

О.Г. Новосёлова, Г.А. Каркашадзе, Н.В. Журкова, О.И. Маслова

Научный центр здоровья детей, Москва, Российская Федерация

## Перспективы диагностики расстройств аутистического спектра у детей

### Contacts:

Novoselova Olga Grigor'evna, junior research scientist of the Laboratory of Molecular and Genetic Diagnostics of the Laboratorial Department of SCCH

Address: bld. 1, 2, Lomonosovskii Avenue, Moscow, RF, 119991, Tel.: (495) 134-70-01, e-mail: lgnovoselova@gmail.com

Article received: 30.01.2014, Accepted for publication: 25.06.2014

В статье раскрывается актуальность проблемы расстройств аутистического спектра у детей и современный взгляд на этиологию и патогенез данных состояний. Рассматривается классификация аутизма согласно принятой в России Международной классификации болезней 10-го пересмотра и важные изменения нового классификатора Американской психиатрической ассоциации, касающиеся расстройств аутистического спектра. Упоминаются сложности, связанные диагностикой расстройств аутистического спектра у детей, коморбидность аутизма и ряда других психиатрических нозологий и необходимость тщательной дифференциальной диагностики в кругу этих заболеваний. Расстройства аутистического спектра представлены с точки зрения клинической генетики, доказывается необходимость медико-генетического консультирования при постановке диагноза. Дается определение комплексного и эссенциального аутизма. В группе комплексного аутизма выделен ряд распространенных генетических синдромов с описанием клинической картины и молекулярно-генетических механизмов, лежащих в основе патогенеза. Раскрываются сложности молекулярно-генетического подтверждения диагноза, приведены алгоритм поиска мутаций и краткое описание методов диагностики. В группе детей с эссенциальным аутизмом продемонстрирована эффективность стандартной процедуры молекулярно-генетической диагностики на каждом этапе, согласно литературным данным. На примере распространенных микроделеционных и микродупликационных синдромов освещены возможности и преимущества метода хромосомного микроматричного анализа как одного из доступных современных методов молекулярно-генетической диагностики в группе детей с расстройствами аутистического спектра.

**Ключевые слова:** расстройства аутистического спектра, хромосомный микроматричный анализ, субмикроскопические перестройки, вариации копийности генов.

(Вопросы современной педиатрии. 2014; 13 (3): 61–68)

На протяжении нескольких десятилетий расстройства аутистического спектра являются актуальной проблемой мирового масштаба по ряду медицинских и сопряженных с ними научных дисциплин. Аутизм по мере новых нейрофизиологических, нейропсихологических, фармакологических и генетических достижений в его изучении открывает перед исследователями все

новые задачи, что поддерживает постоянный научный интерес к его изучению [1–3].

В связи с неоднозначными подходами к оценке аутистических расстройств в разных странах распространенность аутизма у детей колеблется от 4 до 26 случаев на 10 тыс. детского населения. Распространенность у мальчиков в 4–4,5 раза выше, чем у девочек. Важно

O.G. Novosyolova, G.A. Karkashadze, N.V. Zhurkova, O.I. Maslova

Scientific Centre of Children Health, Moscow, Russian Federation

## Prospects of Diagnostics of Autism Spectrum Disorders in Children

The relevance of a problem of autism spectrum disorder in children and the modern view on etiology and pathogenesis of these states are revealed in the article. Autism classification according to the International classification of diseases of the 10th revision adopted in Russia and important changes of a new classifier of the American psychiatric association concerning autism spectrum disorders are considered. The difficulties connected with diagnostics of autism spectrum disorders in children, autism comorbidity and some other psychiatric nosologies and the necessity of detailed differential diagnostics for a circle of these diseases are mentioned. Autism spectrum disorders are presented from the point of view of clinical genetics, the necessity of medical genetic consultation in diagnosing is proved. Definition of complex and essential autism is given. A number of widespread genetic syndromes with the description of clinical characteristics and molecular genetic mechanisms underlying the pathogenesis is allocated in the group of complex autism. Difficulties of molecular genetic confirmation of the diagnosis are revealed, the algorithm of search of mutations and the short description of methods of diagnostics are given. The efficiency of standard procedure of molecular genetic diagnostics at each stage, according to literary data, is shown in the group of children with essential autism. The opportunities and advantages of a method of the chromosomal micromatrix analysis as one of available modern methods of molecular genetic diagnostics in the group of children with autism spectrum disorders are highlighted on the example of extended microdeletion and microduplicational syndromes.

**Key words:** autism spectrum disorder, chromosomal micromatrix analysis, submicroscopic rearrangements, variations of abundance of genes.

(Voprosy sovremennoi pediatrii — Current Pediatrics. 2014; 13 (3): 61–68)

отметить, что формально распространенность расстройств аутистического спектра в мире растет: 1/2000–1/2500 детского населения — до 1990-х гг., 1/476–1/323 — в 1990-е гг., 1/91–1/169 — после 2000-го. Анализ данных позволяет заключить, что «эпидемия аутизма» не отражает истинного увеличения заболеваемости, а объясняется большей осведомленностью общества и врачей, а также расширением диагностических критериев. Согласно результатам последних исследований, только 30% детей с расстройствами аутистического спектра являются умственно отсталыми, тогда как в более ранних исследованиях таких детей было до 70%. Это может свидетельствовать о том, что многие дети с легкими проявлениями заболевания не были учтены в прошлые годы [4–9].

Этиология и механизм развития расстройств аутистического спектра (РАС) изучены недостаточно, однако очевидна их гетерогенность. На развитие заболевания влияет множество факторов. Согласно современным представлениям, в основе патогенеза РАС лежит нарушение развития головного мозга. Существует связь РАС с мутациями в генах, участвующих в образовании синаптических связей между нейронами головного мозга. РАС наблюдаются при заболеваниях, сопровождающихся патологией метаболизма (фенилкетонурия, синдром Смита–Лемли–Опитца) или органическими поражениями вещества головного мозга (туберозный склероз,

нейрофиброматоз). Частота РАС при этих заболеваниях весьма высока [8–12].

Исследования монозиготных близнецов показали существенную роль наследственной предрасположенности в развитии заболевания: конкордантность равна 60–90%, а распространенность среди сиблингов и дизиготных близнецов — 2–3%, что выше популяционных рисков. Таким образом, есть основания полагать, что наследование определенных генов, хромосомных аберраций предрасполагает к развитию РАС и ассоциированных психических заболеваний, но реализуется эта предрасположенность в присутствии других генетических и средовых факторов [10–12].

Согласно используемой в Российской Федерации Международной классификации болезней 10-го пересмотра, детский аутизм относится к общим расстройствам психологического развития. Главным проявлением этой группы расстройств является триада признаков: качественные отклонения в социальных взаимодействиях, в показателях коммуникабельности, а также ограниченные, стереотипные, повторяющиеся комплексы интересов и действий. В табл. 1 представлены основные формы нозологий из группы аутистических расстройств.

В 2013 г. официально вступило в действие «Руководство по диагностике и статистике психических расстройств V пересмотра» Американской психиатрической ассоциации (DSM-V) [13]. Одно из важных изменений

**Таблица 1.** Основные нозологии из группы аутистических расстройств по МКБ-10

<b>F84.0 Детский аутизм</b>
Тип общего нарушения развития, который определяется наличием: а) аномалий и задержек в развитии, проявляющихся у ребенка в возрасте до 3 лет; б) психопатологических изменений во всех трех сферах — эквивалентных социальных взаимодействиях, функциях общения и поведения, которое ограничено, стереотипно и монотонно. Характерны фобии, расстройства сна и приема пищи, вспышки раздражения и направленная на себя агрессивность
<b>F84.1 Атипичный аутизм</b>
Тип общего нарушения развития, отличающийся от детского аутизма возрастом, в котором начинается расстройство (аномалии и задержки в развитии проявились у ребенка старше 3 лет), или отсутствием (недостаточно демонстративной выраженностью) триады патологических нарушений, необходимой для постановки диагноза детского аутизма. Атипичный аутизм чаще всего развивается у детей с глубокой задержкой развития или имеющих тяжелое специфическое рецептивное расстройство развития речи
<b>F84.2 Синдром Ретта</b>
Генетически обусловленное состояние, обнаруживаемое только у девочек, при котором явно нормальное раннее развитие осложняется частичной или полной утратой речи, локомоторных навыков, замедлением роста головы. Нарушения возникают в возрастном интервале от 7 до 24 мес жизни. Почти неизменно отмечается тяжелая умственная отсталость
<b>F84.3 Другое дезинтегративное расстройство детского возраста</b>
Тип общего нарушения развития, для которого характерно наличие периода абсолютно нормального развития до проявления признаков расстройства, сопровождаемого выраженной потерей приобретенных к тому времени навыков, касающихся различных областей развития. Потеря происходит в течение нескольких месяцев после развития расстройства. Обычно это сопровождается выраженной утратой интереса к окружающему, стереотипным, монотонным двигательным поведением и характерными для аутизма нарушениями в сфере социальных взаимодействий и функций общения
<b>F84.4 Гиперактивное расстройство, сочетающееся с умственной отсталостью и стереотипными движениями</b>
Это категория, к которой относят группу детей с выраженной умственной отсталостью (IQ ниже 50), проявляющих гиперактивность, нарушение внимания, а также стереотипное поведение. В подростковом возрасте гиперактивность имеет тенденцию сменяться сниженной активностью (что нетипично для гиперактивных детей с нормальным интеллектом). Данный синдром часто связан с различными отставаниями в развитии общего или специфического характера
<b>F84.5 Синдром Аспергера</b>
Расстройство неопределенной нозологии, характеризующееся такими же качественными аномалиями социальных взаимодействий, какие характерны для аутизма, в сочетании с ограниченностью, стереотипностью, монотонностью интересов и занятий. Отличие от аутизма состоит в первую очередь в том, что отсутствует обычная для него остановка или задержка развития речи и познания. Это расстройство часто сочетается с выраженной неуклюжестью

нового классификатора — это появление в нем категории «расстройства аутистического спектра» взамен существовавших в DSM-IV диагнозов аутизма, синдрома Аспергера, дезинтегративного расстройства детского возраста и неуточненного общего расстройства развития — все они уже не используются при постановке диагноза. В новом руководстве нарушения при аутизме сводят к двум критериям: нарушению социальной коммуникации и ограниченному и повторяющемуся поведению. Все симптомы рассматривают как континуум, спектр проявлений — от легких до тяжелых форм. В новой классификации нет ограничения первыми тремя годами жизни. Диагноз может быть поставлен и позже, однако оговаривается, что первые симптомы заболевания должны проявиться в раннем возрасте, даже если они длительное время остаются нераспознанными.

Группа детей с РАС клинически и этиологически гетерогенна: умственная отсталость, по разным данным, встречается у 30–70% детей, судорожный синдром отмечают у 25%, часто регистрируют патологическую активность на электроэнцефалограмме. Существуют данные о наличии тех или иных структурных аномалий головного мозга, обнаруженных методом магнитно-резонансной томографии у 40% детей из группы несиндромального аутизма с судорожным синдромом. Превышение порога стигматизации встречается у 15–20% людей с РАС и предвещает плохой ответ на раннюю интенсивную поведенческую терапию. Микроцефалия имеет место у 5–15% детей с РАС и также является прогностически неблагоприятным признаком [7–12, 14, 15].

Таким образом, большая часть традиционных для психоневрологии клинико-лабораторных техник диагностики, привнося важные дополнения в клиническую картину патологического состояния, не описывает критериев постановки диагноза. Это оставляет на субъективное трактование врачей и родителей такие понятия, как уровень социального взаимодействия, коммуникабельности, психического развития и пр. Субъективизм таких оценок особенно выражен в случаях с детьми дошкольного возраста. В связи с этим в клинической практике детского психоневролога и психиатра представляет определенную сложность дифференциальная диагностика аутистического расстройства с изолированной умственной отсталостью (в структуре наследственных олигофрений, органических поражений центральной нервной системы гипоксического, метаболического и другого генеза), особенно если последняя сопровождается гиперактивностью и повторяющимися действиями. В последние годы появилось много работ, свидетельствующих о том, что клинические проявления РАС (психопатологические, нейропсихологические, нейровизуализационные) имеют ряд общих черт с такими нозологиями, как биполярное аффективное расстройство, шизофрения и синдром дефицита внимания с гиперактивностью [16–20]. М. Рой и соавт. обследовали 53 взрослых пациента с первичным диагнозом «Синдром дефицита внимания с гиперактивностью», у 8 из которых в процессе исследования был диагностирован синдром Аспергера, что составило 15,1%, значительно превышая популяционную распространенность синдрома Аспергера, равную 0,006%. По мнению

авторов работы, исследователи должны быть осведомлены о коморбидности этих заболеваний, поскольку РАС редко диагностируют у взрослых пациентов, если они не были заподозрены в детстве, а проявления высокофункционального аутизма не так заметны в детском возрасте по сравнению с ранним детским аутизмом [21]. Перекрестная симптоматика обуславливает сложности постановки диагноза и указывает на необходимость проведения тщательной дифференциальной диагностики в группе этих заболеваний [16–18].

В диагностике аутизма важная составляющая принадлежит молекулярно-генетическим исследованиям. С позиций клинической генетики в зависимости от оценки фенотипа аутизм может быть разделен на комплексный и эссенциальный (несиндромальный) [14, 15].

Эссенциальный аутизм составляет 70–80% РАС. Дети с таким диагнозом не являются дизморфичными, среди них больше мальчиков (соотношение мужского пола к женскому равно 6,5:1); как правило, есть и другие члены семьи с РАС или аутизмассоциированными заболеваниями, такими как алкоголизм и депрессия. Прогноз социализации среди этой группы достаточно высок [14, 15].

У 20–30% детей с РАС имеет место комплексный аутизм, который характеризуется наличием малых аномалий развития (более 5–6 стигм) и/или микроцефалией; признаками, указывающими на нарушение раннего морфогенеза, в т.ч. закладки и развития головного мозга. Комплексный аутизм связан с худшим прогнозом, более низким соотношением мужского и женского пола (3,2:1), меньшей вероятностью повторного рождения ребенка с подобными проявлениями в семье по сравнению с эссенциальным аутизмом [14, 15]. Можно предположить, что комплексный аутизм чаще связан с мутациями, возникшими *de novo*, а не с унаследованными от родителей, и большим процентом X-сцепленных состояний. Около 10% детей из этой группы имеют синдромальную патологию, т.е. анализ фенотипа и клинической картины заболевания позволяет установить генетический диагноз. К самым распространенным, а потому хорошо известным генетическим синдромам, ассоциированным с РАС, относятся синдромы Дауна, Мартина–Белл (синдром ломкой X-хромосомы у мальчиков), Ретта (у девочек), Смит–Магенис, Ангельмана, Корнелии де Ланге, делеции 22q11.2, Клифстра, Вильямса [22–25]. Краткое описание синдромов представлено в табл. 2.

Таким образом, при подозрении на наличие у ребенка аутистического расстройства проведение молекулярно-генетической диагностики обязательно для постановки диагноза. Точный диагноз определяет эффективность медико-генетического консультирования, позволяет оценить вероятность повторного рождения ребенка с подобным заболеванием в семье, дать прогноз развития заболевания и жизни ребенка. Кроме того, учитывая клиническую гетерогенность аутистических расстройств и трудности дифференциальной диагностики с другими психическими заболеваниями, а также определенную субъективность традиционного клинического осмотра, на генетическую диагностику может возлагаться роль объективного критерия постановки диагноза аутистического расстройства.

**Таблица 2.** Генетические синдромы, ассоциированные с расстройствами аутистического спектра

<b>Синдром Мартина–Белл (Xq27.3, ген <i>FMR1</i>)</b>
Самое частое генетическое состояние, диагностируемое у лиц мужского пола с расстройствами аутистического спектра (0,46–2% всех пациентов с расстройствами аутистического спектра). Характеризуется ускоренными темпами постнатального развития. Это рослые, физически развитые мальчики с крупной головой, высоким выступающим лбом, большими оттопыренными ушами. В подростковом возрасте происходит увеличение размеров нижней челюсти, из-за чего лицо становится более вытянутым. Темпы полового развития также ускорены, макроорхизм при отсутствии изменений со стороны эндокринной системы. Умственная отсталость различной степени выраженности. К поведенческим особенностям относятся двигательная расторможенность, выраженная аффективная возбудимость, агрессивность. Речь быстрая, невнятная, эхолалия
<b>Синдром Ретта (Xq28, ген <i>MECP2</i>)</b>
Страдают девочки, которые нормально развиваются до возраста 6–18 мес. Затем происходит постепенная утрата ранее приобретенных моторных и речевых навыков, что сочетается с разнообразной неврологической симптоматикой (атактический синдром, апраксия, судорожный синдром, спастичность в сочетании с дистонией и атрофией мышц). Характерны стереотипные, однообразные движения рук (потирание, заламывание). В течение 1,5 лет с момента начала заболевания развивается деменция, микроцефалия, аутизм
<b>Синдром Смит–Магенис (17p11.2, ген <i>RAI1</i>)</b>
На первом году жизни дети плохо прибавляют в весе и росте, характерна мышечная гипотония, задержка моторного и речевого развития. Специфический фенотип чаще формируется к старшему детскому или подростковому возрасту (плоское широкое лицо с гипоплазией средней части, широкая переносица, выпуклый лоб, приоткрытый рот с шатровидной верхней губой). Часто наблюдается нарушение ритма сна (раннее засыпание, прерывистый сон, очень раннее утреннее пробуждение и сонливость в течение дня), что связано с инверсией суточного ритма секреции мелатонина
<b>Синдром Ангельмана (синдром «счастливой куклы») (15q11.2–q13, ген <i>UBE3A</i>)</b>
Отличительными внешними признаками являются микроцефалия, глубоко посаженные глаза, большой рот, выступающая вперед нижняя челюсть. Раннее психомоторное развитие идет с задержкой, в дальнейшем формируется глубокая умственная отсталость. Походка таких детей атактичная, ноги широко расставлены, существует характерное положение рук: они подняты и согнуты в локтевых и лучезапястных суставах, в связи с чем движения напоминают движения куклы-марионетки. Фон настроения повышен, дети легко провоцируются, или же у них спонтанно возникают приступы смеха
<b>Синдром Прадера–Вилли (15q11.2–q13)</b>
В первые месяцы жизни наблюдается выраженная мышечная гипотония вплоть до атонии, снижение рефлексов, что затрудняет кормление. К году мышечная гипотония постепенно убывает. Начиная со второго полугодия жизни и до 6 лет развивается полифагия, больные постоянно испытывают голод, формируется ожирение, вызванное перекармливанием, неконтролируемым аппетитом и гиподинамией. Рост замедляется в первые месяцы жизни и становится очевидно низким в подростковом возрасте. Характерными фенотипическими особенностями являются миндалевидные глаза, узкий лоб, тонкая верхняя губа, светлая кожа, стопы и кисти рук диспропорционально маленькими, гипоплазия полового члена и мошонки, крипторхизм, а у девочек — гипоплазия половых губ. Психомоторное развитие с задержкой, в дальнейшем наблюдается умственная отсталость, чаще легкой или умеренной степени выраженности. Речь невнятная, словарный запас маленький. Больные доброжелательны, безынициативны, плохо контролируют свои эмоции
<b>Синдром делеции 22q11.2 (велокардиофациальный синдром, синдром Ди Джорджи) (22q11.2)</b>
Наиболее часто встречается триада признаков: 1) врожденные пороки сердца (74%), чаще дефект межжелудочковой перегородки и тетрада Фалло; 2) аномалии развития неба, в частности гипотония гортани, расщелина неба, расщепление язычка мягкого неба (69%), гнусавый голос при отсутствии воспалительных явлений в носоглотке; 3) особый лицевой фенотип: микроцефалия (40–50%), крупный нос с широкой квадратной переносицей и узкими ноздрями, короткие глазные щели, гипоплазия скуловых костей, длинная средняя часть лица, малые аномалии ушных раковин. Психомоторное развитие нормальное или слегка замедленное, при этом трудности в обучении испытывают 70–90% детей, часто наблюдается умственная отсталость легкой степени. Речь нарушена, ее развитие часто запаздывает. У 10% пациентов с этим синдромом в возрасте до 21 года манифестируют различные психические заболевания
<b>Синдром Корнелии де Ланге (5p13.2, ген <i>NIPBL</i> и др., 10q25.2, ген <i>SMC3</i> и др., Xp11.22 ген <i>SMC1</i> и др.)</b>
Характерна пре- и постнатальная задержка роста, отставание костного возраста от календарного. Микроцефалия, густые сросшиеся брови и длинные загнутые ресницы, маленький нос с открытыми вперед ноздрями и запавшей переносицей, тонкая верхняя губа, опущенные углы рта. Часто встречаются пороки развития верхних конечностей. В раннем возрасте наблюдается нарушение сосания, частые срыгивания, рвота фонтаном, затруднения жевания и глотания. Умственная отсталость средней или тяжелой степени. Дети малообщительны, избегают физического контакта, им свойственна скудная мимика и стереотипии в поведении, аутоагрессия
<b>Синдром Клифстра (9q34.3, ген <i>EHMT1</i>)</b>
Характерна брахицефалия, широкий лоб, плоское лицо, гипертелоризм глаз, короткий вздернутый нос. Рот часто приоткрыт, язык выглядывает наружу, что связано с особенностями челюстно-лицевой анатомии (макроглоссия, мясистая вывернутая нижняя губа, «карлий рот», прогнатизм нижней челюсти). Фенотип становится более выраженным с возрастом. С рождения наблюдается выраженная мышечная гипотония, задержка психомоторного развития, а затем — умственная отсталость средней и тяжелой степени, моторная неловкость, атаксия. Нарушения аутистического спектра, очевидные в раннем детском возрасте, могут быть представлены широким диапазоном проявлений от стереотипий и нарушения социализации до аутистической кататонии. В подростковом возрасте часто манифестируют психозы, нарушения поведения: гиперактивность с дефицитом внимания, проявления аутоагрессии. Характерны нарушения сна, частые пробуждения ночью или под утро, хождение во сне
<b>Синдром Вильямса (синдром «лица эльфа») (7q11.23)</b>
Своеобразное строение лица: широкий лоб, уплощенная переносица, короткий нос с открытыми вперед ноздрями, эпиант, отечность век, полные щеки и губы, звездчатый рисунок радужки. Грубый тембр голоса. Часто встречаются пороки развития сердца: надклапанный стеноз аорты, надклапанный стеноз легочной артерии, дефекты перегородок сердца. Дети с синдромом Вильямса отличаются когнитивными и поведенческими особенностями. В раннем возрасте характерно отставание в психомоторном и речевом развитии, в дальнейшем развивается умственная отсталость различной степени выраженности. Даже при значительном снижении интеллекта речь у детей довольно хорошая, больные имеют относительно большой словарный запас, словоохотливы, склонны к подражанию. Обладают особо развитым музыкальным слухом, также часто отмечается гиперакузия. Вместе с тем характерна слабость пространственно-зрительного восприятия, страдают организация и планирование деятельности. В число поведенческих особенностей входят повышенная тревожность, избегание контакта «глаза в глаза», стереотипии, нарушения сна. Дети с синдромом Вильямса чрезмерно общительны и открыты, однако им сложно формировать дружеские взаимоотношения, они часто не понимают эмоционального состояния и истинных мотивов поступков других людей, что обуславливает дефицит социализации и взаимной коммуникации

Долгие годы рекомендованным стандартом молекулярно-генетической диагностики детей с РАС являлось сочетание цитогенетических методов: исследование кариотипа и теста на ломкость X-хромосомы (для лиц мужского пола), что в 5% случаев при диагностике у детей с аутистическими расстройствами позволяло установить генетическую патологию [10–12]. К стандартным цитогенетическим методам диагностики относят кариотипирование с G-окрашиванием и флуоресцентную гибридизацию *in situ* (FISH).

Исследование кариотипа позволяет анализировать хромосомный набор в целом и определять крупные (более 100 kb) перестройки в них. При этом существует ряд ограничений, таких как трудоемкость, длительность исполнения (1–2 нед), высокие требования к квалификации и опыту специалиста, проводящего исследование, а также (в ряде случаев) технические проблемы — недостаточное количество и качество исследуемого материала, отсутствие митозов или роста культуры и пр.

FISH-диагностика — более современный и менее трудоемкий метод, состоящий в окрашивании хромосом набором флуоресцентных красителей, связывающихся со специфическими областями хромосом. В результате такого окрашивания гомологичные пары хромосом приобретают идентичные спектральные характеристики, что не только существенно облегчает выявление таких пар, но и способствует обнаружению межхромосомных транслокаций (транслоцированные участки имеют спектр, отличающийся от спектра остальной хромосомы). Методом FISH можно различать последовательности дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), находящиеся на расстоянии 50–100 kb друг от друга. Применение этого метода позволяет выявить патологические изменения в структуре хромосом у 3% детей с РАС.

Несбалансированные хромосомные перестройки в пределах диапазона разрешения двух этих методов являются крупными и, как правило, выявляются преимущественно у пациентов с РАС в сочетании с малыми аномалиями или пороками развития (т.е. в группе комплексного аутизма). У 1% детей этой группы цитогенетические изменения обнаруживают на 15q11–13. В большинстве случаев это унаследованная от матери (реже — от отца) дупликация участка хромосомы. Еще реже встречается делеция 2q37, делеция 7q31, делеция или дупликация 22q13 [26–29].

В случаях, когда фенотип ребенка позволяет заподозрить определенный синдром, возможно молекулярно-генетическое подтверждение диагноза. Необходимо отметить, что имеются сложности, связанные с генетической гетерогенностью ряда синдромов и различными генетическими механизмами, лежащими в основе одного и того же синдрома. Так, например, синдром Мартина–Белл связан с изменением структуры гена *FMR1*, расположенного на длинном плече X-хромосомы [24, 25]. Изменение функции этого гена может быть ассоциировано с тремя механизмами. Как правило, при данном заболевании обнаруживают увеличение числа тринуклеотидных повторов ЦГГ (цитозин-гуанин-гуанин) в промоторной области гена *FMR1*. Менее чем в 1% случаев встречаются большая делеция, обнаруживаемая

методом FISH, с частичной или полной утратой гена или точковые мутации (идентификация возможна путем секвенирования гена) [25].

Увеличение числа тринуклеотидных повторов можно обнаружить методом саузерн-блоттинга с использованием метилчувствительных рестриктаз (данный метод позволяет провести анализ метилирования ДНК). Саузерн-блоттинг (*southern blot analysis*) — метод идентификации специфических нуклеотидных последовательностей ДНК. Молекулы ДНК с помощью рестриктирующих ферментов разделяются на небольшие фрагменты. Эти фрагменты отделяют друг от друга методом электрофореза, и с помощью генного зонда производят поиск идентичных участков ДНК. Секвенирование гена позволяет «прочитать» последовательность нуклеотидов, выявляя инсерции, делеции, дупликации или замены одного нуклеотида на другой.

Метилирование генов — механизм эпигенетической регуляции, позволяющий, не изменяя структуру гена, управлять его экспрессией путем присоединения метильной группы к специфическим регуляторным участкам, активируя или блокируя таким образом синтез белка, кодируемого этим геном. Одни и те же гены могут быть по-разному метилированы на сестринских хромосомах в зависимости от родительского происхождения. Указанный механизм лежит в основе болезней импринтинга, к которым относятся синдромы Ангельмана и Прадера–Вилли. Оба этих синдрома связаны с изменениями одного и того же критического региона хромосомы 15 (15q11–q13), и форма заболевания зависит от пола родителя, передавшего дефектную хромосому. Однако необходимо иметь в виду, что так же, как и в случае с синдромом Мартина–Белл, существует несколько путей развития этих генетических состояний: делеция критического региона, однородительская дисомия по хромосоме 15, мутация центра импринтинга [24, 25].

Схожие специфические сложности связаны и с диагностикой других синдромов. Синдром Смит–Магенис в 95% случаев связан с делецией 17p11.2, которую можно определить методом FISH, а в 5% случаев методом секвенирования выявляется точечная мутация гена *RAI1*, расположенного в этом регионе. Синдром Корнелии де Ланге генетически гетерогенен: в настоящий момент описано по крайней мере 3 гена (*NIPBL*, *SMC1A* и *SMC3*), изменения в которых обнаруживают в 70% случаев, причем могут встречаться как точковые мутации, так и крупные делеции всего гена или его части [24, 25].

Применение перечисленных методов молекулярно-генетической диагностики целесообразно, если у ребенка имеется комплекс малых аномалий и пороков развития, позволяющих заподозрить генетическое синдромальное состояние, что определяет алгоритм поиска мутаций. Однако большая часть детей с РАС не являются дизморфичными и не имеют пороков развития, ассоциированных с известными генетическими синдромами [14, 15]. Это не позволяет определить круг диагностического поиска и выбрать метод молекулярно-генетической диагностики, что ограничивает выявление генетической патологии у большинства кандидатов из группы РАС.

В последние годы в практику ведущих мировых генетических центров стали активно внедрять метод хромо-

**Таблица 3.** Распространенные субмикроскопические делеции и дупликации, ассоциированные с расстройствами аутистического спектра, и вариабельность клинических проявлений (при больших размерах делеций и дупликаций возможна FISH-диагностика)

Локализация	Делеция	Дупликация
1q21	Макроцефалия, высокий лоб, гипертелоризм глаз, гипоплазия мозолистого тела и червя мозжечка, катаракта. Умственная отсталость легкой и средней степени, расстройства аутистического спектра, трудности в обучении, шизофрения, судорожный синдром	Микроцефалия, высокий лоб, глубоко посаженные глаза, грушевидный нос, укорочение первого пальца верхних и нижних конечностей, удвоение/расщепление пятого пальца стопы, двустворчатый аортальный клапан, общий артериальный ствол, транспозиция магистральных сосудов, коарктация аорты. Умственная отсталость легкой и средней степени, расстройства аутистического спектра, шизофрения, судорожный синдром
2p16.3	Треугольное или вытянутое лицо, длинный фильтр, аномалии позвоночника, страбизм, пигментные невусы. Умственная отсталость, расстройства аутистического спектра, судорожный синдром	Умственная отсталость, расстройства аутистического спектра, задержка речевого развития, агрессивное поведение, судорожный синдром
2q13	Оттопыренные уши, покатый лоб, аномалии зубов, высокая граница роста волос на лбу. Умственная отсталость, расстройства аутистического спектра	Умственная отсталость, расстройства аутистического спектра, задержка речевого развития, гиперактивность
2q37.3	Аномалии скелета, аномалии лица. Умственная отсталость, расстройства аутистического спектра, гиперактивность, задержка речевого развития, судорожный синдром	Расстройства аутистического спектра, задержка речевого развития
3p26.3	Умственная отсталость, расстройства аутистического спектра	Расстройства аутистического спектра
3q29	Расстройства аутистического спектра	Телекант, микропенис. Умственная отсталость, расстройства аутистического спектра
4q35.2	Расстройства аутистического спектра	Умственная отсталость тяжелой степени, расстройства аутистического спектра
5q35.3	Расстройства аутистического спектра	Низкий рост, микроцефалия. Расстройства аутистического спектра, агрессивное поведение, задержка речевого развития
7q11.22	Широкая переносица, широкий лоб, антимонголоидный разрез глаз, гипоспадия. Умственная отсталость, расстройства аутистического спектра, задержка речевого развития	–
7q11.23	Синдром Вильямса	Антимонголоидный разрез глаз, гипертелоризм, узкая спинка носа, короткий фильтр. Умственная отсталость тяжелой степени, расстройства аутистического спектра
7q36.2	Черепно-лицевые дизморфии. Умственная отсталость, расстройства аутистического спектра, задержка речевого развития, судорожный синдром	–
8p23.1	Патология соединительной ткани, страбизм. Умственная отсталость тяжелой степени, расстройства аутистического спектра, судорожный синдром	Умственная отсталость, расстройства аутистического спектра, судорожный синдром
15q11–15q13	Синдром Прадера–Вилли. Синдром Ангельмана	Расстройства аутистического спектра
16p11.2	Умственная отсталость тяжелой степени, расстройства аутистического спектра, синдром дефицита внимания и гиперактивности, обсессивно-компульсивные расстройства, трудности в обучении	Микроцефалия. Умственная отсталость тяжелой степени, расстройства аутистического спектра, судорожный синдром
16p13.2	Высокий рост, макроцефалия, лицевые аномалии, низко посаженные уши, нарушение слуха. Умственная отсталость, расстройства аутистического спектра	Аномалии лица. Умственная отсталость тяжелой степени
16p13.11	Расстройства аутистического спектра, шизофрения	–
17p11.2	Синдром Смит–Магенис	Синдром Потоцки–Лупски: краниофациальный дизостоз, брахицефалия, множественные экзостозы, кожная синдактилия 2–5. Умственная отсталость, расстройства аутистического спектра
17q12	Высокий лоб, микрогнатия, крупные мочки ушей, высокие арковидные брови, аномалии развития почек, аномалии матки, нейросенсорная тугоухость, сахарный диабет. Умственная отсталость различной степени, расстройства аутистического спектра, шизофрения	Эпилепсия
17q21	Расстройства аутистического спектра	–
22q11.2	Велокардиофациальный синдром, синдром Ди Джорджи	Задержка роста, гипотония. Умственная отсталость
Xp22.31	–	Расстройства аутистического спектра, задержка речевого развития
Xq28	Ожирение. Умственная отсталость, расстройства аутистического спектра	Умственная отсталость, расстройства аутистического спектра

сомного микроматричного анализа. С помощью этого исследования можно выявить небольшие хромосомные перестройки, субмикроскопические делеции или дупликации хромосом (потери или увеличение числа копий генетического материала), невидимые при стандартном кариотипировании. Показаниями к микроматричному хромосомному анализу являются множественные врожденные пороки развития, задержка психомоторного развития и умственная отсталость, РАС, судорожный синдром, подтверждение и более точная диагностика ранее выявленных цитогенетических нарушений (несбалансированных хромосомных перестроек), анализ возможных сбалансированных перестроек хромосом у пациентов с патологическим фенотипом.

Методом хромосомного микроматричного анализа удается установить субмикроскопические хромосомные перестройки у 5–10% детей с эссенциальным и у 10–27,5% детей с комплексным аутизмом [12, 28, 30–32].

Анализ результатов хромосомного микроматричного анализа и соотнесение их с клинической картиной заболевания и фенотипом пациента позволяет сделать ряд выводов. Как возникшие *de novo*, так и переданные ребенку от родителей субмикроскопические делеции и дупликации являются распространенным фактором риска развития РАС. Более высокий риск связан с редкими вариантами изменения копийности генов по сравнению с более распространенными вариантами. Корреляция между величиной хромосомной перестройки, обнаруженной методом хромосомного микроматричного анализа, и клиническими проявлениями не обнаружена. При этом более грубый фенотип чаще ассоциирован с делециями (уменьшением копийности генов), чем с дупликациями. Риск развития РАС выше при мутациях, возникших *de novo*, по сравнению с унаследованными [29, 31]. С другой стороны, синдромы, ассоциированные с дупликациями (увеличением копийности генов), — довольно частое событие. При этом использование только FISH-диагностики, практиковавшейся в предыдущие годы, не позволяло диагностировать эти состояния. Возможности метода хромосомного микроматричного анализа позволили связать дупликацию «критического региона» синдрома Вильямса и дупликацию кластера генов, включая *MECP2*-ген (синдром Ретта), с умственной отсталостью и РАС. Мутации гена *MECP2* с потерей функции обуславливают развитие синдрома Ретта у лиц женского пола; эта мутация характеризуется пренатальной

летальностью для мальчиков. А дупликация этого участка проявляется у лиц мужского пола более грубым фенотипом, чем классический синдром Ретта у женщин [12]. Подобные распространенные варианты изменения числа копий генов, достоверно чаще встречающиеся в группе пациентов с РАС по сравнению с нормальной популяцией, представлены в табл. 3. Эти изменения не являются эксклюзивными для группы пациентов с аутистическими расстройствами, их также можно найти у родителей, что подтверждает участие в развитии заболевания многих факторов.

Хромосомный микроматричный анализ имеет наиболее высокую диагностическую ценность в группе пациентов с РАС. Во многих работах последних лет указывают на необходимость включения этого метода в стандарт диагностики для пациентов с РАС [19, 26, 27, 29, 32–34]. К ограничениям метода относятся невозможность детекции хромосомных aberrаций без изменения копийности генов (сбалансированные перестройки) и низкопороговый мозаицизм. Интерпретация результатов данного исследования не всегда однозначна, поскольку существуют как вновь возникшие, так и унаследованные изменения копийности генов, патогенность которых неизвестна, а также мутации, не описанные в литературе. Поэтому, если при проведении такого исследования обнаруживают хромосомные перестройки, их клиническую значимость проверяют по специализированным базам данных, и на основании этого делают вывод об их патогенности.

Благодаря современным научным разработкам, помимо стандартных цитогенетических и молекулярных методов диагностики генетика предлагает к применению в клинической медицине новый, более тонкий и самый эффективный в настоящее время инструмент молекулярно-генетической диагностики РАС у детей — хромосомный микроматричный анализ.

Внедрение этого метода диагностики в клиническую практику значительно увеличит верификацию генетической детерминации РАС у детей, что позволит оптимизировать весь комплекс медико-психологической помощи семье и ребенку. Диагностическая значимость метода будет увеличиваться по мере расширения его применения и накопления данных в специализированных базах. Новые сведения, которые будут получены с внедрением этой технологии в практику, внесут весомый вклад в понимание природы заболеваний, обогатив знания об их этиологии и патогенезе.

## REFERENCES

1. Baranov A. A., Maslova O. I., Namazova-Baranova L. S. *Vestnik RAMN — Annals of the RAMS*. 2012; 8: 26–34
2. Maslova O. I., Baranov A. A., Namazova-Baranova L. S., Karkashadze G. A., Mamed'yarov A. M., Anikin A. V., Kuzenkova L. M., Lazurenko S. B., Timofeeva A. G., Nemkova S. A., Antonova E. V., Il'in A. G. *Pediatrich. farmakol — Pediatric pharmacology*. 2012; 9 (6): 61–72.
3. Karkashadze G. A., Maslova O. I., Namazova-Baranova L. S. *Pediatrich. farmakol — Pediatric pharmacology*. 2011; 8 (5): 37–41.
4. Fombonne E. Is there an epidemic of autism? *Pediatrics*. 2001; 107 (2): 411–412.

5. Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network; Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network Surveillance Year 2006 Principal Investigators; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevalence of autism spectrum disorders — Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, United States. 2006. *MMWR. Surveill. Summ*. 2009; 58: 1–20.
6. Chakrabarti S., Fombonne E. Pervasive developmental disorders in preschool children: confirmation of high prevalence. *Am. J. Psychiatry*. 2005; 162: 1133–1141.
7. Simashkova N. V., Koval' Zaitsev A. A., Zvereva N. V., Khromov A. I. *Psikhatriya — Psychiatry*. 2010; 6: 5–15.

8. *Rasstroistva autisticheskogo spektra u detei. Pod red. N.V. Simashkovi* [Autism Spectrum Disorders in Children. Edited by N.V. Simashkova]. Moscow, Avtorskaya Akademiya, 2013. pp. 8–30.
9. *Psikhiatriya. Ruk-vo dlya vrachei. Pod red. A.S. Tiganova* [Psychiatry. Guideline. Edited by A.S. Tiganov]. Moscow, Meditsina, 2012. pp. 12–36.
10. Bacchelli E., Maestrini E. Autism spectrum disorders: molecular genetic advances. *Am. J. Med. Genet. C Semin. Med. Genet.* 2006; 142 (1): 13–23.
11. Noh H.J., Ponting C.P., Boulding H.C., Meader S., Betancur C., Buxbaum J.D., Pinto D., Marshall C.R., Lionel A.C., Scherer S.W., Webber C. Network topologies and convergent aetiologies arising from deletions and duplications observed in individuals with autism. *PLOS Genetics.* 2013; 9 (6): 1003523. Doi: 10.1371/journal.pgen.1003523.
12. Beaudet A.L. Baylor College of Medicine. The utility of chromosomal microarray analysis in developmental and behavioral pediatrics. *Child Dev.* 2013; 84 (1): 121–132. Doi: 10.1111/cdev.12050. Epub 2013 Jan 11.
13. American Psychiatric Association Fifth Edition of the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5) www.dsm5.org
14. Miles J.H., Takahashi T.N., Bagby S., Sahota P.K., Vaslow D.F., Wang C.H., Hillman R.E., Farmer J.E. Essential versus complex autism: definition of fundamental prognostic subtypes. *Am. J. Med. Genet. A.* 2005; 135: 171–180.
15. Miles J.H., Takahashi T.N., Hong J., Munden N., Flournoy N., Braddock S.R., Martin R.A., Bocian M.E., Spence M.A., Hillman R.E., Farmer J.E. Development and validation of a measure of dysmorphology: useful for autism subgroup classification. *Am. J. Med. Genet. A.* 2008; 146A: 1101–1116.
16. Hochstenbach R., Buizer-Voskamp J.E., Vorstman J.A., Ophoff R.A. Genome arrays for the detection of copy number variations in idiopathic mental retardation, idiopathic generalized epilepsy and neuropsychiatric disorders: lessons for diagnostic workflow and research. *Cytogenet. Genome. Res.* 2011; 135 (3–4): 174–202. Doi: 10.1159/000332928.
17. Rommelse N.N.J., Geurts H.M., Hartman C.A., Buitelaar J.K. Shared heritability of attention-deficit/hyperactivity disorder and autism spectrum disorder. *Eur. Child Adolesc. Psychiatry.* 2010; 19 (3): 281–295.
18. Rommelse N.N., Geurts H.M., Franke B., Buitelaar J.K., Hartman C.A. A review on cognitive and brain endophenotypes that may be common in autism spectrum disorder and attention-deficit/hyperactivity disorder and facilitate the search for pleiotropic genes. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2011; 35 (6): 1363–1396. Doi: 10.1016/j.neubiorev.2011.02.015.
19. McGrew S.G., Peters B.R., Crittendon J.A., Veenstra-Vander Weele J. Diagnostic Yield of Chromosomal Microarray Analysis in an Autism Primary Care Practice: Which Guidelines to Implement? *J. Autism Dev. Disord.* 2012; 42: 1582–1591.
20. Sagar A., Bishop J.R., Tessman D.C., Guter S., Martin C.L., Cook E.H. 2013. Co-occurrence of autism, childhood psychosis, and intellectual disability associated with a de novo 3q29 microdeletion. *Am. J. Med. Genet. Part A.* 2013; 161A: 845–849.
21. Roy M., Ohlmeier M.D., Osterhagen L., Prox-Vagedes V., Dillo W. Psychiatr Danub. Asperger Syndrome: a frequent comorbidity in first diagnosed adult ADHD patients? *Psychiatr. Danub.* 2013; 25 (2): 133–141.
22. Klein-Tasman B.P., Phillips K.D., Lord C.E., Mervis C.B., Gallo F. Overlap with the Autism Spectrum in Young Children with Williams Syndrome. *J. Dev. Behav. Pediatr.* 2009; 30 (4): 289–299.
23. Perminova G.A., Burdukova Yu.A., Stroganova T.A. *Vopr. psikhologii — Psychological issues.* 2010; 3: 20–30.
24. *Atlas redkikh boleznei. Pod red. A.A. Baranova, L.S. Namazovoi-Baranovi* [Atlas of Rare Diseases. Edited by A.A. Baranov, L.S. Namazova-Baranova]. Moscow, Pediatr, 2013. pp. 48–52; 116–124.
25. GeneReviews. Seattle (WA). Edited by R.A. Pagon. *University of Washington, Seattle.* 1993–2013.
26. Shen Y., Dies K.A., Holm I.A., Bridgemohan C., Sobeih M.M., Caronna E.B., Miller K.J., Frazier J.A., Silverstein I., Picker J., Weissman L., Raffalli P., Jeste S., Demmer L.A., Peters H.K., Brewster S.J., Kowalczyk S.J., Rosen-Sheidley B., McGowan C., Duda A.W., 3rd, Lincoln S.A., Lowe K.R., Schonwald A., Robbins M., Hisama F., Wolff R., Becker R., Nasir R., Urion D.K., Milunsky J.M., Rappaport L., Gusella J.F., Walsh C.A., Wu B.L., Miller D.T. Autism Consortium Clinical Genetics/DNA Diagnostics Collaboration. Clinical genetic testing for patients with autism spectrum disorders. *Pediatrics.* 2010; 125: 727–735.
27. Freitag C.M., Staal W., Klauck S.M., Duketis E., Waltes R. Genetic of autistic disorders: review and clinical implication. *Eur. Child Adolesc. Psychiatry.* 2010; 19 (3): 169–178.
28. Vorsanova S.G., Yurov I.Yu., Kurinnaya O.S., Voinova V.Yu. *Zhurn. nevroi. i psikiatr. im. S.S. Korsakova — S.S. Korsakov Journal of neuropathology and psychiatry.* 2013; 113 (8): 46–49.
29. Marshall C.R., Noor A., Vincent J.B., Lionel A.C., Feuk L., Skaug J., Shago M., Moessner R., Pinto D., Ren Y., Thiruvahindrapuram B., Fiebig A., Schreiber S., Friedman J., Ketelaars C.E.J., Vos Y.J., Ficiocioglu C., Nicolson R., Sloman L., Summers A., Gibbons C.A., Teebi A., Chitayat D., Weksberg S.R., Thompson A., Vardy C., Crosbie V., Luscombe S., Baatjes R., Zwaigenbaum L., Roberts W., Fernandez B., Szatmari P., Scherer S.W. Structural Variation of Chromosomes in Autism Spectrum Disorder. *Am. J. Hum. Genet.* 2008; 82: 477–488.
30. Jacquemont M.L., Sanlaville D., Redon R., Raoul O., Cormier-Daire V., Lyonnet S., Amiel J., Le Merrer M., Heron D., de Blois M.C., Prieur M., Vekemans M., Carter N.P., Munnich A., Colleaux L., Philippe A. Array-based comparative genomic hybridisation identifies high frequency of cryptic chromosomal rearrangements in patients with syndromic autism spectrum disorders. *J. Med. Genet.* 2006; 43 (11): 843–849.
31. Buxbaum J.D., Daly M.J., Devlin B., Lehner T., Roeder K., State M.W. Autism Sequencing Consortium. The autism sequencing consortium: large-scale, high-throughput sequencing in autism spectrum disorders. *Neuron.* 2012; 76 (6): 1052–1056. Doi: 10.1016/j.neuron.2012.12.008.
32. Howell K.B., Kornberg A.J., Harvey A.S., Ryan M.M., Mackay M.T., Freeman J.L., Rodriguez Casero M.V., Collins K.J., Hayman M., Mohamed A., Ware T.L., Clark D., Bruno D.L., Burgess T., Slater H., McGillivray G., Leventer R.J. High resolution chromosomal microarray in undiagnosed neurological disorders. *J. Paediatr. & Child Health.* 2013; 716–724. Doi: 10.1111/jpc.12256.
33. Ellison J.W., Ravnan J.B., Rosenfeld J.A., Morton S.A., Neill N.J., Williams M.S., Lewis J., Torchia B.S., Walker C., Traylor R.N., Moles K., Miller E., Lantz J., Valentin C., Minier S.L., Leiser K., Powell B.R., Wilks T.M., Shaffer L.G. Clinical utility of chromosomal microarray analysis. *Pediatrics.* 2012; 130 (5): 1085–1095. Doi: 10.1542/peds.2012-0568.
34. Gnetetskaya V.A., Guzeev G.G., Kanivets I.V., Korostelev S.A., Semenova N.A. *Detskaya bol'nitsa — Child Hospital.* 2013; 4 (54): 55–59.