленным цитогенетически, мозаицизм был обнаружен у 10 детей. Таким образом, доля мозаичных форм анеуплоидии после FISH исследования увеличилась с 3,4 до 5,9% от общего числа детей ($n=354$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Мозаичные формы численных хромосомных аномалий могут быть значимым этиологическим фактором, влияющим на степень тяжести клинических проявлений при хромосомных синдромах. В настоящей работе проведена оценка удельного веса мозаичных форм численных хромосомных аномалий в раннем постнатальном развитии (до 5 лет), когда выявляемость хромосомных аномалий и хромосомного мозаицизма наиболее высока, а именно в группе детей с задержкой психомоторного и психоречевого развития, пороками и/или микроаномалиями развития. В литературе имеются данные о так называемом «исчезающем» мозаицизме [31], при котором у одного и того же ребенка в раннем возрасте (например, в 3 года) выявляли мозаичный клон аномальных клеток, а через несколько лет анализ лимфоцитов показывал только нормальные клетки. Вероятно, это явление связано с преимущественным отбором в ходе жизнедеятельности нормальных клеток, которые в результате деления могли

вытеснить аномальный клон. По этой причине была отобрана группа детей раннего возраста (до 5 лет). Для выявления хромосомного мозаицизма, в том числе низкого уровня (до 10%), был применен молекулярно-цитогенетический метод исследования — флюоресцентная гибридизация *in situ* (FISH), позволяющая определять численные хромосомные аномалии с высокой эффективностью.

Как показало исследование, дети со стертой клинической картиной (*forme fruste*) синдрома Дауна и трисомии X могут иметь хромосомный мозаицизм с присутствием 5–10% нормального клона клеток в лимфоцитах периферической крови. Так, у всех 4 детей со стертым фенотипом синдрома Дауна FISH методом был обнаружен нормальный клон клеток. Таким образом, доля мозаичных случаев синдрома Дауна после проведенных FISH исследований составила 25% (7 из 28) по сравнению с 10,7% (3 из 28), выявленными цитогенетическим методом. Другие исследователи аналогичным FISH анализом, но с применением других ДНК-проб выявили хромосомный мозаицизм в 33% случаев синдрома Дауна [23].

Было также показано, что обнаружение при цитогенетическом исследовании одной клетки с кариотипом, отличающимся от преобладающей клеточной линии, может говорить о мозаичной форме синдрома. Так, в 2 случаях наличия нормальной клетки при основном анеуплоидном клоне мозаицизм подтвердился. Обнаружено также, что девочки с отдельными признаками синдрома Шерешевского — Тернера могут иметь «скрытый» мозаицизм с присутствием клона 45, X, который был выявлен у 3 из 7 девочек. В связи с этим

в подобных ситуациях рекомендуется проведение у детей молекулярно-цитогенетического исследования.

После проведенного FISH исследования соотношение полов в группе детей с хромосомным мозаицизмом составило 4/17 (0,24), т.е. мозаичные формы хромосомных аномалий наблюдались приблизительно в 4 раза чаще у девочек. Анализ соотношения полов у детей с синдромом Дауна показал, что при регулярных формах трисомии 21 наблюдается преобладание мужского пола — 13/8 (1,63), тогда как мозаичная форма трисомии 21 встречается чаще у девочек — 3/4 (0,75), что соответствует данным литературы [32]. Мозаичная анеуплоидия хромосомы X в нашем исследовании была обнаружена только у пациентов женского пола.

Результаты данного исследования позволили определить показания для проведения молекулярно-цитогенетической диагностики больным детям с целью выявления скрытого мозаицизма. В проведении FISH исследования для обнаружения возможного мозаицизма нуждаются пациенты со стертой клинической картиной таких хромосомных синдромов, как Дауна, Эдвардса, Шерешевского — Тернера, трисомия X, а также девочки с дисгенезией гонад при нормальном кариотипе, определенном цитогенетическим методом.

Установленный в исследовании удельный вес хромосомного мозаицизма 5,9% среди всех обследованных детей, вероятно, является минимальным значением. Скрининговые исследования детей с задержкой развития, врожденными пороками и/или малыми аномалиями развития для выявления хромосомного мозаицизма с применением ДНК проб на несколько, наиболее часто вовлеченных в анеуплоидию хромосом сопряжены с определенными материальными трудностями, и в мире такие работы не проводились. Известно единственное FISH исследование группы мальчиков с аутизмом при использовании ДНК проб на несколько хромосом (1, 9, 15, 16, 17, 18, X и Y), которое позволило определить низкопроцентный мозаицизм по хромосомам X, 9, 15, 16 и 18 у 16% детей [12]. Мы считаем, что дополнительное молекулярно-цитогенетическое FISH исследование нужно осуществлять прежде всего исходя из анализа симптомокомплекса больного ребенка. В настоящее время имеются уникальные молекулярно-цитогенетические методы диагностики мозаичных форм хромосомных аномалий. Можно надеяться, что выявление хромосомного мозаицизма различными лабораториями мира позволит установить истинную частоту этих форм хромосомных синдромов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Чернышов В.Н. Хромосомные синдромы и аномалии. Классификация и номенклатура. Ростов-на-Дону: Молот, 1999. 192 с.
2. Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Чернышов В.Н. Медицинская цитогенетика (учебное пособие). М.: Медпрактика-М, 2006. 300 с.
3. Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б. Молекулярно-цитогенетическая пре- и постнатальная диагностика хромосомной патологии // Вестн. РАМН. 1999. № 11. С. 12—15.
4. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Yurov Y.B. Chromosomal mosaicism goes global // Mol. Cytogen. 2008. 1:26 doi: 10.1186/1755-8166—26.
5. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Yurov Y.B. Intercellular genomic (chromosomal) variations resulting in somatic mosaicism: mechanisms and consequences // Current Genomics. 2006. Vol. 7. P. 435—446.
6. Schinzel A. Catalogue of unbalanced chromosome aberrations in man. Walter de Gruyter Inc., Berlin, 2001. 966 p.
7. Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Александров И.А. и др. Молекулярно-цитогенетическая диагностика наследственных болезней, связанных с различными аномалиями хромосом X // Педиатрия. 1989. № 1. С. 76—80.
8. 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. С. 31—36.
9. Basaran N., Berkil H., Ay N. et al. A rare case: mosaic trisomy 22 // Ann. Genet. 2001. Vol. 44. P. 183—186.
10. Mark H.F., Bier J.A. Disappearing trisomy 8 mosaicism // Ann. Clin. Lab. Sci. 1997. Vol. 27. P. 293—298.
11. Wiktor A., Van Dyke D.L. FISH analysis helps identify low-level mosaicism in Ullrich-Turner syndrome patients // Genet. Med. 2004. Vol. 6. P. 132—135.
12. Yurov Y.B., Vorsanova S.G., Iourov I.Y. et al. Unexplained autism is frequently associated with low-level mosaic aneuploidy // J. Med. Genet. 2007. Vol. 44. P. 521—525.
13. Soloviev I.V., Yurov Y.B., Vorsanova S.G. et al. Prenatal diagnosis of trisomy 21 using interphase fluorescence in situ hybridization of postreplicated cells with site-specific cosmid contig probes // Prenat. Diagn. 1995. Vol. 15. P. 237—248.
14. Vorsanova S.G., Yurov Y.B., Soloviev I.V. et al. Molecular-cytogenetic diagnosis of chromosomal anomalies in genetic counseling // Cs. Pediatr. 1997. № 7. P. 538—544.
15. 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 analysis by FISH. In: Early prenatal diagnosis, fetal cells and DNA in mother, present state and perspectives. M.Sr. Macek, D.Bianchi, H. Cuckle (eds). Prague, 2002. P. 275—283.
16. Юров Ю.Б. Молекулярная цитогенетика гетерохроматиновых районов в геноме человека. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 1987. 33 с.
17. Юров Ю.Б., Александров И.А., Миткевич С.П. и др. Молекулярные маркеры для гетерохроматиновых районов человека. М.: Наука, 1989. С. 63—73.
18. Yurov Y.B., Soloviev I.V., Vorsanova S.G. et al. DNA probes for pre- and postnatal diagnosis of chromosomal anomalies: a collection for FISH analysis // Cs. Pediatr. 1997. № 7. P. 550—554.
19. Соловьев И.В., Юров Ю.Б., Ворсанова С.Г. и др. Исследования альфа-сателлитных ДНК в составе космидных би-

- биотек, специфичных для хромосом 13, 21 и 22, с помощью флюоресцентной гибридизации *in situ* // Генетика. 1998. № 11. С. 1470—1479.
20. Soloviev I.V., Yurov Y.B., Ioannou P. et al. Identification and molecular-cytogenetic characterization of large subset of human plasmids, cosmids PAC and YAC clones: the search of DNA probes for pre- and postnatal diagnosis // *Cs. Pediatr.* 1997. Vol. 52. P. 529—538.
21. 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. Vol. 16. P. 115—116.
22. Yurov Y.B., Soloviev I.V., Vorsanova S.G. et al. High resolution multicolor fluorescence *in situ* hybridization using cyanine and fluorescein dyes: ultra rapid chromosome detection by directly fluorescently-labeled alphoid DNA probes // *Hum. Genet.* 1996. Vol. 97. P. 390—398.
23. Modi D.N., Berde P., Bhartiya D. Down syndrome: a study of chromosomal mosaicism // *Reprod. BioMed. Online*. 2003. Vol. 6. P. 499—503.
24. Vorsanova S.G., Kolotii A.D., Iourov I.Y. et al. Evidence for high frequency of chromosomal mosaicism in spontaneous abortions revealed by interphase FISH analysis // *J. Histochem. Cytochem.* 2005. Vol. 53. P. 375—380.
25. Guttenbach M., Koschorz B., Bernthaler U. et al. Sex chromosome loss and aging: *in situ* hybridization studies on human interphase nuclei // *Am. J. Hum. Genet.* 1995. Vol. 57. P. 1143—1150.
26. Peschka B., Leygraaf J., Van der Ven K. et al. Type and frequency of chromosome aberrations in 781 couples undergoing intracytoplasmic sperm injection // *Hum. Reprod.* 1999. Vol. 4. P. 2257—2263.
27. Sonntag B., Meschede D., Ullmann V. et al. Low-level sex chromosome mosaicism in female partners of couples undergoing ICSI therapy does not significantly affect treatment outcome // *Hum. Reprod.* 2001. Vol. 16. P. 1648—1652.
28. Колотий А.Д., Ермаков А.Ю., Белоусова Е.Д., Демидова И.А. Кольцевая хромосома 14 у мальчика 2 лет с задержкой психомоторного развития, судорогами и миопатией // *Рос. вестн. перинатол. и педиатр.* 1999. № 2. С. 53—54.
29. Колотий А.Д., Бердникова Е.К., Кешишян Е.С. и др. Случай кольцевой хромосомы 11 у девочки 10 мес: использование методов молекулярно-цитогенетической диагностики. Мат. II Росс. конгресса «Современные технологии в педиатрии и детской хирургии». М., 2003. С. 145—146.
30. ISCN, 2009. An international system for human cytogenetic nomenclature. L.G. Shaffer, M.L. Slovak, L.J. Campbell, S. Karger (eds.). Basel, 2009. 138 p.
31. La Marche P.H., Heisler A.B., Kronemer N.S. Disappearing mosaicism. Suggested mechanism is growth advantage of normal over abnormal cell population // *Rhode Island. Med. J.* 1967. Vol. 50. P. 184—189.
32. Ковалева Н.В. Соотношение полов при синдроме Дауна // *Цитология и генетика*. 2002. № 6. С. 54—69.

Поступила 04.06.10

Применение ритуксимаба для лечения детей с резистентной формой нефротического синдрома

Rituximab for refractory cases of childhood nephrotic syndrome

J.A. Kari, S.M. El-Morshedy, S. El-Desoky, H.O. Alshaya, K.A. Rahim, B.M. Edrees

Pediatr Nephrol 2011 Jan 31. DOI: 10.1007/s00467-011-1778-0

На протяжении последнего десятилетия ритуксимаб используется как препарат экстренной помощи при лечении детей с резистентной формой нефротического синдрома. В статье описан опыт применения ритуксимаба у 4 детей с идиопатическим стероидрезистентным нефротическим синдромом с различными гистологическими диагнозами: 2 случая фокального сегментарного гломерулосклероза, 1 случай — IgM-зависимой нефропатии, 1 случай — болезни минимальных изменений (липоидный склероз). Все больные были резистентны к иммуносупрессивной терапии. Средний возраст детей составил 10 (8—11) лет.

Исследования показали отсутствие генетической мутации NPHS2 у всех больных. Все пациенты получили по одной дозе ритуксимаба (375 мг/м²), что привело к полному истощению фонда В-клеток. Так, уровень CD19 через 3 мес после инфузий ритуксимаба составил <1%. Лишь в одном случае не удалось достигнуть стойкой ремиссии, так как через 4 мес был выявлен рецидив, несмотря на отсутствие CD19. Пациенты в дальнейшем не получали дополнительных доз ритуксимаба, так как фракция В-клеток в системе периферического кровообращения была исчерпана. Следовательно, можно сделать вывод о неэффективности однократного введения ритуксимаба для достижения стойкой ремиссии у детей с идиопатическим стероидрезистентным нефротическим синдромом, несмотря на полное отсутствие В-клеток в периферическом кровообращении, а применение ритуксимаба в больших дозировках может быть показано для разрушения нециркулирующих фракций В-клеток.

Референт И.М. Османов