ФГБНУ «Научный Центр Психического Здоровья»

Министерство Здравоохранения Российской Федерации
ФГБОУ ВО «Российский Национальный Исследовательский
Медицинский Университет имени Н.И. Пирогова»
Обособленное Структурное Подразделение «Научно-исследовательский
Институт Педиатрии имени Ю.Е. Вельтищева»

**И.Ю. Юров, В.Ю. Воинова,
С.Г. Ворсанова, Ю.Б. Юров**

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ НАСЛЕДСТВЕННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

Учебное пособие

Рекомендовано УМО РАЕ
в качестве учебного пособия
для студентов, ординаторов,
врачей, обучающихся по направлениям
подготовки по специальностям
31.08.30 – «Генетика»;
31.08.06 – «Лабораторная генетика»;
31.08.19 – «Педиатрия»;
31.08.20 – «Психиатрия»

**Москва
2018**

УДК 575
ББК 52.5
М78

Рецензенты:

Козлова С.И. – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры медицинской генетики, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва.

Николаева Е.А. – доктор медицинских наук, зав. отделом клинической генетики ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева», ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва.

М78 **Молекулярные** и клинические основы наследственных болезней: учебное пособие / И.Ю. Юров, В.Ю. Воинова, С.Г. Ворсанова, Ю.Б. Юров. – М.: Издательский дом Академии Естествознания, 2018. – 100 с.

ISBN 978-5-91327-517-2

Учебное пособие предназначено для ординаторов и студентов, заканчивающих медицинские, биологические, психологические вузы, постигающих основы медицинской генетики. В учебном пособии освещены вопросы истории генетики, в том числе и медицинской, формальной генетики, молекулярно-биологических основ наследственности, генетических и эпигенетических процессов, лежащих в патогенезе наследственных болезней, их семиотики, а также молекулярно-генетических и цитогенетических методов исследования генома человека. Знание основ общей и медицинской генетики позволит понять молекулярные процессы, приводящие к патологическим изменениям в организме, приобрести знания по генетически обусловленным болезням, их диагностики, своевременно выбрать адекватные методы лечебной коррекции, направить семью на медико-генетическое консультирование с целью профилактики наследственной патологии.

Учебное пособие подготовлено в соответствии с требованиями Федерального государственного образовательного стандарта высшего профессионального образования по направлению подготовки 31.08.30 – «Генетика», 31.08.20 – «Психиатрия», 31.08.19 – «Педиатрия» и предназначено для студентов, ординаторов и врачей, обучающихся в системе дополнительного профессионального образования, по специальностям: 31.08.30 – «Генетика», 31.08.20 – «Психиатрия», 31.08.19 – «Педиатрия».

Печатается по решению Ученого Совета ФГБНУ «Научный Центр Психического Здоровья» «6 февраля» 2018 г, протокол № 1.

ISBN 978-5-91327-517-2

© Юров И.Ю., Воинова В.Ю., Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., 2018
© ИД «Академия Естествознания»
© АНО «Академия Естествознания»

ОГЛАВЛЕНИЕ

КЛЮЧЕВЫЕ ПОНЯТИЯ 4

Глава 1. ИСТОРИЯ И ЗНАЧЕНИЕ ГЕНЕТИКИ В КОНТЕКСТЕ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ 5

1.1. ДНК как основа наследственности 7
1.2. Генетический объект – плодовая муха (*Drosofila melanogaster*) 8
1.3. Происхождение медицинской генетики 9
1.4. Вклад генетических болезней в структуру заболеваемости 15

Глава 2. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ 16

2.1. Структура ДНК 16
2.2. Синтез ДНК 17
2.3. Синтез белка 18
2.4. Геном человека и структурная организация хромосом 19
2.5. Гетерохроматин и эухроматин 23
2.6. Типы хромосомной ДНК 24
2.7. Деление клетки 25
2.8. Вариации генома человека: генные и хромосомные мутации 29
2.9. Эпигенетические процессы и наследственные болезни 33

Глава 3. СЕМИОТИКА НАСЛЕДСТВЕННЫХ БОЛЕЗНЕЙ 40

3.1. Особенности клинических проявлений наследственных заболеваний 40
3.2. Принципы клинической диагностики наследственных болезней 42
3.3. Клинико-генеалогический метод 47

Глава 4. ФОРМАЛЬНАЯ ГЕНЕТИКА 49

4.1. Аутосомно-доминантное наследование 49
4.2. Аутосомно-рецессивное наследование 51
4.3. Наследование, сцепленное с полом 51
4.4. Митохондриальное наследование 57

Глава 5. ВРОЖДЕННЫЕ АНОМАЛИИ И СИНДРОМЫ 58

5.1. Классификация врожденных аномалий 59
5.2. Генетические причины врожденных аномалий 61
5.3. Действие тератогенов 63

Глава 6. МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ГЕНОМА ЧЕЛОВЕКА 68

6.1. Молекулярно-генетические методы 68
6.2. Цитогенетические и молекулярно-цитогенетические методы 74

Рекомендуемая литература 87

Рекомендуемые электронные ресурсы 87

Приложение. Оценка основных антропометрических данных у детей 88

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Юров И.Ю. – доктор биологических наук, профессор РАН, профессор кафедры мед. генетики с курсом пренатальной диагностики ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, член-корр. РАЕ, зав. лаб. молекулярной генетики мозга ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», главный научный сотрудник ОСП НИКИ педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России;

Воинова В.Ю. – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник отдела клинической генетики ОСП НИКИ педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, ведущий научный сотрудник ФГБНУ «Научный центр психического здоровья»;

Ворсанова С.Г. – заслуж. деятель науки, доктор биологических наук, профессор, академик РАЕ, зав. лаб. молекулярной цитогенетики нервно-психических заболеваний ОСП НИКИ педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России; главный научный сотрудник ФГБНУ «Научный центр психического здоровья»;

Юров Ю.Б. – заслуж. деятель науки, доктор биологических наук, профессор, академик РАЕ, зав. лаб. цитогенетики и геномики психических заболеваний ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», главный научный сотрудник ОСП НИКИ педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России.

КЛЮЧЕВЫЕ ПОНЯТИЯ

Медицинская генетика – раздел генетики человека, изучающий роль генетических и эпигенетических факторов в возникновении наследственных заболеваний.

Клиническая генетика – прикладной раздел медицинской генетики, изучающий вопросы диагностики, профилактики, течения и лечения наследственных заболеваний.

Цитогенетика – наука, изучающая структуру и функцию хромосом.

Молекулярная генетика – раздел молекулярной биологии, изучающий основы наследственности и изменчивости путем исследования протекающих на молекулярном уровне процессов передачи, реализации и изменений генетической информации.

Молекулярная цитогенетика – наука, изучающая структуру и функцию хромосом (генома) с помощью молекулярных технологий.

Глава 1. ИСТОРИЯ И ЗНАЧЕНИЕ ГЕНЕТИКИ В КОНТЕКСТЕ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

История генетики представляет собой череду захватывающих открытий, благодаря которым общество получило возможность лечения и предотвращения многих тяжелейших заболеваний. Согласно современным представлениям человек появился на Земле от 50 до 200 тысяч лет назад. Можно предполагать, что наследственность интересовала людей издавна. Так, в Халдее и Вавилоне около 6000 лет назад изучались родословные, прослеживающие передачу некоторых характеристик конской гривы. Ранние греческие философы Аристотель и Гиппократ считали, что признаки человека передаются из поколения в поколение через семя, а матка женщины служит лишь «инкубатором». Они утверждали, что семя продуцирует всё тело человека, поэтому, например, отец с лысиной имеет лысого сына. Эти идеи превалировали вплоть до XVII столетия, когда датские ученые Ливенгук (Leeuwenhoek) и де Грааф (de Graaf) открыли существование спермы и яйцеклеток, объяснив тем самым передачу потомству как отцовских, так и материнских признаков.

Расцвет различных наук в XVIII–XIX столетиях вызвал рост интереса к наследственности. Пьер де Мопертуи (Pierre de Maupertuis), французский натуралист, изучал наследование полидактилии (дополнительных пальцев) и альбинизма (недостатка пигментации) и показал, что эти аномалии по-разному передаются в родословных. Джозеф Адамс (Joseph Adams) (1756–1818 гг.), английский врач, также анализировал различные механизмы наследования и опубликовал «Трактат о предполагаемых наследственных свойствах болезней», который явился предпосылкой к созданию медико-генетического консультирования. Джон Дальтон (John Dalton) установил тот факт, что некоторые состояния, особенно цветовая слепота (дальтонизм) и гемофилия, наследуются сцеплено с полом.

Настоящие представления о генетике сложились благодаря работам Грегора Менделя (Gregor Mendel, 1822–1884 гг.) (рис. 1), который в 1865 г. представил результаты экспериментов по скрещиванию гороха на заседании Общества Естествознания. Эти наблюдения были опубликованы, но оставались незамеченными. И лишь в 1900 г., через 16 лет после смерти Менделя, его эксперименты были воспроизведены. Сущность его работы была в открытии единиц наследственности – генов и того, каким образом они передаются в поколениях. Термин **«ген»** был впервые предложен датским ботаником Йохансеном (Johansen), и был получен

Рис. 1. Грегор Мендель (1822–1884 гг.)

из введенного Де Врайсом (De Vries) термина «панген», который, в свою очередь, был дериватом термина «пангенезис», предложенного Дарвиным (Darwin) в 1868 г. Определение «менделевский тип» сейчас применяют для обозначения наследования моногенных признаков и заболеваний, возникающих в результате изменений в одном гене.

В своих экспериментах Мендель исследовал контрастирующие признаки садового гороха. Он заметил, что, если горох с таким наследственным признаком, как высокорослость, скрещивается с низким горохом, то в первом поколении – F1 – потомство будет высоким. Если же скрестить между собой гибридов первого поколения, это приведет к появлению высоких и низких растений в соотношении 3:1. Признаки, которые проявлялись в поколении F1, были названы доминантными, а те, которые проявлялись во втором поколении (F2), – рецессивными. Одним из обвинений в адрес Менделя было то, что он публиковал только те результаты, которые соответствовали его гипотезе. Согласно последней, пара контрастирующих признаков растения контролируется двумя факторами (генами), унаследованными по одному от каждого из родителей. До скрещивания растения имели по паре идентичных генов, т.е. были ***гомозиготны*** (представляли собой чистые линии). Гибриды первого поколения имели по одному гену высокорослости и низкорослости, т.е. были ***гетерозиготны***. На основе проведенных опытов Менделем были сформулированы 3 основных закона:

1. ***Закон единообразия гибридов первого поколения*** отражает тот факт, что гибриды первого поколения всегда единообразны по данному признаку и приобретают его от одного из родителей: это более сильный – доминантный признак (термин введен Менделем от латинского dominus), всегда подавляющий другой – рецессивный признак.

2. ***Закон сегрегации*** (отделения, расщепления) утверждает, что каждый отдельный признак индивидуума контролируется двумя факторами (генами), только один из которых может передаваться потомку; во втором поколении наблюдается расщепление в определенном числовом отношении (по фенотипу 3:1, по генотипу 1:2:1).

3. ***Закон независимого наследования*** постулирует то, что различные альтернативные пары признаков (контролируемых генами) передаются потомству независимо друг от друга. Существует ряд случаев, когда законы Менделя нарушаются, но в целом они остаются основополагающими.

К началу XX века было известно, что каждая клетка содержит ядро, внутри которого есть несколько нитевидных структур, названных хромосомами из-за своего сродства к определенным красителям (chroma – цвет, soma – тельце). В 1903 г. Уолтер Саттон (Walter Sutton) и Теодор Бовери (Theodor Boveri) независимо друг от друга предположили, что хромосомы несут наследственные факторы или гены. Это предположение было поддержано наблюдениями за поведением хромосом при делении клетки, которое объясняло сегрегацию генов. Долгое время считалось, что нормальное число хромосом человека равно 48. Правильное их число (46) было установлено лишь в 1956 г. Джо Тио (Joe Tjio) и Альбертом Леваном (Albert Levan) через 3 года после открытия структуры ДНК. В течение нескольких лет выяснилось, что болезни человека могут быть связаны с потерей или приобретением хромосом или их участков. Затем стало известно, что некоторые структурные аномалии хромосом, такие как транслокации (обмен хромосомным материалом), могут передаваться и сегрегировать в семьях по законам Менделя.

1.1. ДНК как основа наследственности

«Мы предлагаем вашему вниманию структуру ДНК, имеющую некоторые новые свойства, которые представляют значительный биологический интерес...» Так начиналась статья Джеймса Уотсона (James Watson) и Френсиса Крика (Francis Crick) в международном научном журнале «Nature» от 27 апреля 1953 г. В этой статье ученые предлагали модель двухцепочечной спирали ДНК, похожей на винтовую лестницу, «ступеньками» которой являются пары нуклеотидов «Аденин – Тимин» и «Гуанин – Цитозин». «Перилами» лестницы служат молекулы дезоксирибозы, а соединяются нуклеотиды в цепочку при помощи остатка фосфорной кислоты. Так, Джеймс Уотсон, Фрэнсис Крик и Морис Уилкинс (Maurice Wilkins), получившие в 1962 г. Нобелевскую премию, сделали одно из самых значительных открытий в биологии XX века: установили структуру молекулы ДНК – генетического материала клетки – носителя информации о наследственных признаках организма и обеспечивающего ее передачу из поколения в поколение. Ключевая роль ДНК для наследственности была открыта еще в 1940-х годах. До этого многие полагали, что наследственные признаки передаются белками. В 1944 г. в институте Рокфеллера в Нью Йорке, работая с пневмококками, Освальд Эйвери (Osvald Avery), Маклин МакКарти (Macklyn McCarty) и Колин МакЛеод (Colin McLeod) определили ДНК как генетический материал.

Связь между последовательностью оснований в ДНК и последовательностью аминокислот в белках (т.е. ***генетический код***) была установлена с помощью биохимических методов в 1860-х годах. Таким образом, было постулировано то, что нарушение последовательности ДНК может приводить к изменению структуры белка. Подтверждения этого предположения были получены с развитием метода ***секвенирования ДНК*** (определения последовательности оснований в молекуле ДНК). Первой болезнью, охарактеризованной на молекулярном уровне, была серповидноклеточная анемия, при которой мутация гена гемоглобина ведёт к его повреждению. Интересно, что еще в 1957 г. это заболевание было идентифицировано секвенированием очищенного протеина.

1.2. Генетический объект – плодовая муха (*Drosofila melanogaster*)

Я – тоже муха:
Мой краток век.
А чем ты, муха,
Не человек?
Уильям Блейк. «Муха»

Стоит отметить заслуги одного небольшого насекомого, которое представляет собой ценный объект для генетических исследований (рис. 2). Плодовая мушка дрозофила обладает некоторыми особыми преимуществами перед другими лабораторными объектами: она легко разводится в лаборатории; быстро репродуцируется, давая 20–25 поколений за год; обладает рядом легко распознаваемых характеристик, таких как изогнутые крылья и желтое тело, которые наследуются согласно законам Менделя; имеет всего лишь четыре пары хромосом, сильно отличающихся друг от друга.

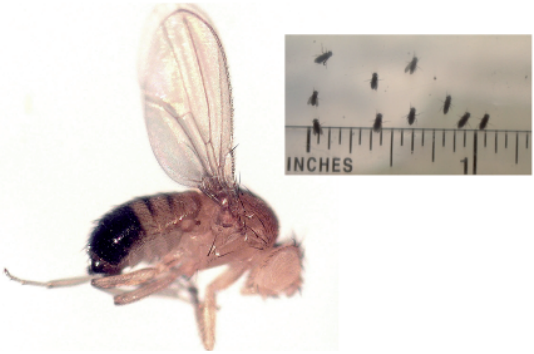

Рис. 2. *Drosofila melanogaster*

В силу своих уникальных свойств, дрозофила широко использовалась в ранних генетических экспериментах, и продолжает использоваться сегодня. С помощью дрозофилы были продемонстрированы расщепление и сегрегация признаков, их доминантность и рецессивность, сцепленное наследование генов; определена роль хромосом в процессе наследования; изучены организация хромосом и их «поведение» при делении клеток, процесс кроссинговера, химический мутагенез и др. У дрозофилы были идентифицированы многие гены, отвечающие за развитие различных признаков. Одним из достижений генетики стало секвенирование генома *Drosofila melanogaster* в 1999 г. Результаты многих из вышеперечисленных открытий использовались в генетике человека.

1.3. Происхождение медицинской генетики

Первые данные о моногенных заболеваниях были представлены Уильямом Бэйтсоном (William Bateson) и Арчибальдом Гарродом (Archibald Garrod), которые вместе предположили то, что алкаптонурия – рецессивно наследуемая болезнь. При этом заболевании моча становится темной при экспозиции на воздухе и при взаимодействии со щелочью из-за неспособности пациента метаболизировать гомогентизиновую кислоту. У больных отмечается склонность к артритам крупных суставов. Принимая во внимание вовлечение биохимических процессов при этом заболевании, Гаррод ввел понятие ***врожденных ошибок метаболизма***. Сейчас идентифицированы сотни подобных болезней, описание которых дало начало такой науке, как биохимическая генетика.

В первые десятилетия XX века приобрело широкую известность такое научное направление, как евгеника. В ее основе лежала ранее сформулированная Френсисом Гальтоном (Francis Galton) идея о возможности улучшения породы человека. Евгеника ставила своей целью искоренение наследственных заболеваний путем насильственной стерилизации больных и/или их родителей. В некоторых странах в первой половине XX века были приняты законы о принудительной стерилизации лиц, родивших детей с умственной отсталостью, шизофренией и рядом других заболеваний. Евгеника сыграла отрицательную роль в развитии генетики.

В России генетика успешно развивалась в 20–30 гг. XX века. Большой вклад в развитие генетики внес Николай Константинович Кольцов (1872–1940 гг.), русский биолог, который с 1917 года возглавлял созданный им Институт экспериментальной биологии (ныне Институт биологии развития Российской Академии Наук). Кольцову принадлежит «главная идея XX века в биологии» – идея матричного размножения биологических макромолекул («наследственных молекул»). В своем

институте Кольцов развернул исследования по медицинской генетике (первые работы по исследованию групп крови и т.д.), а также по таким вопросам антропогенетики, как наследование цвета волос и глаз, изменчивость и наследственность сложных признаков у однояйцовых близнецов и т.д.

Одним из основоположников клинической генетики в нашей стране стал Сергей Николаевич Давиденков (1880–1961 гг.), который был одновременно невропатологом и генетиком и внес большой вклад в изучение генетики болезней нервной системы. Кроме того, он сформулировал понятие генетической гетерогенности болезней нервной системы, поставил вопрос о создании каталога генов человека, а также способствовал созданию медико-генетического консультирования.

С 1930 г по 1937 г. в медико-биологическом, переименованном затем в медико-генетический институт, под руководством профессора С.Г. Левита (1894–1937 гг.) проводились близнецовые и цитогенетические исследования. Однако, в 1937 г. институт был закрыт, а его директор подвергнут репрессиям. Вплоть до 60-х годов развитие генетики в нашей в стране было остановлено. В ее возрождении в 60-е годы приняли активное участие С.Н. Давиденков, Н.В. Тимофеев-Ресовский, В.П. Эфроимсон, А.А. Прокофьева-Бельговская, С.Н. Ардашников, Е.Ф. Давиденкова и др.

В течение двадцатого столетия стало ясно, что наследственные факторы лежат в основе многих заболеваний. Традиционно наследственные болезни рассматривают под заголовками моногенные, хромосомные и мультифакторные (ошибочно называемые ранее мультифакториальные).

Моногенные болезни. Еще А. Гаррод (A. Garrod) предположил, что кроме алкаптонурии аутосомно-рецессивно наследуются альбинизм и цистинурия. Вскоре последовали другие примеры. К 1966 г. почти 1500 моногенных болезней и признаков было описано, что побудило американского учёного Виктора МакКьюсика (Victor McKusick) к публикации каталога всех известных на тот момент моногенных состояний. К 1998 г., когда было опубликовано двенадцатое издание каталога, в нем содержалось свыше 8500 наименований. Экспоненциальный рост каталога привел к тому, что сейчас он не публикуется в печатном виде, а доступен через сеть Internet как Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) (см рекомендуемую литературу). Интересно отметить, что в начале 2007 г. каталог содержал 17370 статей о моногенных болезнях и признаках, среди них аутосомные, сцепленные с хромосомами X и Y, митохондриальные (табл. 1). В настоящее время каталог содержит более 24000 публикаций.

Таблица 1

Статистика каталога OMIM, январь 2007 года

Категории болезней и признаков	Аутосомные	Х–сцепленные	Сцепленные с хромосомой Y	Митохондриальные	Всего
Количество заболеваний и признаков	16277	974	56	63	17370

Хромосомные болезни. Совершенствование техники микроскопии привело к открытию в 1959 г. того факта, что дополнительная хромосома 21 в кариотипе (трисомия хромосомы 21) ведет к развитию синдрома Дауна. Вскоре последовали другие подобные открытия. Цитогенетика – наука, изучающая структуру и функции хромосом, на несколько лет стала ведущим направлением в генетике человека. Появление в начале 70-х годов методов дифференциального окрашивания хромосом по длине позволило идентифицировать индивидуальные хромосомы и установить, что потеря или приобретение сегмента хромосомы может быть причиной нарушения развития организма человека.

В настоящее время развивается ***молекулярная цитогенетика***, которая имеет дополнительный методический арсенал для идентификации хромосомных аномалий, включая микроперестройки. Методы молекулярной цитогенетики основаны на специфических биохимических свойствах молекул нуклеиновых кислот, предоставляя возможность детекции последовательностей ДНК и РНК в каждой клетке. Впервые детекция нуклеиновых кислот с использованием радиоактивной метки *in situ* (непосредственно на препарате) была описана в 1969 г. американскими учеными М.Л. Пардю (M.L. Pardue) и Д. Голлом (D. Gall). Однако понадобилось не одно десятилетие для того, чтобы молекулярно-цитогенетические методы, а именно IISH, нашли свое применение для лабораторной диагностики наследственных заболеваний. Необходимо отметить, что их внедрение в медицинскую практику является заслугой таких известных отечественных ученых, как С.Г. Ворсанова, И.В. Соловьев и Ю.Б. Юров. Впоследствии эти методы были модифицированы с целью определения специфических последовательностей молекул ДНК на хромосомах человека с использованием нерадиоактивных ДНК зондов и, таким образом, было положено начало молекулярно-цитогенетической диагностики с использованием флюоресценции (FISH). С середины 80-х годов они динамично развиваются и начинают использоваться в диагностике хромосомных синдромов и аномалий. В частности, отечественными исследователями было показано, что многие из них являются

необходимыми дополнительными методами для уточнения цитогенетического диагноза (Ворсанова и др., 2006; см рекомендуемую литературу).

Далее были разработаны технологии геномной гибридизации: высокоразрешающей метафазной геномной гибридизации и серийной сравнительной геномной гибридизации (HR CGH и arrayCGH). Исследование методом HR CGH проводится на метафазных пластинках с использованием смеси меченых одним флюорохромом геномной ДНК пациента и другим флюорохромом ДНК донора (при исследовании численных хромосомных аномалий) или геномной ДНК какой-то конкретной хромосомы донора (при исследовании структурных хромосомных аномалий). Затем с помощью цифрового анализа производится сравнительная оценка интенсивности суперпозиции сигналов двух разных флюорохромов, в результате чего становится возможным определение приобретения или потери последовательностей ДНК у пациента в строго определенных участках хромосом. При отсутствии количественных изменений в кариотипе исследуемого образца будет наблюдаться соотношение 1:1 интенсивности свечения двух флюорохромов. В случае дупликации интенсивность сигнала соответствующего флюорохрома будет увеличиваться, а в случае потери генетического материала, наоборот, уменьшаться. Метод высокоразрешающей метафазной CGH позволяет идентифицировать несбалансированные хромосомные перестройки с использованием только геномной ДНК. Среди ограничений HR CGH необходимо отметить невозможность выявления мозаицизма и сбалансированных перестроек. Разрешение метода может составить 1–2 млн пн, позволяя использовать высокоразрешающую CGH для диагностики в медико-генетической практике.

Разработка протоколов модификации CGH технологии была направлена на создание высокоразрешающих методов идентификации хромосомных микроаберраций (микроделеций и микродупликаций). В результате этого были созданы методы arrayCGH анализа, а также BAC (BAC – искусственные бактериальные хромосомы) и олигонуклеотидная CGH. Метод молекулярного кариотипирования или arrayCGH – это анализ, который основан не на гибридизации тотальной геномной ДНК донора и пациента на метафазных хромосомах, как HR CGH, а на замене клеточной суспензии хромосом донора на специфические последовательности ДНК, соответствующие определенным участкам хромосом. Для их иммобилизации используют наночип, на который наносится от нескольких тысяч до нескольких миллионов проб. Затем меченые ДНК гибридизуют на данном чипе. CGH проводится несколькими сериями с использованием цифровых систем детекции суперпозиции сигналов.

Модификациями arrayCGH анализа являются BAC и олигонуклеотидная CGH. Эти технологии имеют большую разрешающую способность за счет применения BAC ДНК размером от 100 000 до 350 000 пн или олигонуклеотидных последовательностей ДНК размером от 25–100 пн и более. Данные методы используются для идентификации хромосомных микроаберраций, а также генных мутаций, затрагивающих последовательности ДНК, размер которых больше 50 пн. Существует 4 основных разновидностей наночипов:

1) чип с пробами на определенные участки генома;

2) чип, сканирующий геном с разрешением 1 млн пн (расстояние между локализацией каждой пробы составляет примерно 1 млн пн);

3) чип, сканирующий геном «перекрывающими» друг друга BAC пробами, разрешением около 100 тыс. пн;

4) чип, сканирующий геном с использованием олигонуклеотидных/SNPs проб, разрешением около 1 тыс. пн.

Кроме идентификации потери или приобретения последовательностей ДНК модифицированные протоколы arrayCGH могут быть использованы для высокоразрешающих эпигенетических исследований генома (анализ экспрессии последовательностей ДНК/РНК или метилирования ДНК). Они также применимы для анализа последствий вариаций гетерохроматиновых участков ДНК в плане изменения свойств генов, локализованных в непосредственной близости к этим хромосомным районам. При исследовании геномных вариаций вышеперечисленными технологиями обнаружено, что, помимо ранее описанных хромосомных аномалий, более 5% последовательностей ДНК генома (включая более 800 генов) участвуют в субмикроскопических хромосомных перестройках, фенотипические проявления которых имеют неочевидные последствия. Для определения степени патогенности выявленной хромосомной перестройки используются следующие приемы:

1) обследование родственников пациента с помощью метода arrayCGH (в первую очередь родителей);

2) создание доступных баз результатов исследований разного разрешения с помощью метода arrayCGH.

Последнее имеет значение для диагностической практики, особенно, применяемое для arrayCGH, позволяющей проводить сравнительный анализ результатов отдельного индивидуума с данными предыдущих исследований.

Исследования методом arrayCGH были признаны одними из наиболее эффективных среди молекулярно-цитогенетических технологий. Разрешение этого метода сравнимо с методами, основанными на FISH, а во многих случаях arrayCGH заменила их (например, исследование

субтеломерных делеций). По последним данным, такой анализ выявляет субтеломерные перестройки в 5–25 % случаев умственной отсталости. Это практически в 2 раза больше по сравнению с данными, полученными при более ранних исследованиях. Примечательно то, что, по некоторым данным, вклад субтеломерных делеций, идентификация которых ранее была затруднена вследствие недостаточно высокого уровня разрешения стандартных методов, сравним со вкладом интерстициальных хромосомных перестроек. Более того, применение метода arrayCGH позволило выделить целый ряд достаточно частых и ранее неизвестных микроделеционных синдромов (например, микроделеции в участках 16p11.2-p12.2 и 17q21.31). Помимо этого, вариации генома в виде делеций и дупликаций, определенных с помощью метода высокоразрешающей arrayCGH, достаточно часто обнаруживаются у детей, страдающих аутизмом (до 10 % случаев). Среди индивидуумов с врожденными пороками сердца около 30 % имеют хромосомные микроперестройки, более половина которых достоверно связана с данной патологией. Следует особо отметить, что многие микроперестройки генома при врожденных пороках сердца можно обнаружить только с использованием arrayCGH. Имеются также данные о том, что эта технология позволяет не только уточнить аномалии хромосом в клетках опухолей и при гематологических заболеваниях, но также выявить хромосомные участки для последующего картирования онкогенов, а в некоторых случаях даже непосредственно их выявлять. Эти возможности метода arrayCGH являются исключительно значимыми в пренатальной, доклинической и постнатальной диагностике, а также в прогнозировании, мониторинге и терапевтическом вмешательстве при всех перечисленных заболеваниях, которые в совокупности являются основной причиной инвалидизации как детей, так и в старшем возрасте.

Таким образом, можно с уверенностью утверждать, что методы молекулярной цитогенетики (особенно следует отметить arrayCGH) являются необходимыми для корректного и эффективного исследования широкого спектра заболеваний, и отсутствие данных технологий в арсенале соответствующих научных и научно-практических учреждений заметно снижает их диагностический потенциал.

Мультифакторные болезни. Френсис Гальтон (Francis Galton) и его последователи пришли к заключению о том, что такие признаки, как рост, цвет кожи могут быть обусловлены взаимодействием многих генов, каждый из которых оказывает определенный аддитивный эффект («аддитивный эффект» – от английского слова «addition» – прибавление) – вид синергизма, при котором эффект действия генов совместно равен сумме эффектов действия каждого в отдельности. Это

контрастирует с характеристиками моногенного наследования, при котором действие одного гена является независимым и неаддитивным. Такая модель широко используется для объяснения наследования многих частых врожденных аномалий (например, расщелина губы и неба), и часто встречающихся в популяции заболеваний (например, сахарный диабет, гипертоническая болезнь).

1.4. Вклад генетических болезней в структуру заболеваемости

Среди причин многих болезней растет вклад генетических факторов. Для определенных заболеваний (например, манифестирующих в перинатальном периоде) этот рост является незначительным, поскольку благодаря достижениям медицины уменьшается вклад таких причин, как инфекции. Но для ряда хронических нервных и психических болезней (шизофрении или аутизма) общий вклад генетических причин постоянно увеличивается. Влияние генетических факторов на здоровье может быть оценено, исходя из приведённых ниже наблюдений.

Заболевания новорожденных. Среди новорожденных 2–3 % имеют, по крайней мере, один врожденный порок развития. Около половины пороков у новорожденных вызваны генетическими факторами. Частота хромосомных аномалий у этой категории детей составляет 1:200.

Заболевания у детей в возрасте от 1 месяца до 18 лет. В основе не менее 25 % случаев смерти детей в возрасте до года лежат наследственные и врожденные заболевания. Генетические болезни составляют 50 % причин слепоты и глухоты и более трети тяжелых когнитивных нарушений у детей. В развитых странах врожденные и наследственные заболевания вместе составляют около 30 % госпитализаций, и 40–50 % смертных случаев зарегистрировано в детском возрасте.

Заболевания взрослых. Наследственные болезни поражают около 5 % популяции к возрасту 25 лет. Принимая во внимание вклад наследственности в кардиоваскулярные, онкологические и психические заболевания, можно считать, что свыше половины популяции развитых стран страдает генетически обусловленными заболеваниями. Для лечения и профилактики болезней, встречающихся в практике врачей всех специальностей, необходимо знать механизмы взаимодействия средовых и наследственных факторов в их возникновении и развитии.

Таким образом, на рубеже XX и XXI веков медицинская генетика заняла лидирующее место в медицине и биологии и стала оказывать значительное влияние на развитие многих наук, включая различные направления медицины, биологии и психологии.

Глава 2. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ

Генетическая информация закодирована в последовательности макромолекулы ***дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК),*** которая представляет собой полимер, состоящий из мономеров – ***нуклеотидов***. Молекула ДНК, взаимодействуя со специфическими белками (***хромосомными белками – гистонами и негистоновыми белками***), а также ***рибонуклеиновой кислотой (РНК),*** образует ***хроматин,*** который представляет собой структурную основу образования ***хромосом*** – нитевидных структур, основных супрамолекулярных носителей наследственной информации. ***Соматические клетки*** (все клетки организма, кроме половых) в норме имеют клеточное ядро с 23 парами гомологичных хромосом (46 хромосом) – ***диплоидный*** хромосомный набор.

Гены – фундаментальные единицы наследственности – находятся в каждой хромосоме. Они являются линейными последовательностями ДНК, кодирующими молекулы белков, необходимых для нормального развития и жизнедеятельности организма. Преемственность генетической информации от клетки к клетке и от организма к организму осуществляется за счет копирования хромосомной ДНК (***репликации)*** и передачи во время клеточного деления (***митотического и мейотического деления)***.

2.1. Структура ДНК

Молекула ДНК представляет собой двойную спираль: две параллельные цепи нуклеотидов, закрученные относительно друг друга и поддерживающие свою структуру за счет водородных связей. ***Нуклеотид*** является органическим соединением, состоящим из дезоксирибозы (углеводной функциональной группы), фосфатной группы и одного из 4-х азотистых оснований (гетероциклических соединений): ***аденина (А), гуанина (Г), цитозина (Ц)*** или ***тимина (Т)***. Аденин и гуанин являются пуриновыми гетероциклическими соединениями, тогда как цитозин и тимин – пиримидиновыми. ДНК образуется за счет того, что дезоксирибозная компонента и фосфатная группа каждого из нуклеотидов последовательно связываются, образуя остов спиральной молекулы, к которому присоединяются азотистые основания. Каждый пятый атом углерода (5′) дезоксирибозной компоненты нуклеотида связывается с каждым третьим атомом углерода (3′) последующего нуклеотида посредством ковалентных связей с фосфатной группой. Комплементарные азотистые основания (А комплементарен Т, а Г – Ц) образуют друг с другом водородные связи – процесс ***спаривания нуклеотидов***. Двунитевая молекула ДНК – ***антипараллельна,*** т.е. последовательность нуклеотидов одной нити

является обратной последовательности другой. Это является причиной того, что макромолекула ДНК спиральна, а также гарантирует возможность образования однонитевой ДНК, которая необходима для корректного воспроизведения последовательностей ДНК в ходе их копирования или репликации. Следует также отметить, что соотношения количества нуклеотидов А:Т и Г:Ц в любом организме составляют 1:1 (***правило Чаргаффа)***.

2.2. Синтез ДНК

Синтез новых молекул ДНК называется **репликацией** (рис. 3). Первой стадией этого процесса является разрыв водородных связей между нуклеотидами и образование однонитевых последовательностей ДНК при воздействии ферментов ДНК-хеликаз и других специфических белков, которые сохраняют структуру ДНК в ходе репликации. Участком образования однонитевой ДНК, которая служит матрицей ***(матричная нить)*** для копирования ДНК, является структура в виде латинской буквы Y, называемая **репликационной вилкой**. *Обе* матричные нити создают основу для синтеза новых последовательностей ДНК согласно правилу комплементарности Чаргаффа. Комплементарные нуклеотиды присоединяются к 3′ концу образующейся последовательности ДНК за счет взаимодействия ***ДНК полимеразы I*** на одной матричной нити (***непрерывный синтез ДНК)***, тогда как синтез ДНК на другой матричной нити происходит за счет образования небольших двунитевых последовательностей ДНК, ***фрагментов Оказаки (прерывистый синтез ДНК)***. После разделения двух матричных нитей фермент ***ДНК праймаза*** использует рибонуклеотиды (мономеры макромолекулы РНК) для формирования ***РНК-затравки*** (небольшие последовательности РНК, участвующие в процессе репликации).

Рибонуклеиновая кислота (РНК) отличается от ДНК тем, что

1) она – однонитевой полимер;
2) углеводная компонента РНК представляет собой рибозу;
3) вместо тимина в её последовательность входит ***урацил (У)***.

Небольшие последовательности РНК располагаются в начале каждого нового фрагмента Оказаки, и играют значимую роль в обеспечении прерывистого синтеза ДНК, затем ДНК полимераза I присоединяет нуклеотиды в прерванной последовательности (между фрагментами Оказаки) на матричной нити и удаляет эти последовательности РНК. Далее, фермент ***ДНКлигаза*** связывает (сшивает) разрозненные фрагменты Оказаки и образует дочернюю двунитевую последовательность ДНК. Процесс репликации является ***полуконсервативным***, поскольку в ходе его образуется две идентичные двунитевые молекулы ДНК, в каждой из которых одна нить – матричная, а другая – новообразованная.

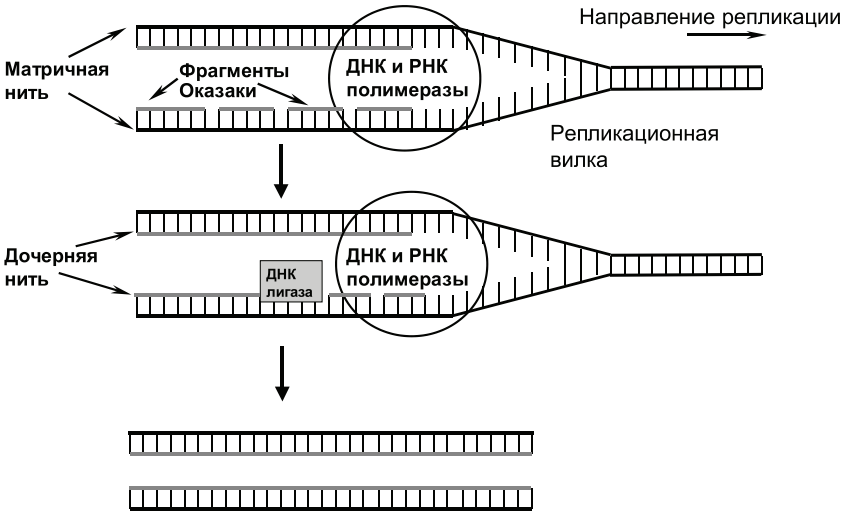

Рис 3. Полуконсервативная репликация ДНК

Комплиментарные нуклеотиды присоединяются к 3′ концу матричной нити, а дочерняя нить реплицируется за счет образования фрагментов Оказаки.

2.3. Синтез белка

Информация о последовательностях молекул белка закодирована в линейной последовательности азотистых оснований нуклеиновых кислот в виде ***триплетов.*** Каждый триплет кодирует определенный ***аминокислотный остаток (аминокислоту),*** последовательная цепь (***полипептидная цепь***) которых впоследствии формирует молекулы белка.

Синтез белка начинается с процесса ***транскрипции***. В ходе этого процесса на основе молекул ДНК по принципу комплиментарности синтезируются молекулы ***матричной РНК (мРНК)*** с помощью фермента ***РНК полимеразы***. Присоединение РНК полимеразы к началу последовательности ДНК гена инициирует транскрипцию. Синтез мРНК происходит по мере продвижения РНК полимеразы по последовательности ДНК гена. Затем, в ходе транскрипции происходит модификация мРНК (***РНК процессинг),*** которая необходима для дальнейших биохимических процессов, лежащих в основе синтеза белка.

Гены состоят как из последовательностей ДНК, кодирующих аминокислотные остатки (***экзоны***), так и некодирующих последовательностей

(***интронов***). ***РНК процессинг*** включает в себя удаление мРНК, синтезированной на основе интронов. Некоторые нуклеотиды также удаляются с 3′ конца молекулы, и к этому концу присоединяется последовательность, состоящая исключительно из аденина (полиадениновая последовательность или ***поли(А)***. Она необходима для транспортировки молекул мРНК за пределы клеточного ядра в цитоплазму. В ходе ***РНК процессинга*** модифицируются также нуклеотиды мРНК в 5′ положении и происходит так называемое ***кэпирование*** (образование ***кэпа)*** – метилирование гуанина и последующих пуриновых азотистых оснований. Это необходимо для присоединения мРНК к рибосоме. ***Рибосомы*** состоят из ***рибосомальной РНК*** и белковой компоненты. Они представляют собой клеточные органеллы, на которых происходит синтез белков. Имея две субъединицы, между которыми располагается мРНК, они считывают закодированную в ней информацию о последовательности аминокислотных остатков в белковой молекуле. Следующей стадией синтеза белков является ***трансляция***. Полипептидная цепь (последовательность аминокислотных остатков) синтезируется во время этой стадии на базе мРНК посредством другого типа РНК, ***транспортной РНК*** (тРНК). В её состав входят ***антикодоны*** – тринуклеотиды, которые комплементарны триплетам мРНК, другие специфические последовательности РНК и аминокислотный остаток. После считывания кодона мРНК рибосомой он взаимодействует с антикодоном тРНК, в структуру которой входит соответствующий аминокислотный остаток. Далее происходит образование пептидных связей между считанными аминокислотными остатками до обнаружения стоп-кодона – сигнала завершения синтеза белка.

Следует упомянуть также понятие ***вырожденности генетического кода***, которое используется для обозначения того факта, что аминокислотные остатки кодируются несколькими триплетами: различные комбинации 4-х азотистых оснований дают 64 триплета, 61 из них кодирует аминокислотные остатки, число которых составляет 20, три стоп-кодона останавливают белковый синтез.

2.4. Геном человека и структурная организация хромосом

Геном человека – термин, используемый при описании всей генетической информации, закодированной в виде ДНК клеток человека. Клетка человека имеет два генома: ***сложный ядерный геном (хромосомная ДНК)***, содержащей более 99,9995 % всей генетической информации, и простой ***митохондриальный геном***, в составе которого находится менее 0,0005 % ДНК. Ядерный геном распределен между 24-мя различными двуспиральными молекулами ДНК, которые в комплексе с различными

гистоновыми и негистоновыми белками формируют хромосомы человека. С молекулярной точки зрения каждая хромосома клетки является сложно организованной структурой. Диплоидная клетка человека с интерфазным ядром при диаметре 5–10 мкм содержит около двух метров молекул ДНК, которые образуют 23 пары хромосом. ***Гаплоидный геном*** человека, который характеризуют половые клетки с хромосомами X или Y, включает 23 различные хромосомы – 22 ***аутосомы*** и одну половую хромосому (гоносому) в зависимости от пола: X – женский или Y – мужской пол. Индивидуальные хромосомы различаются своими морфологическими характеристиками. В среднем, хромосома человека содержит около 130 млн пар нуклеотидов (пн), однако содержание ДНК в разных хромосомах варьирует от 40 до 260 млн пн.

Данные о структуре, размерах и количестве митотических хромосом в клеточном ядре определяются как ***кариотип***. Морфологическое строение хромосом на всех уровнях организации (молекулярном, микроскопическом и субмикроскопическом) определяется упаковкой нитей ДНК, организующих хромосому. На микроскопическом уровне нити ДНК формируют спирализованные ***хромонемы*** митотических хромосом. Упаковка хромонем по длине хромосом неравномерна. В них закономерно дифференцируются участки с резко выраженной и резко сниженной степенью спирализации хромонем. Последние формируют хромосомные перетяжки. Важным элементом структуры хромосом является первичная перетяжка, в участке которой расположена ***центромера***. Она делит хромосому на два ***плеча – короткое (p) и длинное (q)***.

Структура хромосом претерпевает значительные изменения в ходе клеточного деления (клеточного цикла) и, следовательно, не является постоянной. ***Хромосомы интерфазных ядер (интерфазные хромосомы)*** в отличие от ***метафазных хромосом*** (см раздел, посвященный делению клетки) представляют собой более расправленные и диффузные клеточные структуры. Интерфазные хромосомы содержат одну хроматиду, в составе которой имеется одна двуспиральная молекула ДНК, в то время как метафазные хромосомы образованы двумя хроматидами и двумя молекулами ДНК. Хромосома как функционирующая клеточная органелла должна содержать минимум три типа последовательностей ДНК, формирующих её структурные компоненты: центромеру, теломеры и участок начала репликации ДНК.

Индивидуальные хромосомы содержат одну протяженную двуспиральную молекулу ДНК диаметром 2 нм, которая претерпевает несколько уровней упаковки, формируя ***хроматин или ДНК-белковый комплекс (дезоксирибонуклеопротеид – ДНП)***. Элементарной дискретной единицей

упаковки хроматина является ***нуклеосома***. Каждая нуклеосома имеет вид глобулы и состоит из четырех пар гистоновых белков H2A, H2B, H3 и H4, содержащих по 102–135 аминокислотных остатков. Вокруг гистоновой глобулы диаметром 10 нм (***октамера***) располагается молекула двуспиральной ДНК длиной 146 пн (или 68 нм), образуя виток в 1,75 оборота. Соседние нуклеосомы соединяются так называемой «спейсерной» ДНК длиной около 20 нм, образуя структуры в виде «бус на нитке». На следующем этапе компактизации 10-нанометровые нуклеосомы образуют фибриллы хроматина диаметром 30 нм (в каждом витке примерно 6 нуклеосом), которые образуют большие петли. На стадии метафазы степень компактизации достигает 1 на 10000 от первоначальной длины хромосомной ДНК. Петли 30-нанометровых фибрилл хроматина содержат 20–100 тыс. пн. ДНК на каждой петле прикрепляется к осевой структуре хромосомы (рис. 4). Осевые компоненты метафазной хромосомы состоят из негистоновых белков.

Как уже отмечалось, одним из структурных элементов хромосомы является **центромера** – место присоединения ***кинетохоров*** (макромолекулярных структур на белковой основе, участвующих в процессе расхождения хромосом при митотическом делении клетки), и слипания сестринских хроматид. Они также регулируют присоединение хромосом к веретену деления и направляют движение хромосом в ходе мейотического и митотического деления клетки. Хромосомы без центромеры (***ацентрические фрагменты***) не могут присоединяться к нитям веретена деления и теряются в ходе клеточного деления. У человека центромеры содержат особые типы повторяющихся ДНК, а также специфические «центромерные» белки, обеспечивающие сегрегацию хромосом в ходе митотического и мейотического деления клеток. В зависимости от положения центромеры в хромосоме она может быть метацентрической, субметацентрической и акроцентрической. В акроцентрических хромосомах довольно часто на коротких плечах видны небольшого размера хроматические тельца, так называемые спутники, и спутничные нити. Они содержат ***ядрышковый организатор*** – значимую структуру генома человека (рис. 5). Плечи некоторых хромосом человека содержат вторичные перетяжки.

Другими структурными элементами хромосом являются ***теломеры***. Это специализированные структуры, содержащие особые типы ДНК и белки, которые образуют концевые участки хромосом. Теломеры выполняют несколько функций:

1) поддержание структурной целостности хромосомы;
2) обеспечение полной репликации концевых участков хромосомы;
3) поддержание организации хромосом в интерфазном ядре.

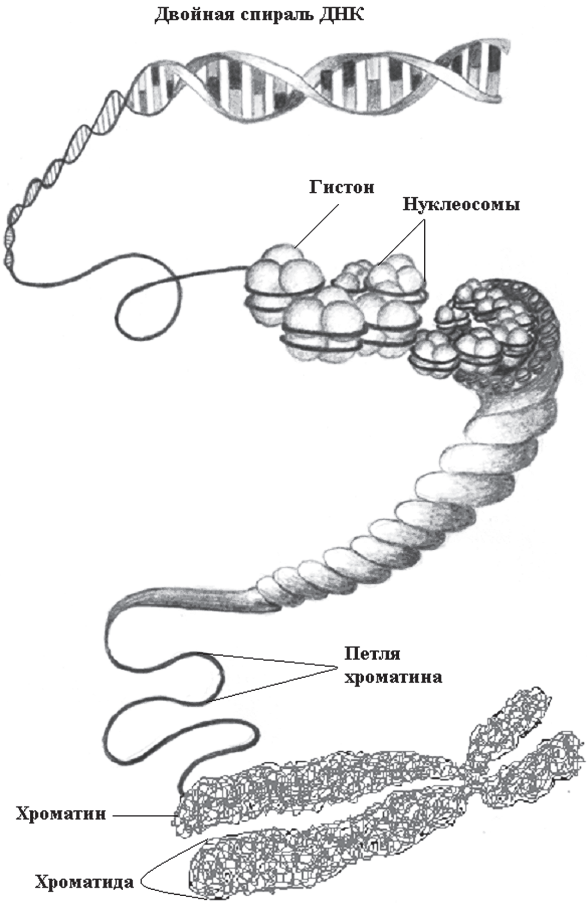

Рис. 4. Организация ДНК

Теломеры хромосом человека представляют собой повторы нуклеотидной последовательности ТТАГГГ, общий размер которой варьирует от 3 до 20 тыс. пн. Стабильность теломер поддерживается с помощью фермента ***теломеразы***, нарушение функциональной активности которой приводит к нарушению структуры хромосом и, как следствие, к клеточной гибели. Укорочение последовательностей теломер, которому противодействует теломераза, связано с процессами старения и малигнизации.

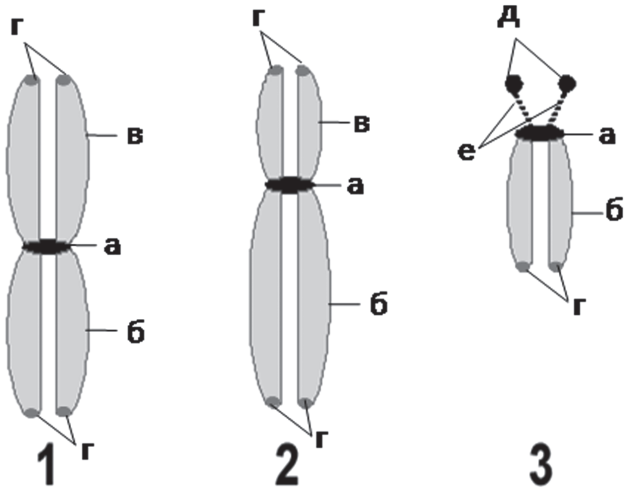

Рис. 5. Метафазные хромосомы:
1 – метацентрическая хромосома; 2 – субметацентрическая хромосома;
3 – акроцентрическая хромосома. Видны:
а – центромеры; б – длинные плечи (q), в – короткие плечи (p);
г – теломерные участки; д – спутники; е – спутничные нити

ДНК хромосом реплицируется в ходе периода синтеза ДНК клеточного цикла. Каждая хромосома содержит множество элементарных единиц репликации – ***репликонов***, представляющих собой участки автономной репликации. Каждый репликон имеет одну точку инициации репликации, с которой начинается двунаправленный синтез ДНК (см предыдущий раздел, посвященный синтезу ДНК). Размеры репликонов могут различаться друг от друга. Репликоны у человека могут быть очень большими, достигая более чем 1 млн пн.

2.5. Гетерохроматин и эухроматин

Существует два основных типа хроматина: ***гетерохроматин*** и ***эухроматин***. Данная классификация основана на ранних изучениях свойств хроматина в интерфазных ядрах, в которых содержится деконденсированный хроматин (эухроматин), распределенный диффузно и слабо окрашиваемый при использовании специфических гистологических красителей, а также конденсированные темноокрашенные блоки хроматина (гетерохроматин). В эухроматиновых участках хромосом локализовано подавляющее большинство генов, в то время как гетерохроматин,

по-видимому, содержит мало генов, которые обычно не активны. Выделяют ***два основных типа гетерохроматина*: *конститутивный* и *факультативный***. Конститутивный гетерохроматин, который практически на протяжении всего клеточного цикла конденсирован, генетически не активен. Вероятно, последовательности ДНК, из которых состоит конститутивный гетерохроматин, практически не содержат генов. Этот тип гетерохроматина сформирован особыми классами высокоповторяющихся (сателлитных) последовательностей ДНК и расположен в участках центромер всех хромосом, а также в некоторых других ее участках. Факультативный гетерохроматин представляет собой инактивированные и конденсированные участки хромосом, которые могут обратимо переходить из эухроматинового в гетерохроматиновое состояние в зависимости от типа клетки, стадии клеточного цикла или особенности одной из гомологичных хромосом. Как правило, этот термин применяется для описания процесса ***инактивации хромосомы X*** в клетках, которые содержат две и более хромосомы X.

2.6. Типы хромосомной ДНК

Вся нуклеотидная последовательность ДНК в геноме человека полностью установлена. Однако это утверждение относится лишь к эухроматиновым районам хромосом (около 90 % генома), в то время как определить полностью последовательности ДНК гетерохроматина пока не удалось. В состав генома человека входят ***уникальные последовательности ДНК***, кодирующие отдельные гены, и многочисленные **семейства повторяющихся последовательностей ДНК**, которые являются транскрипционно неактивными. *Повторяющиеся ДНК имеют два основных типа организации в хромосомной ДНК:* ***тандемно повторяющиеся*** (или сателлитные) и ***диспергированные по геному последовательности***.

К тандемно повторяющимся последовательностям относятся три основных типа ДНК: ***сателлитные*, *минисателлитные* и *микросателлитные*** ДНК. Сателлитная ДНК человека образована большими участками тандемно повторяющихся последовательностей различной сложности. Повторы ДНК этого типа не транскрибируются и расположены преимущественно в участках гетерохроматина генома человека – в центромерных участках всех хромосом и районах вторичных перетяжек.

Минисателлитные ДНК состоят из среднего размера (20–70 пн) тандемно повторяющихся единиц ДНК (до 1000 повторов длиной до 20 тыс. пн), диспергированных среди различных участков геномной ДНК. Минисателлиты обычно не транскрибируются. К этим повторам относятся так называемые гипервариабельные (высокополиморфные)

минисателлитные ДНК, находящие применение при генетической идентификации личности (***ДНК фингерпринт***).

Микросателлитые ДНК представлены короткими тандемными повторами (1–4 пн), диспергированными по геному. Распространенные мононуклеотидные повторы (А или Т) образуют до 0,3 % генома человека. Динуклеотидные повторы СА формируют до 0,5 % генома. Тринуклеотидные или четырехнуклеотидные повторы относительно редки, но очень часто высокополиморфны и находят применение в разработке полиморфных маркеров для молекулярно-генетических исследований и диагностики.

Существует два основных класса диспергированных ДНК повторов, которые различаются по длине: короткие и длинные ДНК повторы. ***Короткие диспергированные ДНК повторы*** **(*SINEs*)** относятся к так называемому ***семейству Alu повторов***. Длина Alu повторов составляет около 280 пар нуклеотидов. Эти повторы встречаются примерно через каждые 3 тыс. пн, число которых составляет до одного миллиона на геном. ***Длинные диспергированные ДНК повторы*** **(*LINEs*)** относятся к так называемому ***семейству L1*** или ***Kpn повторов***. Усредненная последовательность L1 повтора имеет длину 6,1 тыс. пн. Число этих повторов составляет более 100 000 на геном.

Распределение уникальных и повторяющихся последовательностей ДНК в хромосомах человека неравномерно. Эухроматиновые районы хромосом содержат перемежающиеся участки, обогащенные короткими или длинными диспергированными повторами (Alu и L1). Гетерохроматиновые районы хромосом содержат, в основном, сателлитные ДНК повторы.

2.7. Деление клетки

Все клетки человека проходят через цикл деления (***клеточный цикл***). Известно два типа деления клетки: митотческое и мейотическое, которые представлены на рис. 6 и 7. ***Митоз*** – деление клетки, за счет которого достигается воспроизведение соматических клеток в организме. ***Мейоз*** – деление клеток, в ходе которого получаются клетки с редуцированным гаплоидным (*n*) набором хромосом (половые клетки). Среднее время клеточного цикла у млекопитающих составляет 17–18 часов. Клеточный цикл разделен на четыре основных стадии: ***G1***, ***S*** (фаза синтеза ДНК), ***G2*** и ***митоз (M)***. Первые три фазы представляют собой интерфазный период или ***интерфазу***. Клетки, которые не делятся, находятся на стадии покоя ***G0***.

Во время стадии G1 (примерно 9 часов) хромосомы имеют вид одиночных хроматид, клетка метаболически активна и в ней происходит синтез белков. Если клетка, находящаяся на G1 стадии, не подвергается

последующему делению, то это состояние соответствует G0. Фаза синтеза (или S фаза) длится около 5 часов и характеризуется процессом репликации хромосомной ДНК. На этой стадии хромосомы состоят из двух идентичных ***сестринских хроматид***. G2 стадия длится примерно 3 часа. Во время этой стадии клетка готовится к процессу деления. Завершение G2 соответствует концу интерфазы. Митоз длится не более 1–2 часов и является процессом образования двух генетически идентичных дочерних клеток. В свою очередь, митоз также делится на 4 стадии: ***профаза***, ***метафаза***, ***анафаза*** и ***телофаза***.

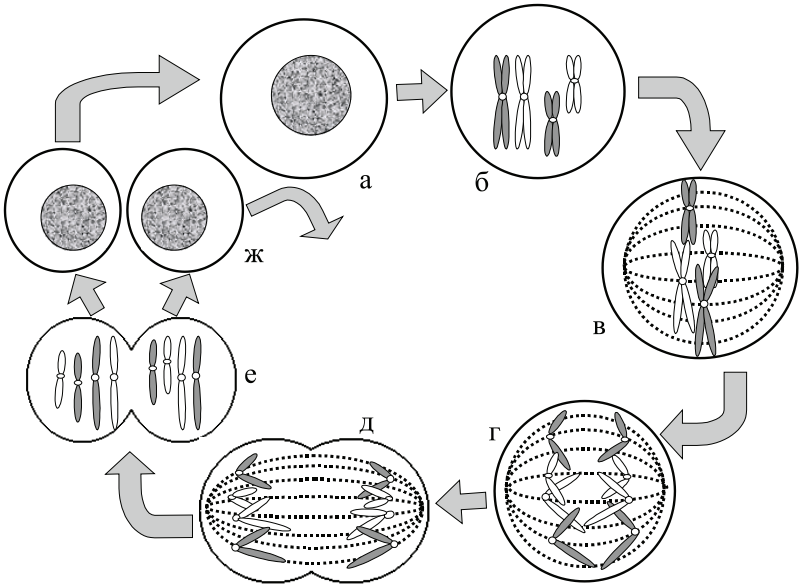

Рис. 6. Митоз. Схематическое изображение двух пар хромосом во время митоза: а – интерфаза; б – профаза; в – метафаза; г – анафаза; д – телофаза; е – цитокинез; ж – интерфазы разделившихся клеток

Профаза – стадия, во время которой происходит постепенная конденсация (уплотнение) и спирализация хромосом в результате чего, они имеют вид дискретных структур. Во время профазы образуется ***веретено деления*** (двуполюсное веретено, состоящее из пучков микротрубочек, которые тянутся от одного полюса к другому).

Метафаза – стадия, характеризующаяся тем, что полностью осуществляется присоединение хромосом к нитям веретена, и хромосомы

собираются в экваториальной плоскости клетки, находящейся на одинаковом расстоянии от обоих полюсов веретена. На этой стадии хромосомы достигают максимальной конденсации.

Цитогенетики выделяют начало метафазы как прометафазу, на которой довольно часто проводят лабораторные исследования. Прометафаза – короткий промежуточный период между профазой и метафазой, в ходе которой исчезает ядерная мембрана и появляются нити веретена деления, к которым с помощью кинетохоров присоединяются хромосомы.

Анафаза – стадия разделения сестринских хроматид и их расхождения к противоположным полюсам веретена.

Телофаза – последняя стадия митоза. Она начинается, когда все сестринские хроматиды доходят до полюсов веретена. В ходе данной фазы митоза происходит восстановление клеточного ядра и внутриядерных структур. За ней, как правило, следует ***цитокинез*** – разделение двуядерной клетки на две с одним ядром в каждой.

Мейоз – деление клеток, в ходе которого получаются клетки с редуцированным гаплоидным набором хромосом (половые клетки). Данный процесс включает в себя две фазы клеточного деления: ***мейоз* 1** и ***мейоз 2***. В ходе мейоза происходит редукция диплоидного хромосомного набора ($2n$) до гаплоидного (n).

Мейоз 1, в свою очередь также делится на несколько стадий: ***профаза I, метафаза I, анафаза I*** и ***телофаза I***. Профаза I является комплексной стадией, которая, в свою очередь, делится на несколько стадий:

лептотена: 46 хромосом состоят из 2-х хроматид и начинают коденсироваться; эта стадия характеризует начало мейоза;

зиготена: гомологичные хромосомы спариваются своими участками – этот этап деления называемый ***синапсом***; в результате образуется тройственная структура – ***синаптонемальный комплекс***;

пахитена: стадия завершения синапса, спаренные гомологи, состоящие из 4-х хроматид, формируют **бивалент**; во время этой стадии происходит ***кроссинговер*** – обмен последовательностями ДНК хромосом между несестринскими хроматидами бивалентов. Результатом этого процесса является ***рекомбинация генетического материала*** между гомологичными хромосомами, создающая новые комбинации генов в дочерних клетках;

диплотена: на этой стадии хромосомы отталкиваются друг от друга до тех пор, пока гомологи не будут соединены только участками, подверженными кроссинговеру. Такие участки называются ***хиазмами***;

диакинез: хромосомы претерпевают наибольшее сжатие во время этой последней стадии профазы I.

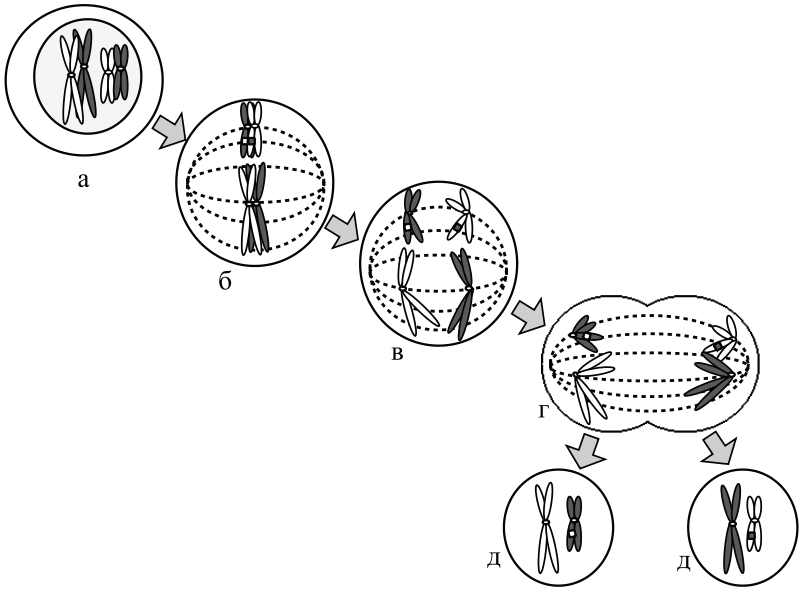

Рис. 7. Мейоз I. Схематическое изображение двух пар хромосом во время мейоза I:
а – профаза I; б – метафаза I; в – анафаза I; г – телофаза I;
д – клетки, образующиеся в результате первого мейоза

Метафаза I характеризуется исчезновением ядерной мембраны и образованием ***мейотического веретена деления***. Биваленты выравниваются по экваториальной плоскости клетки и их центромеры случайным образом ориентируются к противоположным полюсам. Во время анафазы I биваленты разделяются и расходятся к противоположным полюсам. В ходе телофазы I каждая хромосома из двух гаплоидных наборов достигает противоположных полюсов, и образуются две дочерние клетки, в каждой из которых по 23 хромосомы, состоящие из 2-х хроматид.

Мейоз 2 практически идентичен митотическому делению за исключением того, что в данном случае делящиеся клетки имеют гаплоидный хромосомный набор. Хромосомы выравниваются по экваториальной плоскости клетки на стадии ***метафазы II***, хроматиды разделяются и расходятся к противоположным полюсам на стадии ***анафазы II***, цитокинез происходит на стадии ***телофазы II***. В результате митотического деления (мейоза 1 и 2), как правило, образуются 4 дочерние клетки с гаплоидным набором хромосом, каждая из которых генетически отличается друг от друга за счет процесса кроссинговера и случайного расхождения гомологичных хромосом.

2.8. Вариации генома человека: генные и хромосомные мутации

В основе практически всех генетических исследований лежит понятие ***вариации***. Это понятие включает в себя все типы изменений последовательностей ДНК (***мутаций***), наблюдаемых на хромосомном или генном уровнях. С одной стороны, вариации генома служат объяснением межиндивидульного разнообразия, с другой, мутации могут приводить к патогенным изменениям жизнедеятельности организма, являясь, таким образом, причиной наследственного заболевания. Следует также ввести несколько терминов, использующихся для описания процесса мутационного изменения ДНК: ***локус*** – определенный участок хромосомы, содержащий специфические последовательности ДНК или гены, ***аллель*** – две или более альтернативных форм гена, расположенных в одном и том же локусе пары гомологичных хромосом. Если различие последовательности ДНК двух аллелей одного локуса наблюдается с частотой более 1 % в общей популяции, то данный тип вариации обозначается ***полиморфизмом***. Изменение последовательности ДНК, имеющее меньшую частоту, как правило, называется ***мутацией***. Известно два основных вида мутаций, связанных с наследственной патологией: ***хромосомные*** **(геномные)** – изменение числа и/или структуры хромосом (генома) в клетке и ***генные*** (изменение последовательности ДНК в конкретном гене). Исходя из данной классификации, можно выделить направления генетических исследований нарушений последовательности ДНК, приводящих к наследственным заболеваниям, которые изучает ***медицинская генетика***, а именно, поиск изменений последовательностей нуклеиновых кислот и белков на молекулярном уровне (***молекулярная генетика***) и изучение изменений числа, структуры и организации хромосом (*классическая* и ***молекулярная цитогенетика***).

Молекулярно-генетические исследования основаны на современных представлениях об особенностях молекулы ДНК и биохимических процессах транскрипции и трансляции. Основная их цель заключается в выявлении генных мутаций, приводящих к характерным фенотипическим проявлениям. Генные мутации представляют собой изменение расположения, потерю и приобретение ДНК относительно её линейной последовательности, обнаруживаемой в норме. Наиболее частые типы генных мутаций являются замена, потери и/или вставки одного нуклеотида. Последние обозначаются аббревиатурой ***SNP*** (single nucleotide polymorphsims) и проявляются наиболее часто в геноме человека. В среднем, SNP, ведущие к вариации между аллелями у одного индивидуума, встречаются в каждых 1500 пар нуклеотидов. Однако, большинство из них расположены в некодирущих последовательностях и, в основном, не

имеют фенотипических последствий. Если изменение последовательности ДНК происходит в гене, кодирующем белок, то оно с высокой долей вероятности будет связано с нарушениями жизнедеятельности организма. Существует следующая классификация генных мутаций:

Миссенс мутации – замена одного нуклеотида на другой или ***несинонимические изменения последовательности ДНК***. Теоретически можно выделить два типа подобных мутаций: ***консервативные*** и ***неконсервативные***. Консервативные миссенс мутации приводят к замене одного кодона на равнозначный (кодоны, кодирующие один и тот же аминокислотный остаток) или на кодон другого аминокислотного остатка, который не изменяет физико-химические свойства белка, кодированного соответствующим геном. Неконсервативные миссенс мутации, как правило, изменяют биохимические свойства белка и, следовательно, приводят к нарушению его функциональной активности.

Нонсенс мутации – изменения кодирующей последовательности ДНК, приводящие к образованию стоп-кодона, вследствие чего синтезируется белок, в котором отсутствует какая-то часть его последовательности.

Мутация сдвига рамки считывания – любые изменения последовательности ДНК гена (в основном, потери или вставки нуклеотидов), которые приводят к сдвигу считывания последовательности в ходе транскрипции. Результатом этого является синтез совершенно нового белка или образование матричной РНК, не несущей в себе никакой информации относительно аминокислотной последовательности.

Непатогенные изменения последовательности ДНК – вариации последовательности ДНК, включающие консервативные миссенс мутации, или так называемые ***синонимические мутации***, которые не изменяют закодированную информацию в ДНК гена или не воздействуют на функциональную активность белковых макромолекул.

Мутации также происходят в некодирующих последовательностях ДНК (интронах). Данный тип вариаций, как правило, не имеет фенотипических последствий. Тем не менее, при сдвиге рамки считывания или образовании альтернативных форм белковых макромолекул (***альтернативный сплайсинг***), эти вариации могут приводить к нарушению функциональной активности белковых макромолекул и, как следствие, фенотипическим последствиям. В данном контексте сложностью представляется идентификация патогенных мутаций, так как понятие «нормы» для медико-генетических исследований предположительно в силу того, что на молекулярном уровне геном человека является в значительной степени нестабильным. Иными словами, только ***рекуррентные мутации*** (наиболее частые повторные мутации, которые выявляются

у индивидуумов с известным наследственным заболеванием) могут быть признаны патогенными. В случаях, когда обнаруживается новая мутация, возникает необходимость молекулярно-генетических исследований близких родственников пациента, чтобы определить является ли она причиной заболевания.

Хромосомные (геномные) мутации (аномалии) связаны либо с различными структурными перестройками хромосом, либо с изменением их числа (*n*). Численные изменения в наборе хромосом (*кариотипе*) могут быть двух типов: ***полиплоидии*** – умножение полного хромосомного набора (3*n*, 4*n* и т.д.) или генома, кратное гаплоидному числу хромосом; ***анеуплоидии*** – увеличение или уменьшение числа хромосом в наборе, некратное гаплоидному. Эти количественные изменения кариотипа обусловлены, как правило, нарушениями мейоза или митоза. Численные хромосомные аномалии в виде анеуплоидии делятся на ***моносомию*** (потерю хромосомы или её части – частичная моносомия) и ***трисомию*** или ***полисомию*** (приобретение одной/нескольких хромосом или её части – частичная трисомия). Данные изменения кариотипа связаны с комплексом врожденных пороков развития и, как правило, с заболеваниями, сопровождающимися умственной отсталостью, или тяжелыми психическими расстройствами. В настоящее время описаны случаи изменений хромосомного набора с участием половых хромосом и некоторых аутосом при шизофрении и аутизме. Например, до 5–15 % детей с аутистическими расстройствами имеют хромосомные аномалии. Это позволяет рассматривать хромосомный дисбаланс в организме в качестве одной из возможных причин отдельных случаев нервных и психических болезней.

Структурные изменения могут затрагивать всю хромосому, а также сопровождаться изменением количества генетического материала в ядре или его перемещением. ***Сбалансированные хромосомные аномалии*** представляют собой перестройки, за счет которых выявляется кариотип с измененным набором расположения генов в пределах хромосом или между хромосомами, который отличается от традиционного (нормального). В большинстве случаев носители сбалансированных хромосомных аномалий фенотипически нормальны, но для их потомства возникает большой риск иметь несбалансированный кариотип. Следует отметить, что в отдельных случаях носители сбалансированного кариотипа могут иметь различные врожденные пороки и/или микроаномалии, а также нарушения нервного и психического развития. Если при структурных хромосомных мутациях наблюдается потеря или приобретение генетического материала, то они являются ***несбалансированными хромосомными аномалиями.***

Цитогенетически структурные хромосомные (геномные) перестройки классифицируют по принципу линейной последовательности расположения генов: ***делеции*** (потеря хромосомных участков), ***дупликации*** (удвоение хромосомных участков), ***инверсии*** (перевертывание на 180° относительно нормальной последовательности хромосомных участков), ***инсерции*** (вставки хромосомных участков) и ***транслокации*** (изменение расположения хромосомных участков). В последнее время в литературе хромосомные микроаномалии и перестройки могут обозначаться, как ***геномные***.

Изменения генома (хромосом), приводящие к редким заболеваниям, могут включать как крупные микроскопически видимые перестройки (более 5 млн пн), так и вариации числа копий последовательностей ДНК (CNV) и однонуклеотидные полиморфные изменения последовательности ДНК (SNP). Как уже было сказано выше, в настоящее время для определения причины заболевания на геномном уровне используются различные технологии, наиболее распространенными из которых являются полногеномные методы, в частности, молекулярное кариотипирование (arrayCGH). Однако патогенность выявленных вариаций генома можно определить только при помощи использования инновационных биоинформатических технологий. Большой массив информации, собранный на интернет-ресурсах, позволяет уточнить функциональные особенности (онтологию) как отдельного гена, так и целой генной сети за счёт анализа последовательности кодируемого белка и моделирования молекулярных процессов, инициированных геномным изменением.

Таким образом, с хромосомными болезнями связаны аномалии микроскопически видимых численных или структурных нарушений хромосом, геномные же болезни связаны как с микроаномалиям хромосом, так и с вариациями числа копий последовательностей ДНК (CNV).

Большое значение имеет изучение хромосомных мутаций, под действием факторов внешней среды. Показано, что хромосомы человека отличаются высокой чувствительностью к действию радиации и химических веществ, которые принято называть мутагенными факторами (***мутагенами***). При анализе воздействия этих факторов следует различать нарушения в соматических и половых клетках. Первые затрагивают непосредственно жизнедеятельность исследуемого организма, тогда как вторые проявляются в последующих поколениях. Мутации хромосом в зародышевых клетках ведут к образованию аберрантных гамет, в результате которых возможна гибель зигот, эмбрионов на ранних стадиях внутриутробного развития, а также рождение детей со специфическими или неспецифическими хромосомными аномалиями, которые проявляются в виде определенной клинической картины или определенного

фенотипа. Мутации хромосом в соматических клетках ведут к образованию неспецифичных хромосомных аномалий в виде хромосомных или хроматидных пробелов, разрывов, обменов в кариотипе, не ведущих к определенному фенотипу, характерному для конкретного заболевания. Подобные мутации не наследуются. Следует отметить, что при изучении такого рода воздействия мутагенных факторов представляется возможным оценить качественно и количественно действие ионизирующей радиации, химических веществ, вирусов, но полученные данные не могут быть перенесены на половые клетки, где результатом действия являются специфические хромосомные аномалии, влияющие на фенотип.

Хромосомные аномалии могут проявляться в так называемых мозаичных формах, к которым приводит неправильное деление клеток на различных стадиях эмбрионального и постнатального развития. Это позволяет разделить хромосомные аномалии на ***мозаичные*** и ***регулярные*** (аномальный кариотип наблюдается во всех клетках организма). ***Хромосомный мозаицизм*** представляет собой наличие нескольких популяций клеток с различным друг от друга хромосомным набором. Как правило, при мозаичных формах хромосомных аномалий наблюдают отсутствие отдельных клинических признаков определенного хромосомного синдрома и более легкое течение заболевания, но некоторые симптомы практически всегда присутствуют. Мозаичные структурные хромосомные аномалии наблюдаются достаточно редко, поэтому, когда речь идет о мозаичных хромосомных аномалиях, имеются в виду, в основном, численные аномалии, мозаичные формы которых имеют достаточно высокую популяционную частоту. Следует также отметить феномен ***тканеспецифического хромосомного мозаицизма*** – клетки с аномальным хромосомным набором присутствуют только в определенной ткани организма.

2.9. Эпигенетические процессы и наследственные болезни

В исследованиях генетических процессов, связанных с патогенезом заболеваний, особое внимание уделяется не только изменениям последовательностей ДНК, но также и транскрипционной активности ДНК в клетке. Вариация активности генома (экспрессия генов) как в отдельно взятой клетке, так и во всем организме достигается за счет различных эпигенетических процессов. ***Эпигенетические процессы*** представляют собой наследуемые изменения в экспрессии генов, нарушающие законы Менделя, без количественного или качественного (мутационного) изменения последовательности ДНК. В настоящее время описан целый ряд эпигенетических феноменов и процессов, таких как инактивация хромосомы X, геномный импринтинг, унипарентальная дисомия, изменение

порядка репликации ДНК, метилирование ДНК, биохимическая модификация гистонов и другие. Изучает подобные процессы особое направление в генетике – ***эпигенетика***. Наиболее изученными эпигенетическими процессами являются модификация химической структуры ДНК за счет ***метилирования цитозина*** ЦГ динуклеотидов в 5′-положении, приводящее к транскрипционной инактивации генов, а также различные ***биохимические модификации гистоновых белков***, образующих хроматин, которые могут, как приводить к инактивации, так и к активации генов. Следует отметить, что эпигенетические механизмы лежат в основе нормальной активности клетки, тогда как нарушение этих процессов приводит к целому ряду функциональных аномалий различных тканей организма, среди которых наиболее часто встречаются пороки развития центральной нервной системы. Наиболее подробно изученным эпигенетическим феноменом является процесс ***инактивации хромосомы X***.

Женский кариотип характеризуется наличием двух половых хромосом X (гоносомы), а мужской – половыми хромосомами X и Y. Этот факт свидетельствует о несоответствии содержания генетической информации у лиц мужского и женского пола. У человека, как и у других млекопитающих, этот дисбаланс экспрессии генов разрешается благодаря инактивации одной из хромосом X во всех клетках организма. Предположение о возможной инактивации генов хромосомы X было впервые предложено после исследования конденсированных хроматиновых структур в клетках млекопитающих. На внутриклеточном уровне данный процесс сопровождается образованием исключительно стабильной гетерохроматиновой структуры – одной или нескольких инактивированных хромосом X. В зависимости от их количества в клетке определяется анеуплоидия хромосомы X. Селективность процесса инактивации хромосомы X является произвольной. В результате у большинства женских особей наблюдается мозаичная экспрессия материнских и отцовских аллелей локусов хромосомы X. В среднем вклад каждой хромосомы должен составлять примерно 50 %, но поскольку процесс X-инактивации случайный, то он теоретически может значительно варьировать. Инактивированная хромосома X характеризуется следующими свойствами: полной транскрипционной инактивацией большинства X-сцепленных генов; конденсацией гетерохроматина в интерфазе; поздней репликацией инактивированной хромосомы X в S фазе деления клетки; метилированием цитозина ЦГ динуклеотидов в 5′-положении в генах, подверженных транскрипционной инактивации; химической модификацией гистоновых белков (***гипоацетилирование***), приводящей к транскрипционной инактивации генов, а также некоторыми другими особенностями,

которые приводят к образованию и сохранению стабильности на протяжении клеточного цикла ***факультативного гетерохроматина*** (неактивной хромосомы X). Особое место занимает экспрессия гена ***XIST*** (X-inactive specific transcript) на инактивированной хромосоме, продуктом которой является ядерная или хромосомная РНК, покрывающая инактивированную хромосому X и участвующая в структурной организации факультативного гетерохроматина или неактивной хромосомы X.

Несмотря на то, что вклад каждой хромосомы X (отцовской и материнской) должен составлять примерно 50 %, у значительного числа женщин наблюдается инактивация преимущественно одной из родительских хромосом X – ***неравная X-инактивация*** или ***сдвиг X-инактивации***. Известны следующие механизмы инактивации хромосомы X, приводящие к случайной (равной) [1] и неравной X-инактивации [2, 3]:

1) процесс, приводящий к случайной X-инактивации, следующий: отцовская или материнская хромосома X независимо инактивируется в каждой клетке на ранних стадиях развития плода. Инактивация генов сохраняется за счет метилирования цитозина на неактивной хромосоме X. Таким образом, достигается практически эквивалентная (50:50) экспрессия генов отцовской и материнской хромосом X в организме.

2) процесс, приводящий к неслучайной X-инактивации, следующий: одна из хромосом X (отцовская или материнская) имеет летальную мутацию, что препятствует дальнейшему развитию клеток, в которых хромосома X с мутацией активна. В результате чего, в организме присутствуют преимущественно клетки, в которых мутированная хромосома X неактивна, и, таким образом, в организме наблюдается неравная X-инактивация.

3) процесс, приводящий к неслучайной X-инактивации, может быть следующий: мутации в гене *XIST* приводит к тому, что выбор активной хромосомы X неслучайный.

Неравная инактивация хромосомы X представляется одной из особенностей ряда наследственных заболеваний. Болезни, связанные с ней, могут быть вызваны генными или хромосомными (геномными) мутациями, а также внешними факторами, при которых наблюдается неравная инактивация хромосомы X без мутаций. Эта группа заболеваний включает в себя болезни, связанные с X-сцепленными рецессивными мутациями, большую часть которых составляет ***X-сцепленная умственная отсталость***, а также ряд мультифакторных заболеваний (например, аутизм).

Известным эпигенетическим феноменом, имеющим особое значение для медицинской генетики – генетики нервных и психических болезней, является полиморфизм генов или SNP (single nucleotide polymorphisms),

приводящий к изменению последовательности ДНК, связанному с нарушением функциональной активности закодированного им белка. В настоящее время описано несколько подобных генов, полиморфные варианты которых имеют повышенную частоту среди больных нервными и психическими болезнями, например, гены, кодирующие серотониновые и допаминовые рецепторы при шизофрении. Несмотря на то, что этот феномен все же связан с изменением последовательности ДНК, тот факт, что они являются синонимическими мутациями, позволяет рассматривать подобные вариации экспрессии генов в рамках эпигенетики.

Определенные участки гомологичных хромосом не являются функционально одинаковыми. Локусы в таких участках могут показывать различия их активности в зависимости от материнского и отцовского происхождения. Так, определенные гены в зависимости от того, на какой хромосоме (материнской или отцовской) они расположены, вносят различный вклад в развитие эмбриона. Такие специфические различия в регуляции генов в зависимости от родительского происхождения определяются как ***геномный импринтинг***.

Геномный импринтинг может вовлекать генные локусы либо отцовского, либо материнского происхождения. Так, в соматических клетках человека, как у мужчин, так и у женщин отцовская последовательность ДНК гомологичных хромосом может быть активна, в то время как материнская последовательность ДНК инактивирована. Геномный импринтинг и унипарентальная дисомия (см ниже) являются причиной ряда таких заболеваний, как синдром Прадера-Вилли и Ангельмана, связанных с локусами длинного плеча (q) хромосомы 15. Геномный импринтинг также зависит от особенностей метилирования в зависимости от родительского происхождения хромосом (различное метилирование локусов родительских хромосом). Например, если ген материнского происхождения метилирован (инактивирован), а этот же ген отцовского происхождения не является метилированным, то только отцовский ген будет экспрессироваться. Так как импритинг стирается в половых клетках, то гомологичные гены становятся метилированными в женских половых клетках, а в мужских половых клетках – неметилированными, в результате чего в зиготе наблюдается различие в метилировании аллелей импринтированных генов. Особенно хорошо демонстрирует феномен геномного импринтинга один из участков хромосомы 7 у мыши. Если одна третья часть обеих хромосом 7 в эмбрионе мыши отцовского происхождения, то мышь будет иметь большие размеры

тела. Напротив, если материнского, то эмбрионы будут иметь маленькие размеры по сравнению с нормой и погибнут в ходе эмбрионального развития. Это объясняется различиями инактивации гена инсулин-подобного фактора роста-2 (*IGF2*), который расположен в этом участке и является особенно значимым для роста в эмбриональном развитии. Этот участок хромосомы 7 у мыши является гомологичным определенному участку короткого плеча хромосомы 11 у человека. Однородительская дисомия этого участка предрасполагает к наследственным синдромам, которые характеризуются клиникой синдрома Беквита-Видеманна (большой размер тела и опухоль Вилмса). Другим примером однородительской дисомии являются синдромы Прадера-Вилли и Ангельмана, при которых наблюдается потеря функций одного из хромосомных участков в зависимости от родительского происхождения. Синдромы Прадера-Вилли и Ангельмана являются клинически различными заболеваниями с нарушениями развития и поведения. Они вызваны потерей функции двух хромосомных участков, локализованных вблизи друг от друга на хромосоме 15. Эти два заболевания различаются клинической картиной вследствие потери функции участка хромосомы либо отцовского, либо материнского происхождения. Это синдромы одного и того же участка одной хромосомы. Делеция этой части хромосомы 15 обнаруживается до 70 % пациентов с синдромами Прадера-Вилли или Ангельмана. Если делеция затрагивает отцовскую хромосому, то это приводит к синдрому Прадера-Вилли и, наоборот, если материнскую – к синдрому Ангельмана. Для синдрома Прадера-Вилли характерны неонатальная гипотония, задержка развития, гиперфагия и ожирение, короткий рост, маленькие верхние и нижние конечности, гипогонадизм и гипопигментация. При синдроме Ангельмана делеция хромосомы 15 имеет материнское происхождение. Для этой болезни характерны следующие признаки: умственная отсталость с нарушением развития речи, дружеское расположение (ласковый смех без видимых причин), гиперактивное поведение, судороги, специфические изменения в ЭЭГ и гипопигментация. Имеются ДНК маркеры, позволяющие установить родительское происхождение делеции молекулярно-генетическими методами. При синдроме Прадера-Вилли отсутствует отцовский аллель, а при синдроме Ангельмана – материнский. Примерно 30–35 % пациентов с синдромом Прадера-Вилли и 20–30 % с синдромом Ангельмана не имеют делеции. В этих случаях часто обнаруживают однородительскую дисомию у 30 % детей с синдромом Прадера-Вилли и у 2 % –

с синдромом Ангельмана. У 1–2 % пациентов с синдромом Прадера-Вилли и у 20 % с синдромом Ангельмана не обнаруживают ни делеции, ни однородительской дисомии. В этих случаях болезнь может иметь семейное происхождение. Эти два синдрома являются примером геномного импринтинга у человека. Генные локусы этих синдромов, следовательно, являются объектами геномного импринтинга. Импринтинговые локусы в этом участке затрагивают большое число генов и, по-видимому, контролируются общим центром импринтинга, расположенном в этом районе. Мутации в центре импринтинга могут передаваться половыми клетками одного из родителей.

Унипарентальная или однородительская дисомия является феноменом, определяемым присутствием двух гомологичных хромосом (или хромосомных сегментов), унаследованных только от одного родителя и отсутствием соответствующей хромосомы (или сегмента), унаследованных от другого родителя. Различают два типа унипарентальной дисомии: ***изодисомия*** и ***гетеродисомия***. Термин изодисомии относится к наличию двух копий одной и той же родительской хромосомы; гетеродисомия означает, что каждая из двух гомологичных хромосом передалась от одного родителя. Однородительская дисомия может являться причиной различных заболеваний у человека, включая мультифакторные болезни, связанные с нарушениями психики.

Повторяющиеся последовательности ДНК являются относительно нестабильными элементам генома человека. Для медицинской генетики, изучающей различные генетические феномены, связанные с нарушениями психики, особый интерес представляют ***тринуклеотидные повторы*** – тандемно повторяющиеся элементы, дискретной единицей которых является последовательность, состоящая из 3-х нуклеотидов. Несмотря на то, что заболевания, причиной которых является экспансия (увеличение) тринуклеотидных повторов, вызваны мутационными изменениями последовательности ДНК, многие из них принято рассматривать в рамках эпигенетики. Это связано с тем, что некоторые тринуклеотидные повторы имеют в своей структуре цитозин и гуанин, образующие ЦГ последовательности, цитозин которых в условиях экспансии метилируется. Наиболее ярким примером такого заболевания, имеющим исключительное значение для медицинской генетики, педиатрии и психиатрии, является ***синдром умственной отсталости, сцепленный с ломкой хромосомой X*** или ***FRAXA***. FRAXA представляет собой самую частую генетическую форму, связанную с умственной отсталостью и экспансией тринуклеотидных повторов. Это заболевание связано с увеличением нестабильных

ЦГГ-повторов в гене *FMR1* (*Fragile X mental retardation 1*). Считается, что больные FRAXA характеризуются наличием более 200 тринуклеотидных ЦГ-повторов. В результате экспансии ЦГГ-повторы также как и ЦГ динуклеотиды, расположенные далее по длине последовательности, метилируются, что приводит к отсутствию экспрессии гена *FMR1*. Отсутствие продукта транскрипции гена *FMR1* – белка FMRP приводит к умственной отсталости в сочетании с различными когнитивными отклонениями. Из фенотипических проявлений синдрома FRAXA необходимо отметить умеренную или тяжелую умственную отсталость (IQ = 30–55), гиперактивность, гиперкинез, эмоциональную нестабильность, признаки аутизма, большие оттопыренные ушные раковины, макроорхидизм, а также неадекватные движения рук (в 60 % случаев); уменьшенный ответный глазной контакт (в 90 % случаев); характерные изменения речи (быстрое повторение целых фраз, окончаний, звуков, бормотание); у 50 % больных девочек наблюдается умственная отсталость средней тяжести, приводящая к когнитивным отклонениям; макроцефалия (в раннем детстве). В ряде случаев наблюдается внезапная смерть. Психопатологические отклонения, в основном присутствующие у мальчиков, характеризуются выраженным полиморфизмом: от разной степени умственной отсталости до ранней злокачественной детской шизофрении со спонтанно возникающими тревожно-депрессивными состояниями и бредоподобным фантазированием. У нормальных индивидуумов число повторов варьирует от 6 до 52, известно также, так называемое, «***премутационное состояние***», которое характеризуется увеличением ЦГГ-повторов от 54 до 200. Частота носителей премутации в общей популяции оценивается как 1:250 женщин и 1:800 мужчин. У 30 % мужчин с премутацией в гене *FMR1* наблюдаются характерные фенотипические отклонения – синдром FXTAS (fragile X tremor and ataxia syndrome – синдром тремора и атаксии, сцепленный с ломкой хромосомой X). Кроме тремора и атаксии у этих больных наблюдаются также социопатия, уменьшенный ответный глазной контакт, депрессия, когнитивные расстройства; отмечается также гиперактивность с дефицитом внимания, легкая умственная отсталость и аутистические проявления. Среди женщин с премутацией в гене *FMR1* частота фенотипических отклонений пока не выяснена. Это может быть связано с компенсирующим эффектом присутствия второй хромосомы X в женском кариотипе. Однако, известно, что у женщин с премутацией в 16–24 % случаев наблюдается повышенная частота рекуррентных спонтанных абортов, причина которых в настоящее время неизвестна.

Глава 3. СЕМИОТИКА НАСЛЕДСТВЕННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

Семиотика наследственных болезней – раздел медицинской генетики, который изучает признаки (симптомы) генетических заболеваний, включая в себя следующие направления: особенности клинических проявлений наследственных заболеваний и принципы их клинической диагностики; анализ данных функциональных и лабораторных методов исследования (цитогенетических, молекулярно-цитогенетических, молекулярно-генетических и др.).

3.1. Особенности клинических проявлений наследственных заболеваний

Семейный характер заболевания. Повторные случаи заболевания в семье указывают на его возможную генетическую природу. Однако единственный случай заболевания в родословной не исключает его наследственной этиологии, поскольку может быть результатом новой (спорадической) мутации или гетерозиготности обоих родителей по рецессивной мутации.

Прогредиентное течение – это прогрессирующий характер течения наследственного заболевания. Например, нейродегенеративные заболевания проявляются в виде потери ребенком ранее приобретенных навыков, приводя впоследствии к развитию тяжелого поражения ЦНС и гибели больного.

Редко встречающиеся специфические симптомы или их сочетания у больного дают основание предполагать наследственную природу заболевания. Например, голубые склеры наблюдаются у больных с несовершенным костеобразованием, грубые черты лица типичны для некоторых болезней накопления, звездчатая радужная оболочка глаз – признак синдрома Вилмса.

Врождённый характер заболевания. Если ребёнок рождается с патологическими симптомами, говорят о врождённом характере болезни. Все хромосомные синдромы формируются внутриутробно и могут быть выявлены при рождении, а в некоторых случаях – при ультразвуковом исследовании плода. Тем не менее, врожденность патологических признаков не всегда свидетельствует о наследственной природе заболевания. Примерами врождённых, но не наследственных болезней, являются эмбриофетопатии: талидомидная, алкогольная, вызванная вирусом краснухи и др.

Множественное поражение систем органов. Множественное поражение позволяет предполагать наследственную причину заболевания, поскольку большинство мутаций в генах, вызывающих наследственные болезни, даёт плейотропный эффект. Например, при мутациях гена *TSC1*, связанных с развитием туберозного склероза, наблюдается ряд признаков – снижение интеллекта, эпилепсия, высыпания на лице в виде так называемой аденомы Прингля (представляет собой фиброзную ткань и кровеносные сосуды).

Множественные микроаномалии развития у больного. Микроаномалии развития (МАР) – это необычные морфологические черты, не нарушающие функции каких-либо органов. Они служат индикаторами нарушенного морфогенеза и могут представлять собой симптомы заболеваний. Тщательное описание МАР является одним из диагностических приемов при большинстве наследственных заболеваний. Свыше 40 % известных наследственных синдромов не имеют цитогенетических, биохимических или иных маркеров и идентифицируются на основании фенотипа больного, включая комплекс МАР. Подробно МАР описаны в разделе «Принципы клинической диагностики наследственных болезней».

Манифестация заболевания в определенном возрасте. Многие наследственные болезни имеют характерный возраст манифестации (от рождения при хромосомных /геномных/ болезнях до пожилого возраста при болезни Альцгеймера). Так, возраст появления первых признаков фенилкетонурии – 3–4 месяца, а миопатии Эрба – Рота – около 20 лет.

Этническая предрасположенность. Некоторые наследственные заболевания встречаются преимущественно у лиц определенных этнических групп. Серповидноклеточная анемия широко распространена в ряде африканских стран, в частности в Гане. Тирозинемия часто встречается у франкоязычного населения Канады.

Устойчивость к терапии. Резистентность к наиболее распространенным методам лечения характерна для наследственных заболеваний. Например, при муковисцидозе респираторная вирусная инфекция приводит к развитию пневмонии, несмотря на лечение. К счастью, резистентность к терапии характерна не для всех наследственных болезней. В тех случаях, когда известен патогенез заболевания, возможна успешная терапевтическая коррекция (например, специфическая диетотерапия при фенилкетонурии и галактоземии, заместительная гормональная терапия при врожденном гипотиреозе).

Дополнительными признаками наследственной патологии являются следующие проявления, специфичные для определенных групп заболеваний: спонтанные аборты и мертворождения в семье характерны для хромосомных заболеваний; задержка физического развития типична для хромосомных аномалий и для более чем 500 моногенных синдромов; родственные браки характерны для заболеваний с аутосомно-рецессивным типом наследования; необычный запах мочи и пота – признак ряда метаболических болезней; отставание в психическом развитии является признаком большинства наследственных заболеваний; деменция – ведущий симптом нейродегенеративных заболеваний; нарушение толерантности к физической нагрузке – признак митохондриальных миопатий; увеличение печени и селезенки в сочетании с грубыми чертами лица типичны для болезней накопления.

3.2. Принципы клинической диагностики наследственных болезней

Диагностика наследственных заболеваний чрезвычайно сложна из-за их многочисленности (несколько тысяч нозологических форм) и низкой частоты (частота многих заболеваний составляет 1:200000 и более).

Термин ***синдром*** обычно применяют для обозначения совокупности воспроизводимых симптомов, имеющих общую этиологию. Однако, в клинической генетике его используют для обозначения отдельных нозологических форм. Это связано с тем, что исторически многие из них были описаны как симптомокомплексы без понимания этиологии. Несмотря на то, что в дальнейшем стали известны генетические причины этих заболеваний, за ними традиционно сохранилось название «синдром». Таким образом, для наследственной патологии понятия «болезнь» и «синдром» равнозначны. Для обозначения некоторых нозологических форм употребляются оба термина (например, болезнь Дауна и синдром Дауна, болезнь Марфана и синдром Марфана).

Среди симптомов наследственных болезней редко встречаются патогномоничные. Чаще всего один и тот же признак встречается при различных заболеваниях. Так, катаракта и помутнение хрусталика наблюдаются при более чем 30 наследственных заболеваниях, а умственная отсталость при сотнях нозологических форм, поэтому в клинической генетике значим синдромальный подход к диагностике, согласно которому только сочетание симптомов является специфичным для конкретного заболевания.

На основе данных об особенностях клинических проявлений наследственной патологии строится схема обследования больного. Важным методом с точки зрения генетики является ***антропометрия***.

Необходимо оценивать следующие антропометрические показатели: длину и массу тела больного, тип телосложения, соотношение длины конечностей и туловища, а также отдельных частей конечностей (например, плеча и предплечья), окружности груди и головы, соотношение продольного и поперечного размеров черепа, длину стопы и кисти. Эти данные оцениваются по специально разработанным центильным таблицам, основные из которых представлены в Приложении 1. При многих наследственных заболеваниях антропометрические показатели выходят за пределы допустимых вариаций вследствие нарушения роста скелета, диспропорциональности развития его отдельных частей. Например, высокий рост, длинные верхние и нижние конечности, пальцы могут быть признаками синдрома Марфана. Уменьшение окружности головы и размеров стоп помогают в диагностике синдрома Ретта.

Очень важно выявить у больного ***врождённые аномалии развития,*** которые могут быть либо проявлением наследственной патологии, либо следствием тератогенного воздействия средовых факторов. Следует остановиться на различиях между следующими употребляемыми в литературе терминами: врожденные пороки развития, врожденные аномалии, микроаномалии развития.

Врождённый порок развития **(ВПР) –** это морфологический дефект органа или его части, или большой области тела, ведущий к нарушению функции органа (органов) либо социальной адаптации индивидуума. ***Врождённая аномалия*** (или дефект) – более общее понятие, это любая функциональная или структурная аномалия, вызванная либо генетическим заболеванием, либо средовым событием, предшествующим рождению. Врожденные пороки развития подробно рассмотрены ниже (см раздел «Врожденные аномалии и синдромы»).

Микроаномалии развития **(МАР)** – необычные морфологические черты, которые, в отличие от пороков развития, не сопровождаются нарушениями функции органа или системы.

Как было сказано выше, при обследовании больных необходимо обращать внимание на МАР. Последние встречаются также и у здоровых людей, но наличие нескольких МАР указывает на высокую вероятность наследственной патологии. В табл. 2 и 3 представлен перечень наиболее значимых микроаномалий и способы определения некоторых из них.

МАР, часто исчезающие в течение первых 2 лет жизни следующие: плоская капиллярная гемангиома на лице и шее, неполное развитие завитка уха, гипоплазия ногтя большого пальца ноги, широкая переносица, эпикант.

Таблица 2

Малые аномалии развития

МАР органов или части тела	Клинические признаки
1	2
I. Лицевая область и остальная часть черепа	Лицо: плоское, круглое, треугольное, вытянутое, грубые черты, плоский профиль. Брови: сросшиеся (синофриз), кустистые. Нос: короткий, клювовидный, загнутый, седловидная переносица, широкая плоская переносица, плоские крылья носа, открытые вперёд ноздри. Фильтр: длинный, короткий, плоский, глубокий. Волосы: торчащие, два завитка (две макушки). Голова: брахицефалия, долихоцефалия, тригоноцефалия, акроцефалия, выступающий или скошенный лоб, выступающий затылок, затылочная шпора (выступающая затылочная кость), плоский затылок.
II. Область глазных щелей и вокруг них	Экзофтальм, косоглазие. Веки: эпикант, телекант, птоз (малый), колобома век. Глазные щели: узкие, короткие. Разрез глазных щелей: монголоидный, антимонголоидный. Расстояние между глазами: гипотелоризм, гипертелоризм. Склеры: голубые, телеангиэктазии на склерах. Радужная оболочка глаза: колобома, гетерохромия. Ресницы: неправильный рост (например, двойной ряд ресниц).
III. Область ротовой полости и вокруг нее	Челюсти: прогения (выступающая нижняя челюсть), ретрогения (смещенная назад нижняя челюсть), прогнатия (выступающая верхняя челюсть), макрогения (большая нижняя челюсть) и микрогения (маленькая нижняя челюсть), микрогнатия (маленькая верхняя челюсть) и макрогнатия (большая верхняя челюсть). Подбородок: скошенный, выступающий. Язык: исчерченность, макроглоссия и микроглоссия (увеличение и уменьшение языка), короткая уздечка. Губы: тонкие, толстые, с бороздами, с множественными уздечками. Рот: макростомия (большой рот) и микростомия (маленький рот). Нёбо: плоское, высокое, арковидное, готическое, раздвоение язычка. Зубы: неправильное расположение, неправильная форма, врождённый избыток или врождённое отсутствие одного или нескольких зубов, гипоплазия эмали, диастема верхняя/нижняя (увеличенние промежутка между первыми резцами), тремы (широкие промежутки между зубами).
IV. Ушные раковины	Асимметрия длины, большие, маленькие оттопыренные, косо направленные, низко расположенные, приросшая мочка, маленькая или отсутствующая мочка, уплощенные ушные раковины, неполное развитие завитка со сглаженным упрощенным рисунком, отсутствие козелка, околоушные придатки, преаурикулярная фистула.

Окончание табл. 2

1	2
V. Верхние конечности	Длина пальцев: брахидактилия (короткие пальцы), укорочение отдельных пальцев, арахнодактилия (длинные «паучьи» пальцы). Количество пальцев: полидактилия (дополнительные пальцы), олигодактилия (уменьшение количества пальцев). Форма пальцев: утолщение ногтевых фаланг, конусовидная форма пальцев. Подвижность пальцев: камптодактилия (тугоподвижность межфаланговых суставов), сверхгибкость (гиперэкстензия) пальцев. Мизинец: короткий, серповидный (клинодактилия), дополнительные складки, отсутствие сгибательной складки либо одна складка на мизинце. Большой палец: широкий, трёхфаланговый, его гипоплазия. Ногти: удвоение ногтя большого пальца, гипоплазия ногтей. Синдактилия (сросшиеся пальцы). Поперечная ладонная борозда (четырехпальцевая борозда).
VI. Нижние конечности	Форма и длина: укороченные, удлинённые, вальгусная деформация (Х-образные) или варусная деформация (О-образные). Форма стопы: полая, стопа-качалка. Пальцы стоп: синдактилия, асимметрия длины пальцев, 3-й палец длиннее 2-го, глубокая борозда между 1-м и 2-м пальцами, сандалевидная щель, широкий большой палец, полидактилия, брахидактилия. Глубокая складка на стопе.
VII. Область шеи и туловища	Шея: короткая, длинная, кривошея, крыловидные складки, низкая линия роста волос на шее. Грудная клетка: воронкообразная, килевидная, щитовидная. Соски: гипертелоризм, резкая гипоплазия, расположение на разном уровне, полителия (добавочные соски). Пилонидальная ямка (втяжение кожи в виде ямки, часто локализуется в области крестца).
VIII. Половые органы	Шалевидная мошонка, увеличенный клитор.
IX. Кожа, ее придатки и подкожная клетчатка	Пятна на коже: гемангиомы, телеангиэктазии, крупные невусы (пигментированные выступающие участки кожи диаметром более 1 см), волосатый невус, пигментация, депигментация. Повышенная растяжимость кожи, «лишняя» кожа. Волосы: сухие, редкие, шерстистые, седая прядь надо лбом, «мыс вдовы», низкий рост волос на лбу, гипертрихоз (избыточный рост волос), гирсутизм (повышенное оволосение у девочек по мужскому типу), алопеция (облысение тотальное, гнездное). Ногти: короткие, широкие, вогнутые, гипоплазия, дистрофия ногтей, ногти в виде «часовых стекол». Необычные ямки на лице и туловище, липомы, фибромы.

Таблица 3

Способы определения некоторых микроаномалий

МАР	Способ определения
Плоский затылок	Определяется у больного в положении лежа на спине – затылок, шея и спина располагаются на одном горизонтальном уровне.
Гипер- и гипотелоризм глазных щелей	Определяется с помощью орбитального индекса (Ио): отношение расстояния между внутренними углами глазных щелей к окружности головы на уровне глаз. $$Ио = a/b \times 100\,\%,$$ где a – расстояние между внутренними углами глазных щелей; b – окружность головы на уровне глаз. Ио $\geq 7{,}5\,\%$ – гипертелоризм, Ио $\leq 5{,}2\,\%$ – гипотелоризм.
Телекант	Смещение внутренних углов глазных щелей латерально при нормально расположенных глазницах.
Косое расположение ушных раковин	Угол, образованный линиями, проходящими вдоль ушной раковины и вертикалью, проходящей через мочку, $> 20^\circ$.
Асимметрия ушных раковин	Различия длины правого и левого уха $\geq 15\,\%$.
Низкое расположение ушных раковин	Определяется при сопоставлении верхней точки прикрепления ушной раковины с уровнем латерального угла глаза.
Короткий мизинец	Верхний его край совпадает или ниже уровня середины 2-й фаланги 4-го пальца.
Сандалевидная щель	Расстояние между 1-м и 2-м пальцами ноги $\geq$ ширины 2-го пальца.
Синдактилия	Сращение пальцев $> 1/3$ длины одного пальца.
Гипертелоризм сосков	Вычисляется на основании соскового индекса (Си) – отношения расстояния между центрами сосков и окружностью груди на уровне сосков (в%). $$Си = a/b \times 100\,\%,$$ где a – расстояние между центрами сосков; b – окружность груди на уровне сосков. Гипертелоризм – при Си $\geq 28\,\%$.

3.3. Клинико-генеалогический метод

Родословная – это укороченная система записи необходимой генетику информации о семье.

Генеалогический метод – метод составления родословных, т.е. прослеживание болезни (или признака) в семье с указанием родственных связей между членами семьи. В медицинской генетике этот метод можно назвать клинико-генеалогическим, поскольку речь идёт о наблюдении патологических признаков с помощью приёмов клинического обследования. Клинико-генеалогический метод включает в себя три этапа: сбор сведений о родственниках больного, составление родословной и анализ родословной.

1. Сбор сведений о родственниках больного.

При сборе семейного анамнеза помимо опроса родственников желательно использовать различные источники генеалогической информации, включая медицинскую (выписки из историй болезни, протоколы патологоанатомических исследований и др.). Важно провести осмотр и дополнительное обследование родственников больного в тех случаях, когда это необходимо и возможно.

Следует заметить, что пациенты иногда четко не представляют разницы между понятиями ***сибсы*** (дети одной родительской пары, т.е. родные братья и сестры) и ***полусибсы*** (полукровные братья и сестры), а также и то, что сводные брат и сестра, отчим, мачеха, пасынок, падчерица не являются кровными родственниками.

2. Составление родословной.

Для наглядности родословную изображают графически, пользуясь стандартными символами (рис. 8 и 9).

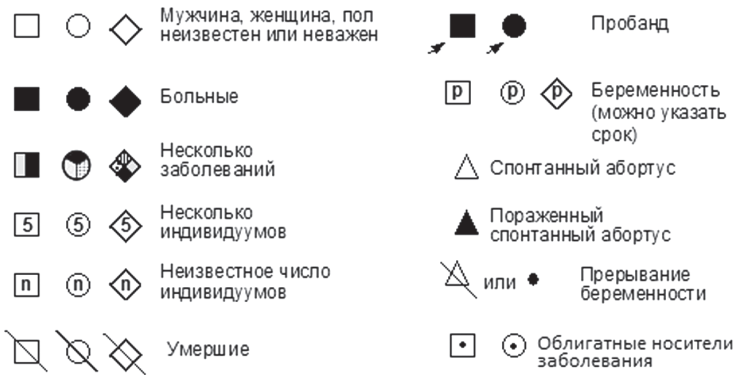

Рис. 8. Символы, используемые для изображения индивидуумов в родословных

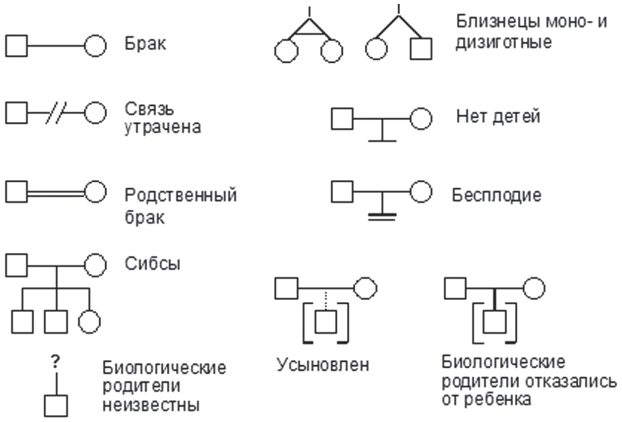

Рис. 9. Символы, используемые для изображения связей между индивидуумами в родословных

Лицо, с которого начинается составление родословной при генеалогическом анализе, называется ***пробандом*** (синонимы, встречающиеся в иностранной литературе – ***proband, propositus, indexcase***) и помечается стрелкой. Информация об остальных членах семьи (пол, болезни, родственные связи и др.) тщательно выясняется и записывается в виде символов, а также в тексте легенды.

Поколения родословной нумеруют римскими цифрами сверху вниз. Обычно цифры ставят слева от родословной. Арабскими цифрами нумеруют потомство одного поколения последовательно слева направо. Братья и сестры располагаются в родословной в порядке рождения. Таким образом, каждый член родословной имеет свой порядковый номер, например II-2, III-8. Обычно родословная собирается по одному или по нескольким признакам, поскольку исследователя, как правило, интересует конкретное заболевание или признаки.

3. Анализ родословной.

Первая задача при анализе родословной – установление наследственного характера признака. Если в родословной встречается один и тот же признак (или болезнь) несколько раз, то можно сделать предположение о его наследственной природе. После того как будет обнаружен наследственный характер признака (болезни), необходимо установить тип наследования. Типы наследования рассмотрены в разделе «Формальная генетика». Кроме того, анализ родословной позволяет установить предполагаемое носительство мутантного гена членами родословной, а также генетический риск рождения больного ребенка у разных членов семьи.

Глава 4. ФОРМАЛЬНАЯ ГЕНЕТИКА

Моногенное и мультифакторное наследование

Свыше 17 000 признаков и заболеваний человека демонстрируют ***моногенное*** наследование. Данный тип наследования характерен для ***моногенных заболеваний*** (заболевания, связанные с нарушением последовательности ДНК одного гена). Однако, такие заболевания, как гипертоническая болезнь, диабет, астма, аутизм, эпилепсия, шизофрения, биполярный психоз и т.д. контролируются многими генами. Преобладает мнение о том, что при этих состояниях неаллельные гены, расположенные в различных локусах, взаимодействуют, создавая предрасположенность к неблагоприятным факторам окружающей среды. Тип наследования этих заболеваний было принято называть ***мультифакториальными***, но, вероятно, правильнее его называть мультифакторным, а риск повторного рождения больного ребенка определять по специально разработанным таблицам, составленным на основании эпидемиологических исследований.

Выделяют следующие типы наследования моногенных заболеваний: аутосомно-доминантный и аутосомно-рецессивный, если аллели находятся на аутосомах; Х-сцепленный доминантный и рецессивный, если ген расположен на хромосоме Х; сцепленный с хромосомой Y, когда ген расположен на хромосоме Y; митохондриальный в случае мутаций в митохондриальной ДНК.

4.1. Аутосомно-доминантное наследование

Аутосомно-доминантные признаки проявляются в гетерозиготном сотоянии, т.е. тогда, когда у индивидуума есть нормальный и мутантный аллели. Иногда доминантные признаки можно проследить во многих поколениях родословной по вертикали (рис. 10). Так, в Южной Африке частым заболеванием является порфирия – нарушение синтеза гема, приводящее к накоплению и повышенной экскреции порфиринов и их предшественников, которые окрашивают мочу в красный цвет, вызывая повышенную фоточувствительность кожи и неврологическую симптоматику. Передачу этого заболевания удалось проследить вплоть до 17 века и до единственной супружеской пары, которая приехала на континент.

Генетический риск при аутосомно-доминантном наследовании. Поскольку пораженный индивидуум имеет два типа гамет – с нормальным и мутантным аллелем, то риск передачи болезни его ребенку составляет 50 %.

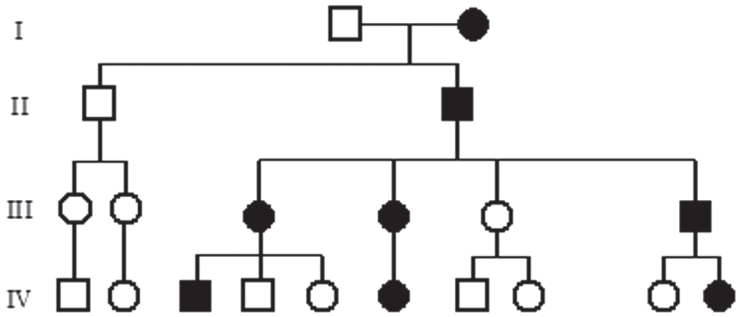

Рис. 10. Родословная при аутосомно-доминантном наследовании

Вариабельная экспрессивность. Клиническая картина аутосомно-доминантных болезней обычно чрезвычайно варьирует даже внутри одной и той же семьи. Такие различия между индивидуумами называют вариабельной экспрессивностью. Этим феноменом объясняются легкие и тяжелые формы заболеваний.

Неполная пенетрантность. Пенетрантность – частота проявления доминантного мутантного аллеля среди его носителей. Пенетрантность составляет 100%, если заболевают все носители мутации. У некоторых индивидуумов, гетерозиготных по мутациям, вызывающим аутосомно-доминантные болезни, может не быть всех клинических признаков. Это явление называют «неполной пенетрантностью», которая может быть результатом модифицирующих эффектов других генов либо влияния средовых факторов.

Неполную пенетрантность и вариабельную экспрессивность мутантного аллеля следует принимать во внимание при медико-генетическом консультировании.

Мутации *de novo*. Обычно при аутосомно-доминантных болезнях больной имеет пораженного родителя, но нередко наблюдаются исключения. Например, при ахондроплазии – одной из форм карликовости – родители обычно нормального роста, так как каждый случай заболевания является результатом новой мутации. Однако потомство больного будет поражено с риском 50%. Появление новых доминантных мутаций связано с увеличением возраста отца вследствие большого числа митотических делений, которым подвергаются половые клетки мужчин в течение репродуктивного периода жизни.

Кодоминантность. Понятие кодоминантности используется для аллельных признаков, оба из которых выявляются в гетерозиготном состоянии. Примером может служить система групп крови у человека – АВ0: при группе крови IV (АВ) оба антигена А и В присутствуют в эритроцитах.

4.2. Аутосомно-рецессивное наследование

Рецессивные признаки проявляются только в том случае, когда мутантный аллель присутствует в гомозиготном состоянии. Индивидуумы, гетерозиготные по этим признакам, не имеют фенотипических проявлений болезни, а являются ее носителями. В родословной заболевание прослеживается по горизонтали в одном поколении у сибсов (рис. 11).

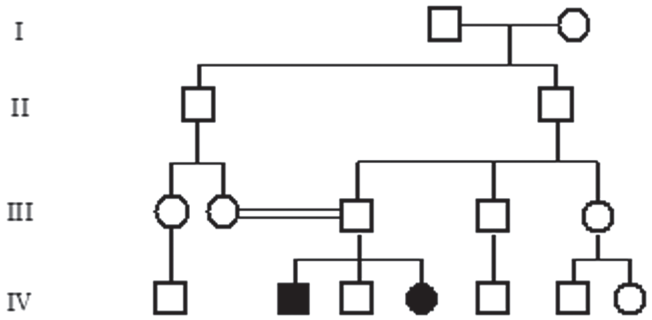

Рис. 11. Родословная при аутосомно-рецессивном типе наследования

Родственные браки. При аутосомно-рецессивных болезнях нередко можно выявить родственные связи между родителями. Например, при метаболическом заболевании алкаптонурии более четверти родителей – родственники. Однако, при частых аутосомно-рецессивных болезнях (таких, как муковисцидоз) частота родственных браков между родителями незначительна.

Генетический риск. Возможные комбинации гамет (25 % здоровых гомозигот по нормальному аллелю, 50 % здоровых гетерозигот и 25 % пораженных гомозигот по мутантному аллелю) приводят к вероятности рождения больного ребенка, равной 25 %.

Компаундные гетерозиготы. При моногенных аутосомно-рецессивных болезнях идентифицировано большое число различных мутаций в одном гене. Сочетание двух различных мутаций в одном локусе, но в разных аллелях у индивидуума (компаундной гетерозиготы), носит название аллельной гетерогенности.

4.3. Наследование, сцепленное с полом

Х-сцепленное наследование принято делить на Х-сцепленное рецессивное и Х-сцепленное доминантное.

Х-сцепленное рецессивное наследование

Поскольку мужчины имеют только одну хромосому Х, они являются ***гемизиготными*** по Х-сцепленным генам. Х-сцепленные рецессивные болезни проявляются у мальчиков, которые имеют только один мутантный аллель, а передаются здоровыми гетерозиготными женщинами-носительницами их сыновьям. Пораженные мужчины, в свою очередь, передают мутантный ген своим дочерям – облигатным носительницам, но не сыновьям. Этот тип передачи в родословной иногда называют «диагональным» (рис. 12).

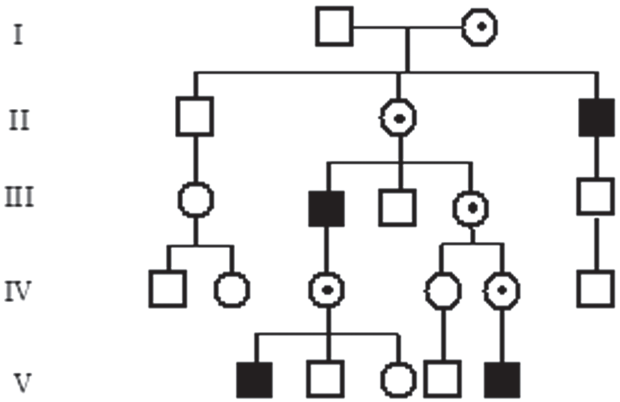

Рис. 12. Родословная при Х-сцепленном рецессивном типе наследовании

Генетический риск. Если облигатная носительница Х-сцепленной рецессивной мутации вступает в брак со здоровым мужчиной, то каждый их сын будет иметь 50 %-й риск заболевания, а каждая дочь – 50 %-й риск быть носительницей. Поскольку мужчина передает хромосому Х только своим дочерям, а хромосому Y – сыновьям, то все дочери пораженных мужчин от браков со здоровыми женщинами являются облигатными носительницами, а все их сыновья здоровы. Таким образом, мужчина не может передать Х-сцепленное заболевание своему сыну за очень редким исключением при унипарентальной гетеродисомии.

В качестве примера Х-сцепленного рецессивного заболевания можно привести мышечную дистрофию Дюшена. Это самая частая мышечная дистрофия, первыми признаками которой являются переваливающаяся походка, трудности при подъеме по лестнице без болевых ощущений и тенденция к падениям ребёнка при ходьбе. Мышечная слабость

прогрессирует и пораженные мальчики умирают в конце второго – начале третьего десятилетия жизни. Таким образом, пораженные мужчины не имеют детей и не передают соответствующие мутации потомкам (рис. 13).

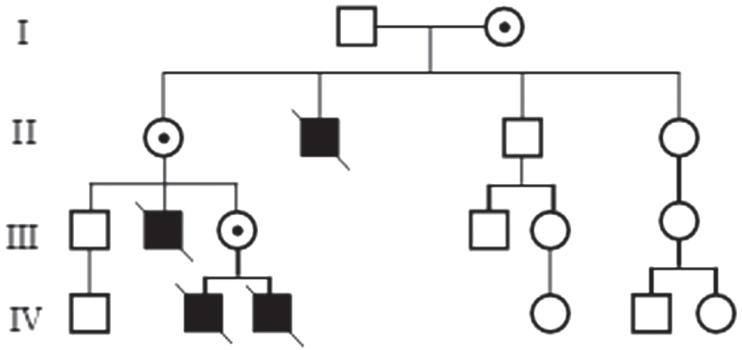

Рис. 13. Родословная семьи с мышечной дистрофией Дюшена

Вариабельная экспрессивность у женщин-гетерозигот. При многих Х-сцепленных болезнях женщины-гетерозиготы имеют мозаичный фенотип. Например, при Х-сцепленном альбинизме радужная оболочка и глазное дно больных мужчин не имеют пигмента, а у гетерозиготных женщин выявляется мозаичная (пятнистая) пигментация. Это объясняется феноменом Х-инактивации.

Х-сцепленное доминантное наследование

Х-сцепленные доминантные болезни являются редкими и выявляются у женщин-гетерозигот, а также у мужчин-гемизигот, имеющих мутантный аллель на единственной хромосоме Х. Х-сцепленное доминантное наследование напоминает аутосомно-доминантное. Но есть значимое отличие: пораженные мужчины передают заболевание только своим дочерям, а передача от отца к сыну невозможна (рис. 14). Примером этого типа наследования является витамин Д-резистентный рахит, при котором женщины обычно имеют более легкие формы заболевания, чем мужчины.

При многих Х-сцепленных доминантных болезнях у женщин может наблюдаться мозаицизм проявления болезни. Например, при синдроме Блоха – Сульцбергера (синдром недержания пигмента, тип II) наблюдается мозаичная пигментация кожи. Кроме того, это заболевание, также как синдром Ретта, является примером болезни, летальной для плодов мужского пола.

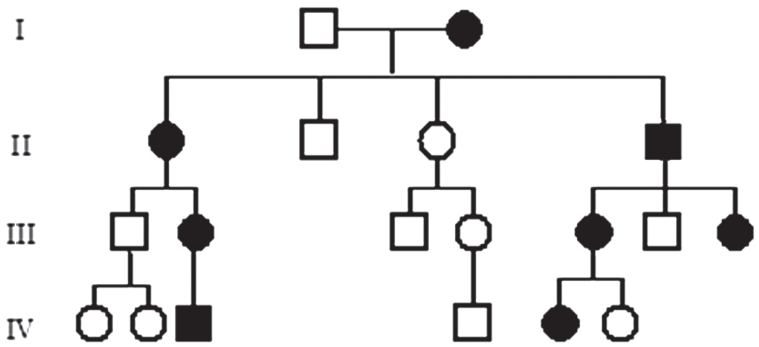

Рис. 14. Родословная при Х-сцепленном доминантном типе наследования

Наследование, сцепленное с хромосомой Y

Наследование, сцепленное с хромосомой Y, предполагает, что болеют только мальчики. Заболевание передается только от отца к сыну. В случае мутаций в генах хромосомы Y, вовлеченных в сперматогенез, возникает бесплодие вследствие азооспермии у мужчин. Технологии искусственного оплодотворения позволяют им иметь детей, но если при этом рождается сын, он также страдает азооспермией.

Влияние пола. Некоторые аутосомные признаки значительно чаще выявляются у одного из полов. Этот феномен получил название ***влияние пола***. Лысина у мужчин является примером аутосомно-доминантного признака, ограниченного полом, что, по-видимому, является результатом влияния мужских половых гормонов. Другой пример – подагра, которая является очень редким состоянием у женщин до менопаузы, но после нее частота этого заболевания возрастает. При гемохроматозе (аутосомно-рецессивном заболевании) у женщин-гомозигот намного реже возникает перегрузка железом и связанные с ней симптомы, чем у мужчин-гомозигот. Объяснением является физиологическая потеря железа женщинами во время менструаций.

Ограничение полом

Ограничение полом – это проявление определенных признаков у индивидуумов только одного пола. Пример: вирилизация девочек с аутосомно-рецессивным эндокринным заболеванием – врожденной гиперплазией коры надпочечников.

В табл. 4 кратко представлены основные признаки менделевских типов наследования.

Таблица 4

Признаки менделевских типов наследования

Тип наследования	Особенности заболевания у лиц разного пола	Особенности передачи в родословной
Аутосомно-доминантный	Мужчины и женщины болеют в равной пропорции	«Вертикальный» тип передачи – больные во многих поколениях родословной. Передача от лица любого пола лицу любого пола.
Аутосомно-рецессивный	Мужчины и женщины болеют в равной пропорции	«Горизонтальный» тип передачи – больные в одном поколении. Родители больного (больных) нередко могут быть родственниками.
Х-сцепленный рецессивный	Как правило, больны мужчины	«Диагональный» тип передачи: мужчины не могут передавать заболевание своим сыновьям. Возможна передача только внуку от деда через его дочь, которая является непораженой облигатной носительницей.
Х-сцепленный доминантный	Болеют мужчины и женщины с преобладанием женщин. Женщины поражены в меньшей степени, чем мужчины. В случае летальных для мальчиков болезней поражены только девочки, наблюдаются спонтанные аборты в семье.	Пораженные мужчины могут передавать заболевание своим дочерям, но не сыновьям. Передача от мужчины к мужчине исключает Х-сцепленный тип наследования.
Сцепленный с хромосомой Y	Болеют только мужчины.	Пораженные мужчины могут передавать заболевание только своим сыновьям.

Множественные аллели и комплексные признаки

Выше рассмотрены признаки, с которыми связаны только два аллеля – нормальный и мутантный. Некоторые гены имеют более двух аллельных форм, т.е. множественные аллели. Некоторые из них могут быть доминантными, другие – рецессивными по отношению к нормальному аллелю. Пример множественных аллелей – наследование групп крови человека.

Развитие генетики сделало возможным исследование комплексных признаков, которые формируются при взаимодействии нескольких генов. На этой основе возникла концепция олигогенного (дигенного и триаллельного) наследования.

При ***дигенном наследовании*** наблюдается аддитивный эффект гетерозиготных мутаций в двух различных локусах. Например, одна из форм пигментного ретинита, приводящая к потере зрения, вызвана гетерозиготностью по мутациям двух генов *(ROM1* и *periferin*). Оба эти гена кодируют белки, присутствующие в фоторецепторах сетчатки глаза. Индивидуумы, гетерозиготные по мутации только одного из этих двух генов, не имеют клинических проявлений.

Триаллельное наследование можно рассмотреть на примере синдрома Барде-Бидля – редкого заболевания, характеризующегося ожирением, полидактилией, аномалиями почек, пигментным ретинитом и когнитивными нарушениями. Семь различных генных локусов, мутации в которых ведут к синдрому Барде–Бидля, были идентифицированы. До недавнего времени считалось, что заболевание наследуется аутосомно-рецессивно. Однако, сейчас известно, что есть одна форма синдрома, когда индивидуум, гомозиготный по мутациям одного локуса, является также гетерозиготным по мутации другого локуса. Таким образом, для того, чтобы заболевание проявлялось, необходимо три мутантных аллеля.

Антиципация. При некоторых аутосомно-доминантных болезнях манифестация симптомов более ранняя и течение болезни более тяжелое у потомков по сравнению с их родителями, также страдающими этим заболеванием. Феномен увеличения тяжести болезни из поколения в поколение называют ***антиципацией***. Одним из объяснений антиципации является экспансия нестабильных триплетных повторов. В качестве примеров можно привести такие болезни экспансии триплетных повторов как миотоническая дистрофия, хорея Гентингтона, болезнь Кеннеди.

4.4. Митохондриальное наследование

Митохондриальное (цитоплазматическое) наследование характерно для особого класса наследственной патологии – митохондриальнх болезней. Каждая клетка содержит тысячи копий митохондриальной ДНК. Ряд редких болезней с необычной комбинацией неврологических и миопатических признаков, кардиомиопатии, диабет, как оказалось, возникают вследствие мутаций митохондриальных генов. Неудивительно, что головной мозг, мышцы и сердце поражаются в большей степени, поскольку эти органы наиболее энергозависимы. Митохондриальные болезни поражают оба пола, но передаются только через женщин (рис. 15). У большинства людей митохондриальная ДНК идентична во всех митохондриях (***гомоплазмия***). В случае мутаций ДНК в части митохондрий, у индивидуума будет две популяции митохондрий – нормальные и мутантные, т.е. ***гетероплазмия***. Доля митохондрий с мутантной ДНК варьирует между клетками и тканями. Это является объяснением различной тяжести течения заболевания у людей с митохондриальными болезнями. Ряд митохондриальных белков кодируется ядерными генами, а мутации в них нарушают функцию митохондрий. Например, мутации генов, кодирующих белки комплекса цитохрома С, наследуются аутосомно-рецессивно, а мутации Х-сцепленного гена *G 4.5 (TAZ)* вызывают синдром Барта (кардиоскелетную миопатию с нейтропенией и аномальными митохондриями) у мальчиков.

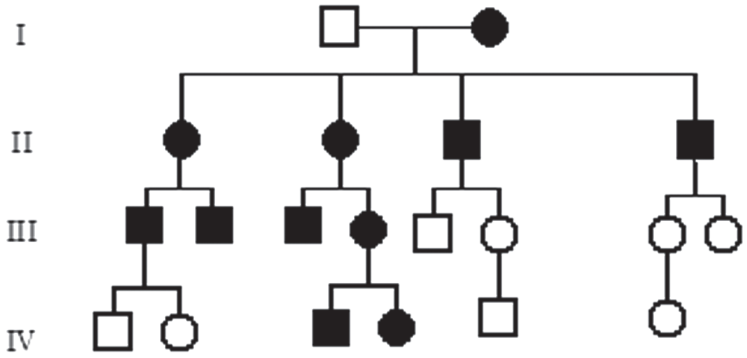

Рис. 15. Родословная при митохондриальном типе наследования

Глава 5. ВРОЖДЕННЫЕ АНОМАЛИИ И СИНДРОМЫ

Известно, что ***морфогенез*** человека включает сложные взаимодействия генетических и средовых факторов. Нарушения морфогенеза ведут к возникновению врожденных аномалий.

Частота врожденных аномалий. Показано, что морфологические аномалии находят в 80–85 % случаев спонтанных абортов. От 25 до 30 % случаев перинатальной смертности является следствием пороков развития. Среди новорожденных 2–3 % имеют, по крайней мере, один порок развития при рождении, а если учесть позже выявляемые аномалии, то их число приближается к 5 %. Принимая во внимание новорожденных и спонтанных абортусов, можно заключить, что около 15 % распознанных зачатий являются аномальными. МАР наблюдают у 10 % новорожденных. Если две и более микроаномалии присутствуют у новорожденного, то он имеет 10–20 % риск иметь еще и порок развития. Врожденные аномалии вносят значительный вклад в структуру детской смертности. Около 25 % смертей на первом году жизни – результат пороков развития. Эта пропорция уменьшается до 20 % в возрасте 1–10 лет и до 7,5 % для детей 10–15 лет.

Генетические факторы лежат в основе, по крайней мере, половины всех врожденных пороков. Ниже приведен перечень наиболее частых пороков развития:

Микроцефалия
Анэнцефалия
Голопрозенцефалия
Энцефалоцеле
Менингомиелоцеле
Микрофтальмия и другие пороки развития глаз
Атрезия слуховых проходов
Расщелина губы и неба
Костные дефекты (пороки позвоночника, сколиоз, радиоульнарный синостоз, косолапость, вывих тазобедренных суставов и др.)
Микромелия (гипоплазия конечностей)
Аплазия дистальных фаланг
Аплазия грудной мышцы
Пороки сердца
Атрезия пищевода
Атрезия ануса

Грыжы пищевода, диафрагмы

Кистофиброз печени (у новорожденных)

Пороки мочевыделитеной системы (гипоплазия, дистопия, поликистоз почек)

Пороки гениталий (гипоспадия, гипоплазия полового члена, микро- и анорхизм; атрофия семявыносящих канальцев; удвоение влагалища; удвоение, аплазия матки, двурогая матка)

5.1. Классификация врожденных аномалий

Различают изолированные аномалии (примеры, расщелина твердого нёба, врожденный дефект межжелудочковой перегородки сердца), системные (в пределах одной системы органов, например, скелетные дисплазии) и множественные (затрагивают две и более системы органов).

Изолированные врожденные аномалии. Среди изолированных врожденных аномалий различают мальформации, дизрупции, деформации и дисплазии (рис. 16). Последние правильнее отнести к системным аномалиям. Схема нарушений морфогенеза представлена на рис. 16.

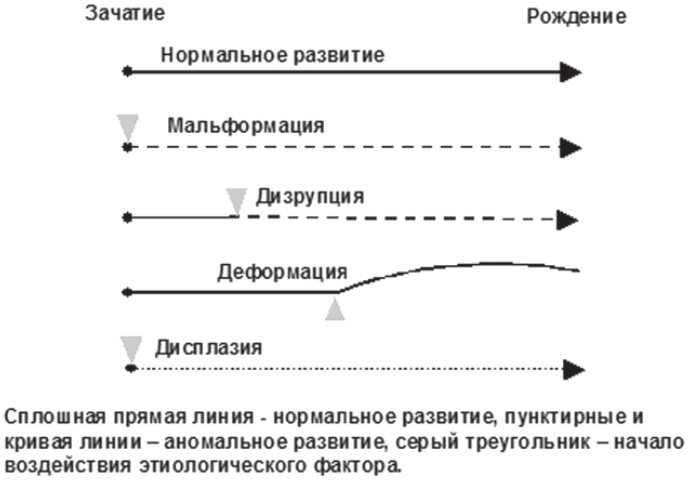

Рис. 16. Схема нарушений морфогенеза

Мальформация – это первичный структурный дефект органа или его части, который является результатом генетических нарушений. Мальформация подразумевает то, что раннее внутриутробное развитие

определенной ткани или органа было нарушено. Частые примеры мальформаций – это врожденные пороки сердца, расщелина губы и неба, дефекты нервной трубки. Большинство мальформаций, затрагивающих только один орган, является мультифакторным признаком. Множественные мальформации наиболее часто возникают вследствие хромосомных аномалий.

Дизрупция – возникновение аномальной структуры органа или ткани в результате воздействия внешних факторов, нарушающих процесс нормального развития. Её вызывают такие внешние факторы, как ишемия, инфекция, травма и др. Примером дизрупции является нарушение развития конечностей плода вследствие приема препарата талидомида во время беременности. По определению дизрупция – негенетическое событие.

Деформация – результат механических воздействий, которые искажают морфологию плода. Например, дислокация бедра может быть вызвана недостатком амниотической жидкости (олигогидрамнион) или многоплодной беременностью, либо структурной аномалией матки. Деформации обычно возникают во второй половине беременности и имеют хороший прогноз при адекватном лечении.

Дисплазия – аномальная организация клеток в ткани. Например, при эктодермальной дисплазии вовлечены все ткани эктодермального происхождения – поражаются кожа, ногти, волосы и др. Большинство дисплазий вызываются моногенными дефектами и связаны с высоким риском рождения детей с данной аномалией в семье.

Множественные врожденные аномалии: секвенции, синдромы и ассоциации.

Секвенция – комплекс признаков, являющихся следствием каскада событий, инициированных одним фактором. Например, при секвенции Поттера, хроническое подтекание амниотической жидкости либо нарушение образования мочи ведет к олигогидрамниону, что, в свою очередь, ведет к компрессии плода, формированию «помятого» лица, дислокации бедер, пяток и гипоплазии легких, что может вызвать неонатальную гибель ребенка от дыхательной недостаточности (рис. 17).

Синдром – распознаваемый комплекс аномалий, этиология которых известна. Примерами являются хромосомные и моногенные синдромы. Диагностика синдромов значительно облегчается существованием электронных баз данных, таких как POSSUM (Pictures of Standard Syndromes and Undiagnosed Malformations), Лондонская база данных и др.

Ассоциация – понятие, которое возникло в связи с тем, что некоторые аномалии имеют тенденцию встречаться в сочетании друг с другом, а не случайно, и это необъяснимо с позиций секвенции или

синдрома. Основным отличием ассоциации от синдрома является непостоянство набора аномалий у разных больных. Примером является VATER-ассоциация – комплекс из вертебрального, анального, трахеоэзофагального и ренального пороков. Ассоциации имеют низкий рекуррентный риск, и причина их не ясна.

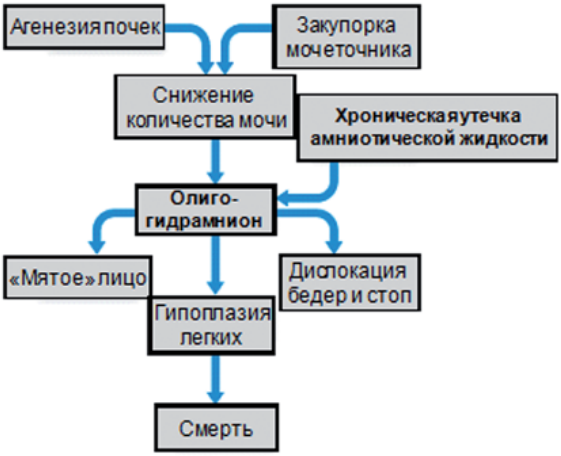

Рис. 17. Секвенция: каскад событий,
ведущий к уменьшению количества амниотической жидкости (олигогидрамниону)

Что касается структуры причин врожденных аномалий развития, то генетически обусловленные формы составляют 20–30 %, мультифакторные – 30–40 %, экзогенные – 2–5 %, неизвестной этиологии – 25–50 %.

5.2. Генетические причины врожденных аномалий

Многие причины врожденных аномалий известны, около 50 % случаев остаются невыясненными. Хромосомные нарушения составляют около трети всех наблюдаемых врожденных аномалий. Как правило, хромосомный дисбаланс ведет к множественным тяжелым врожденным порокам развития, иногда несовместимым с жизнью. Моногенные дефекты составляют около 7,5 % всех врожденных аномалий. Некоторые из них ведут к изолированным врожденным аномалиям, другие – к синдромам множественных врожденных пороков, затрагивающих многие органы и их системы. Например, эктродактилия может наследоваться как аутосомно-доминантный, аутосомно-рецессивный и, редко, как

Х-сцепленный признак. Она также может входить в симптомокомлекс определенного синдрома (например, аутосомно-доминантный синдром ЕЕС – экодермальная дисплазия, эктродактилия и расщелина губы и неба).

Мультифакторное наследование характерно для ряда несиндромальных врожденных аномалий сердца, центральной нервной системы. Для многих из них известны риски, выявленные эмпирическим путем на основе эпидемиологических исследований. Для ряда специфических врожденных мальформаций характерна генетическая гетерогенность. Некоторые наиболее частые врожденные аномалии представлены ниже.

Голопрозенцефалия. Эта тяжелая и часто летальная мальформация представляет собой нарушение развития такой области эмбрионального мозга, как передний мозг или прозенцефалон. Голопрозенцефалия характеризуется полным или частичным нарушением деления переднего мозга по средней линии и формирования гемисфер, что ведет к нарушениям не только структуры мозга, но и к развитию срединных лицевых структур (например, возникновению циклопии), а также к глубоким нарушениям психомоторного развития. Тяжесть аномалий лица обычно соответствует тяжести поражения структур мозга. Частота голопрозенцефалии составляет около 6–12 на 10000 среди новорожденных. Половина этих случаев связана с трисомией хромосомы 13. При голопрозенцефалии наблюдается преобладание лиц женского пола.

Голопрозенцефалия может быть этиологически классифицирована на хромосомную, синдромальную и изолированную. Причины, связанные с аномалиями хромосом, составляют 30–40 % случаев голопрозенцефалии, наиболее частой является трисомия хромосомы 13. Среди других причин могут быть делеции хромосом 2p11, 7q36, 18p11.3 и 21q22.3, дупликации хромосом 3p24→pter и 13q, а также триплоидии. Синдромальные причины голопрозенцефалии многочисленны, например синдром Смита-Лемли-Опица. Причинами изолированной голопрозенцефалии могут быть мутации ряда генов (*SHH, ZIC2, SIX3*).

Дефекты нервной трубки. Эти врожденные пороки являются результатом аномального закрытия развивающейся нервной трубки в эмбриональном периоде. Дефект верхнего конца развивающейся нервной трубки ведет либо к анэнцефалии (врожденное отсутствие головного или спинного мозга), либо к энцефалоцеле (выпячивания мозга через имеющийся в черепе дефект). Дефекты нижнего конца нервной трубки ведут к таким спинальным порокам, как пояснично-крестцовое миелоцеле или менингомиелоцеле (выпячивания спинного мозга и его оболочек через незаращение дужек позвонков). Анэнцефалия несовместима

с жизнью. Крупные пороки в пояснично-крестцовой области вызывают частичный или полный паралич нижних конечностей с нарушением функций мочевого пузыря и кишечника.

Дефекты нервной трубки также могут быть этиологически классифицированы на хромосомные, синдромальные и изолированные. Причины, связанные с аномалиями хромосом, включают трисомии хромосом 13 и 18, при которых дефекты нервной трубки встречаются в 5–10 % случаев. Среди моногенных причин следует отметить относительно редкое аутосомно-рецессивное заболевание – синдром Меккеля, при котором энцефалоцеле сочетается с поликистозом почек и полидактилией. Тем не менее, большинство дефектов нервной трубки представляют собой изолированные пороки и наследуются мультифакторно. Эмпирический риск варьирует согласно региональной частоте и достигает 4–5 %. Например, у жителей Англии частота данной патологии выше, чем у остальных национальностей кельтского происхождения.

Известно, что мутации в гене метилентетрагидрофолатредуктазы являются предрасполагающим фактором к дефектам нервной трубки. Мутация данного гена ведет к снижению активности одноименного фермента, являющегося ключевым в обмене фолиевой кислоты, и наиболее опасна в условиях дефицита фолатов в питании. Нарушения обмена фолатов ведут к изменениям образования пуринов и пиримидинов, необходимых для синтеза ДНК. Профилактика, проводимая при помощи введения в диету витаминов, в частности, фолиевой кислоты за несколько месяцев до зачатия, а также в первые месяцы беременности уменьшает риск повторного рождения ребенка с пороком нервной трубки в семье на 70–75 %. Во многих странах (США, Великобритания, Венгрия, Мексика) принято обогащать муку и хлеб фолиевой кислотой, что приводит к заметному снижению частоты пороков нервной трубки.

5.3. Действие тератогенов

Внешний фактор, который может вызвать врожденный порок, нарушая нормальное эмбриональное и фетальное развитие, называется ***тератогеном.*** Потенциальные эффекты любого тератогена будут зависеть от дозы и времени воздействия на организм во время беременности, а также предрасположенности к нему матери и плода.

Химические тератогены. Вещества с доказанным тератогенным эффектом, которые обуславливают около 2 % врожденных аномалий, перечислены в табл. 5. Кроме того, предполагалось, но не было доказано,

тератогенное действие некоторых противораковых средств (метотрексат, хлорамбуцил), антиконвульсантов (карбамазепин). В качестве примера тератогена можно привести соединения ртути, которыми заражена рыба в Японии в результате загрязнения окружающей среды. Употребление этой рыбы беременными вызывает у детей синдром, подобный церебральному параличу.

Таблица 5

Вещества с доказанным тератогенным эффектом

Вещество	Эффекты
Тетрациклин	Гипоплазия зубной эмали
Талидомид	Фокомелия, аномалии сердца и ушных раковин
Вальпроевая кислота	Дефекты нервной трубки, характерное лицо
Варфарин	Гипоплазия носа, изменения эпифиза
Алкоголь	Пороки сердца, микроцефалия, характерное лицо
Диэтилстильбестрол	Аномалии матки, аденокарцинома влагалища
Литий	Пороки сердца
Фенитоин	Пороки сердца, расщепление неба, гипоплазия пальцев
Ретиноиды (витамин А)	Дефекты органов зрения и слуха, гидроцефалия
Стрептомицин	Глухота

Примером лекарства с тератогенным действием является талидомид, который широко использовался в Европе с 1958 по 1962 г., как седативное средство, в том числе беременными женщинами. За такой короткий период свыше 10 000 детей пострадали от этого лекарства. Критический период действия талидомида – между 20 и 35 днями от зачатия. Наиболее характерная аномалия, вызванная талидомидом, – фокомелия (порок, при котором в конечности отсутствуют некоторые или все длинные кости, но остаются пальцы, что создает вид, «подобный тюленю»). Кроме того, у детей формируются дефекты ушных раковин, микрофтальмия и расщелина губы и неба. Почти 40 % детей с этими пороками развития умирают в младенчестве в результате

тяжелых аномалий развития сердца, почек и желудочно-кишечного тракта. «Талидомидовая трагедия» сфокусировала внимание на важности противопоказаний к применению многих лекарств во время беременности, если только не установлена их абсолютная безопасность. Чтобы избежать повторения подобной трагедии, производителями проводятся исследования лекарств до выпуска к общему применению. Кроме того, во многих странах созданы системы мониторинга в форме регистров врожденных аномалий развития.

Следует упомянуть также о ***фетальном алкогольном синдроме***. У детей матерей, принимающих алкоголь во время беременности, формируются особенности лица с короткими глазными щелями, длинным сглаженным фильтром; наблюдается также задержка психического развития, гиперактивность. Данных об уровне алкоголя, безопасном для плода, нет, и даже малые его количества могут быть вредны.

Инфекции у матерей. Ряд инфекций могут нарушать эмбриональное развитие (табл. 6).

Таблица 6

Инфекции матерей, имеющие тератогенный эффект

Возбудитель	Эффекты
Вирус простого герпеса	Микроцефалия, микрофтальмия
Цитомегаловирус	Хориоретинит, глухота, микроцефалия
Вирус краснухи	Микроцефалия, катаракта, ретинит, пороки сердца
Вирус ветряной оспы (*varicella zoster*)	Микроцефалия, хориоретинит, дефекты кожи
Сифилис	Гидроцефалия, остеит, ринит
Токсоплазмоз	Гидроцефалия, микроцефалия, катаракта, хориоретинит, глухота

Вирус краснухи поражает 15–25 % детей, инфицированных в первом триместре беременности, вызывая кардиоваскулярные аномалии (открытый артериальный проток, стеноз легочной артерии).

Цитомегаловирус вызывает высокий риск врожденных аномалий, если инфицирование произошло в первом триместре беременности.

Иммунизации против цитомегаловируса нет, даже перенесённая острая инфекция не дает стойкого иммунитета.

Материнское инфицирование паразитом ***токсоплазмой*** создает 20 %-й риск инфицирования плода в первом триместре, возрастая до 75 % во втором и третьем триместрах. Вакцины против токсоплазмоза не существует.

Если женщина имеет одну из этих инфекций, то необходимо установить следующее:

а) инфицирован ли плод путем исследования крови на специфические антитела;

б) нет ли признаков генерализации инфекции в виде тромбоцитопении и нарушения функции печени.

Физические факторы. Трудно доказать тератогенное воздействие радиоволн, ультразвука и магнитных полей в силу их повсеместного распространения. Однако существуют явные доказательства того, что два физических фактора – ионизирующая радиация и длительная гипертермия могут обладать тератогенным действием.

Ионизирующая радиация – дозы гораздо большие, чем те, что используются для рентгеноскопии и рентгенографии, могут быть причиной микроцефалии и пороков развития глаз у развивающегося плода. Наиболее чувствительное время экспозиции – 2–5-я недели после зачатия. Хотя риск применения малых доз минимален, во время беременности рекомендуется избегать радиографии.

Длительная гипертермия – на ранних сроках беременности может вызвать микроцефалию, микрофтальмию и нарушения нейрональной миграции. Следовательно, необходимо избегать перегревания в первом триместре беременности.

Болезни матерей. Многие заболевания матери связаны с повышенным риском неблагоприятного исхода беременности.

Инсулинзависимый сахарный диабет у беременных женщин приводит к 2–3-кратному повышению количества врожденных аномалий у их потомства. Наиболее частыми пороками развития среди них являются врожденные пороки сердца, дефекты нервной трубки, агенезия крестца, гипоплазия бедер, голопрозенцефалия и сирингомиелия (аномалия спинного мозга в виде образования полостей в сером веществе). Вероятность врожденных аномалий зависит от уровня глюкозы и гликозилированного гемоглобина в крови беременной. Инсулиннезависимый диабет и гестационный диабет у матери не ведут к повышению риска аномалий у потомства.

Фенилкетонурия. Матери с высоким уровнем фенилаланина в крови имеют высокий риск врожденных аномалий у потомства: умственная отсталость наблюдается почти в 100 % случаев, могут встречаться микроцефалия и пороки сердца. Все женщины с фенилкетонурией должны соблюдать строгую диету с низким содержанием фенилаланина, концентрация в крови которого должна мониторироваться.

Эпилепсия у матери сама по себе не приводит к возникновению врожденных аномалий у детей. Однако, большинство исследований указывает на повышенную частоту пороков развития у детей, матери которых принимали антиконвульсанты (противоэпилептические препараты) во время беременности. Риск врожденных аномалий у таких детей в 2–4 раза выше общепопуляционного. Эти данные касаются монотерапии, при использовании же двух и более препаратов риск удваивается. Наибольшим тератогенным эффектом обладает вальпроат натрия. Аномалии, встречающиеся у больных, подвергшихся экспозиции антиконвульсантов во время своего внутриутробного развития, широко варьируют и встречаются в виде дефектов нервной трубки, расщепления губы и неба, аномалий мочеполовой системы (в частности, гипоспадии), пороков сердца и дефектов конечностей. Эти аномалии неспецифичны, что затрудняет диагностику, однако дети с фетальным вальпроатным синдромом имеют типичное лицо (широкое основание носа, широкий плоский его кончик, тонкая верхняя губа). Если женщине нельзя отменить антиконвульсанты во время беременности, то следует использовать только один лекарственный препарат и избегать при этом вальпроата натрия.

В более чем половине случаев врожденных аномалий развития не удается установить причину их возникновения. Это касается таких частых состояний как диафрагмальная грыжа, трахео-эзофагальная фистула, атрезия ануса и др. Чтобы предполагать генетическую природу врожденных пороков развития, полезно оценивать их симметричность. Симметричные и затрагивающие срединные структуры аномалии чаще имеют генетическую основу, в то время как для асимметричных она менее вероятна. Например, явная асимметрия конечностей имеет, как правило, негенетическую природу и часто связана с нарушением кровообращения конечности в ходе ее развития.

Таким образом, в формировании врожденных аномалий значительную роль играют тератогенные факторы окружающей среды.

Глава 6. МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ГЕНОМА ЧЕЛОВЕКА

Основная цель большинства исследований в области генетики человека заключается в выявлении изменений последовательности ДНК, которая является причиной нарушений в жизнедеятельности организма. Далее исследователи, как правило, пытаются установить причинно-следственную связь между мутациями и их вероятными фенотипическими последствиями с помощью определения биохимических процессов, связанных с изменением функциональной активности генома. Наиболее общая классификация методов изучения генома человека может быть сделана на базе двух основных типов мутаций: генных и хромосомных (геномных). Таким образом, выделяют два основных направления исследования генетических нарушений: молекулярно-генетическое и цитогенетическое (молекулярно-цитогенетическое). В последнее десятилетие молекулярно-цитогенетические исследования с помощью методов флюоресцентной и сравнительной геномной гибридизации *in situ* (FISH, MCB, HR CGH), а также серийной сравнительной геномной гибридизации (arrayCGH или молекулярное кариотипирование) можно выделить отдельным направлением, поскольку оно занимает значительное место в изучении и диагностики геномных нарушений ввиду разрешающих способностей применяемых методов (от 1 тыс. пн). Разрешающая способность методов представлена в табл. 7.

6.1. Молекулярно-генетические методы

Поиск изменений последовательностей нуклеиновых кислот и белков на молекулярном уровне является одним из основных направлений ***молекулярной генетики***. Выявление мутационных изменений ДНК при наследственных заболеваниях и полном отсутствии знания о патогенезе заболевания происходит с помощью молекулярно-генетических методов следующим образом: на первом этапе осуществляется сканирование генома для поиска каких-либо отклонений или соответствующих маркеров. Это проделывается на базе анализа сегрегации болезни в семьях больных, а также поиска аллелей, потенциально связанных с заболеванием, среди больших групп неродственных больных. Далее, выделяются некоторые ***гены-кандидаты***, в которых с высокой долей вероятности могут наблюдаться мутации, связанные с исследуемым заболеванием. Однако, при наличии предположений или некоторых доказательств относительно механизмов, лежащих в основе патогенеза заболевания, первый этап молекулярно-генетических исследований, как правило, опускается.

Таблица 7

Разрешающая способность цитогенетических и молекулярно-цитогенетических методов

Метод	Краткое описание	Разрешающая способность (пары нуклеотидов)
Цитогенетический метод	Культивирование клеток и последующее дифференциальное окрашивание метафазных хромосом	5–8 млн
FISH	Флюоресцентная гибридизация *in situ* с использованием ДНК зондов на определенные гены, высокоповторяющиеся последовательности и проб, маркирующих полностью хромосому	от 500–5000 до 3 млн
Классическая метафазная CGH	CGH с использованием смеси меченых геномной ДНК пациента и ДНК донора	1,5–10 млн
Серийная CGH (arrayCGH)	CGH на чипах с использованием смеси меченых геномной ДНК пациента и ДНК контроля	от 1 тыс. до 1 млн
Олигонуклеотидная серийная CGH	CGH с использованием смеси меченых геномной ДНК пациента и небольших последовательностей ДНК (олигонуклеотидов)	около 50 тыс.

Наиболее известными молекулярно-генетическими методами для поиска генов, потенциально связанных с конкретной болезнью, являются ***анализы сцепления*** **и** ***аллельной ассоциации***. Оба метода преследуют цель картирования генов, аномалии которых приводят к болезни, и основаны на анализе полиморфных генетических маркеров для молекулярного сканирования генома. Эти два метода позволяют проводить молекулярно-генетические исследования в условиях отсутствия знаний о процессах, лежащих в основе патогенеза болезни. Исследование с помощью анализа сцепления требует большого числа индивидуумов из семей с соответствующими больными, в противном случае полученные данные не будут статистически достоверными. При анализе сцепления исследуются полиморфные маркеры с известной локализацией на хромосоме (расположенные в определенных локусах), которые могут наследоваться вместе

с болезнью. Если наблюдается совместное наследование (***сцепление***) болезни и определенных полиморфных маркеров, можно говорить о картировании генов болезни. ***Картирование*** представляет собой процесс ассоциации болезни с определенным хромосомным локусом в геноме человека. При аллельных ассоциациях изучается совместное наследование аллелей и заболевания в репрезентативных выборках неродственных больных. Если частота определенных комбинаций аллелей у больных превышает значение в контрольной группе, можно с определенной долей вероятности утверждать то, что в хромосомном (геномном) участке этого аллеля расположен ген, связанный с исследуемой болезнью. Анализ аллельных ассоциаций может указать на генетические факторы патогенеза или предрасположенности к заболеванию.

Существует множество методических подходов к определению генов болезни на базе данных анализа сцепления или аллельных ассоциаций. Среди них наиболее распространенным методом для определения генов, связанных с заболеванием, является выбор наиболее вероятных генов-кандидатов, локализованных в картированном участке, с последующим определением последовательности ДНК этих генов. Такой подход оказался эффективным при идентификации генов болезни Альцгеймера, но, например, при шизофрении, аффективных расстройствах и аутизме этот метод по большей части не дает воспроизводимых результатов. Следует отметить, что классические молекулярно-генетические методы были преимущественно разработаны для системы «***один ген – одна болезнь***». Это позволяет некоторым исследователям оспаривать результаты многих анализов сцепления и аллельных ассоциаций мультифакторных психических болезней (шизофрения, аутизм и др.). В связи с этим, наиболее подходящим для подобных исследований следует рассматривать анализ всего генома, при котором используются от нескольких сотен до нескольких тысяч полиморфных генетических маркеров.

Существует достаточно большое количество молекулярно-генетических методов, которые имеют широкий спектр применения. Однако многие из них являются либо модификацией, либо комбинацией нескольких основных методов. Среди последних следует выделить ***полимеразную цепную реакцию (ПЦР)*** и ***секвенирование*** (определение последовательности полимерных макромолекул).

Многие учёные используют в своей работе ПЦР как современный молекулярно-генетический метод. Этот метод позволяет определять небольшие фрагменты последовательностей ДНК. Он также относительно несложен в исполнении и не требует значительных затрат как при адаптации к имеющимся лабораторным условиям, так и в ходе его

дальнейшего использования. Классический вариант ПЦР представляет собой искусственную экспоненциальную репликацию или ***амплификацию*** небольших фрагментов ДНК в среднем от 200 до 1000 пн. Для использования ПЦР необходимо знать определенную часть исследуемой последовательности ДНК, поскольку для инициации реакции применяются синтетические олигонуклеотиды (как правило, размером около 20 пн) или ***праймеры***. ПЦР для амплификации одного фрагмента ДНК требует использования не менее 2-х праймеров: один – идентичный прямой 5′ последовательности, второй – идентичный обратной 5′ последовательности. Геномная ДНК смешивается с праймерами и ферментом температуро-устойчивой ДНК полимеразы и единичными нуклеотидами (А, Г, Ц и Т), которые являются основой для синтеза новых коротких последовательностей. Смесь нагревается для того, чтобы образовались однонитевые последовательности ДНК (***процесс денатурации***). Затем, при снижении температуры праймеры связываются с образованными последовательностями, и начинается полимеризация ДНК от 3′ конца на базе единичных нуклеотидов, находящихся в смеси. Данный искусственный процесс не слишком отличается от репликации молекул ДНК в клетке за исключением того, что он происходит с короткими последовательностями. Процесс повторяется много раз, результатом чего является экспоненциальное увеличение концентрации исследуемого фрагмента ДНК по отношению к остальным последовательностям геномной ДНК. Классическая ПЦР может быть использована для получения фрагментов ДНК, которые далее можно исследовать с помощью секвенирования, а также оценить их размеры с помощью метода **электрофореза**. Последний основан на разделении (в зависимости от размера последовательностей) макромолекул, помещенных в гель, который находится в электрическом поле. Помимо этого, имеются также возможности для количественного определения содержания последовательностей нуклеиновых кислот в реальном времени (ПЦР в реальном времени) или по сравнению с другими последовательностями. Некоторые методы используют предварительную обработку ДНК с последующей амплификацией для выявления изменения последовательности в исследуемом фрагменте. ПЦР может быть также использована для исследования молекул РНК.

Секвенирование позволяет определить нуклеотидную последовательность ДНК. В связи с этим данный метод активно применяется для выявления генных мутаций при моногенных заболеваниях. Наиболее используемый вариант секвенирования известен также как ***метод Сэнджера***. Как правило, перед секвенированием проводят ПЦР с целью

увеличения концентрации ДНК фрагмента, последовательность которого необходимо определить. Далее, к однонитевой (денатурированной) молекуле ДНК присоединяется прямой и обратный праймеры и с помощью ДНК полимеразы проводят синтез новой молекулы ДНК на базе дидезоксинуклеозидтрифосфатов и немодифицированных единичных нуклеотидов. В классическом протоколе секвенирования с помощью этого метода предлагается проводить 4 реакции, в каждой из которых реакционная смесь содержит три немодифицированных нуклеотида и один дидезоксинуклеозидтрифосфат. Поскольку полимеризация ДНК будет каждый раз заканчиваться на дидезоксинуклеозидтрифосфате, то в каждой смеси будут находиться фрагменты разных размеров, соответствующие исследуемой последовательности, оборванной на нуклеотиде, замещенном дидезоксинуклеозидтрифосфатом. Затем результаты 4-х реакций анализируются с помощью электрофореза, складывая их, восстанавливается исходная последовательность ДНК. В настоящее время, благодаря созданию высокоразрешающих систем детекции, для секвенирования используются другие способы проведения реакции и анализа конечных результатов. Однако принцип метода остается прежним.

В связи с тем, что при многих наследственных заболеваниях патогенные мутации (в основном, рекуррентные) уже известны, отпадает необходимость использования метода секвенирования для их определения. В данном случае наиболее рационально применение рестрикционного анализа с последующей ПЦР. Этот метод использует способность некоторых ферментов (**эндонуклеаз рестрикции** или **рестриктаз**) «разрезать» фрагменты ДНК в зависимости от их последовательности в специфических сайтах. Этот процесс также называется ***рестрикцией***. Для проведения данного анализа ДНК необходимо знать изменение последовательности, чтобы подобрать соответствующую рестриктазу. На первой стадии этого метода проводится рестрикция ДНК, а затем ПЦР фрагмента ДНК, в котором предположительно расположена мутация. Результаты ПЦР также анализируются с помощью электрофореза. В основном, используются такие рестриктазы, которые при условии наличия мутации взаимодействуют с ДНК, образуя два фрагмента различных размеров. Возможен также вариант, когда рестриктазы взаимодействуют с неизмененной последовательностью ДНК, тогда как при мутации рестрикции не происходит (рис. 18).

В ряде случаев возникает необходимость сравнительного анализа содержания фрагментов ДНК. С помощью подобных методов, в основном, исследуют полиморфные последовательности, которые с высокой

вероятностью будут отличаться в зависимости от родительского происхождения. Они используются для определения родительского происхождения и диагностики однородительской дисомии, потери/приобретения последовательностей ДНК, а также Х-инактивации при условии предварительной обработки веществами, чувствительными к метилцитозину. Наиболее востребованным для этой цели методом является количественная ПЦР. Данная модификация использует мечение одного из праймеров, благодаря чему амплифицированный участок также становится меченным. Затем, с помощью различных систем детекции можно провести сравнительный количественный анализ ДНК фрагментов одного или нескольких аллелей.

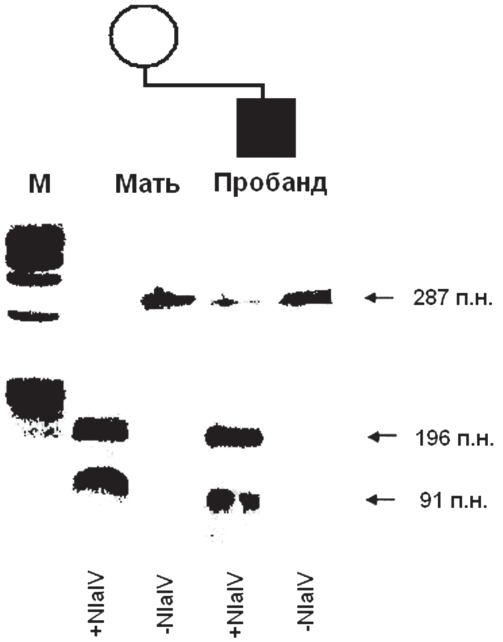

Рис. 18. Результаты рестрикционного анализа с последующей ПЦР мутации R270X в гене *MECP2* у пробанда с синдромом Ретта и его матери

Взаимодействие ДНК с рестриктазой NlaIV (+NlaIV) показывает наличие мутации у ребенка – дополнительная полоса, соответствующая апмлифицированному участку, необработанному рестриктазой (–NlaIV). У матери в данном случае мутации не обнаружено (М – маркер молекулярного веса для определения размера последовательности ДНК).

6.2. Цитогенетические и молекулярно-цитогенетические методы

Среди наиболее распространенных мутаций у человека являются хромосомые. Показано, что хромосомная патология составляет 30% от общего числа пороков развития у новорожденных, до 45–70% всех случаев спонтанных абортов (до 15-й недели беременности) и 6–7% мертворожденных детей этиологически связаны с хромосомными аномалиями. Среди недоношенных детей частота хромосомных аномалий достигает 7:1000. Причем, среди недоношенных детей с врожденными пороками развития уровень хромосомных аномалий достигает 18%, а при наличии комплексных врожденных пороков – более 45%. В среднем аномалии кариотипа встречаются у 15% детей с недифференцированными формами умственной отсталости, врожденными пороками и/или микроаномалиями развития. Поэтому, неудивительно, что особое место в медицинской генетике занимают методы их выявления, разрешающая способность которых различна (табл. 7).

Диагностика хромосомных аномалий проводится с использованием ***цитогенетических методов***, которые включают в себя культивирование с целью получения метафазных клеток с последующим применением дифференциального окрашивания хромосом по длине и исследованием кариотипа с помощью светового микроскопа. Данный комплекс приемов получил широкое распространение в связи с тем, что в течение долгих лет он представлял собой практически единственный способ идентификации хромосомных аномалий. Существует несколько типов дифференциального окрашивания хромосом по длине. Они определяют единую линейную дифференциацию структуры хромосом в метафазе митоза, при этом каждый метод окрашивания имеет свои характерные особенности, и существует в нескольких модификациях. Следует отметить, что они не являются альтернативными. Наиболее распространенным методом дифференциального окрашивания хромосом является ***G-окрашивание***. Он базируется на предварительной обработке препаратов хромосом перед окраской и на использовании нефлюоресцентных красителей или их смесей. Предварительная обработка связана с инкубацией в солевых растворах и в растворах протеолитических ферментов (взаимодействующих, по-видимому, с белковой компонентой хроматина). Идентификацию хромосом обеспечивает чередование темно и светло окрашенных полос. По числу, величине и расположению полос (сегментов) можно определить изменения в хро-

мосомном наборе (кариотипе). Число полос на гаплоидный кариотип при G-окрашивании варьирует, но в метафазной клетке их число не менее 320, а на стадии прометафазы может достигать и 1250. Существуют также и методы, которые окрашивают определённые участки хромосом (например, С-окрашивание, с помощью которого анализируются гетерохроматиновые участки). Применение последних также необходимо при идентификации хромосомных аномалий или дифференциации между хромосомными мутациями и морфологическими особенностями хромосом. Однако в ряде случаев применение цитогенетического анализа метафазных хромосом бывает затруднено или невозможно (сложность культивирования клеток большинства соматических тканей; диагностика хромосомных микроаберраций). Следует напомнить, что разрешающая способность этого метода – 5–7 млн пн.

С развитием медицинской генетики и совершенствованием микроскопической техники был разработан целый ряд новых технологий, основанных на принципах гибридизации нуклеиновых кислот на препарате, применение которых позволило в значительной степени увеличить эффективность выявления хромосомных аномалий, а в ряде случаев можно заменить цитогенетический анализ определенным молекулярно-цитогенетическим. Использование соответствующего молекулярно-цитогенетического метода зависит от разрешающей способности технологии. Биомедицинское направление, целью которого явилось изучения хромосом с помощью последних достижений в области молекулярной биологии, сформировалось как наука и получило название ***молекулярная цитогенетика***.

Среди самых распространенных молекулярно-цитогенетических методов известны: ***флюоресцентная гибридизация in situ*** (fluorescence *in situ* hybridization – **FISH**) и ***сравнительная геномная гибридизация*** (comparative genomic hybridization – **CGH**). Как несложно заметить, оба эти метода основаны на процессе гибридизации нуклеиновых кислот. Гибридизация *in situ* основана на взаимодействии однонитевых последовательностей экзогенной ДНК, меченной флюорохромами (флюоресцирующими веществами) – ***ДНК пробы***, и исследуемой ДНК. Разрешающая способность молекулярно-цитогенетических методов определяется минимальным размером последовательности хромосомной ДНК (количеством нуклеотидов), которую возможно регистрировать с помощью микроскопа или другой системы детекции. В качестве стандарта при молекулярно-цитогенетическом анализе используются цитогенетические методы.

Схема проведения FISH представлена на рис. 19. Первой стадией FISH является денатурация – процесс получения однонитевых последовательностей ДНК. Следующей стадией является ***гибридизация*** – реакция воссоединения однонитевых последовательностей ДНК зонда и ДНК, находящейся на цитологическом препарате в составе метафазных хромосом и интерфазных ядер, с образованием двунитевых молекул ДНК. В результате появляется возможность анализа флюоресцирующих последовательностей ДНК на предметном стекле с помощью флюоресцентного микроскопа.

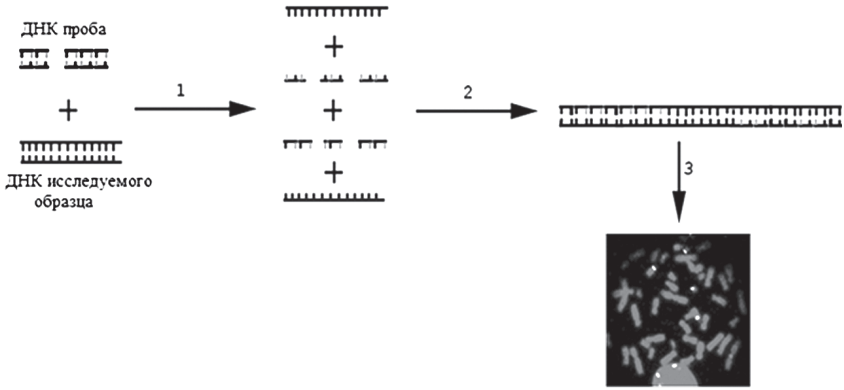

Рис. 19. Схематическое изображение метода FISH:
1 – смесь ДНК пробы и ДНК исследуемого образца денатурируется при температуре 72–75 °С, в результате чего получается смесь однонитевых последовательностей ДНК;
2 – гибридизация ДНК пробы и исследуемого образца: меченая ДНК проба встраивается в ДНК исследуемого образца на препарате хромосом;
3 – детекция меченой ДНК *in situ* с помощью флюоресцентного микроскопа

Идентичный принцип лежит также в основе метода HR CGH, схема которого представлена на рис. 20. Отличие заключается лишь в том, что в случае CGH гибридизация на хромосомах *in situ* проводится с использованием смеси меченых одним флюорохромом геномной ДНК пациента и другим флюорохромом ДНК донора (при исследовании численных хромосомных аномалий) или геномной ДНК пациента и ДНК какой-то конкретной хромосомы донора (при исследовании структурных хромосомных аномалий). Затем с помощью цифрового анализа производится сравнительная оценка интенсивности суперпозиции

сигналов двух разных флюорохромов, в результате чего становится возможным определение приобретения или потери последовательностей ДНК у пациента в строго определенных хромосомах. На рис. 21 показан результат проведения классической метафазной сравнительной геномной гибридизации (HR CGH) ребёнку с умственной отсталостью и МАР.

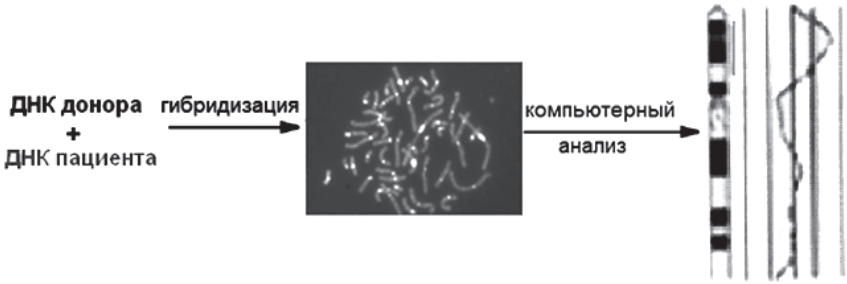

Рис. 20. Схематическое изображение метода классической CGH на метафазных хромосомах: гибридизация двух меченых разными красителями образцов тотальной ДНК (пациента и донора) происходит так, как и в случае FISH. Затем, соотношение интенсивностей результатов гибридизации ДНК пациента и донора на метафазных хромосомах анализируется с помощью компьютера. Соотношение 1:1 соответствует норме; 1 (донор):0,5 (пациент) – делеции; 1 (донор):1,5 (пациент) – дупликации

В настоящее время известен целый комплекс модификаций FISH. Практически все разновидности метода FISH являются взаимодополняющими при диагностике хромосомных аномалий, поскольку существует достаточно большое количество флюорохромов с различными свойствами. Имеется возможность детекции множества последовательностей ДНК на цитологическом препарате за счет того, что каждая из ДНК проб будет мечена определенным цветом (**многоцветовая FISH** или **MFISH**). Тем не менее, одноцветовая FISH является одним из основных среди всех молекулярно-цитогенетических методов. Спектр применения данного метода в значительной степени широк: от диагностики самых распространенных численных хромосомных аномалий (например, синдром Дауна и его мозаичные формы) до идентификации редких структурных хромосомных перестроек при недифференцированных формах наследственной патологии. Особое внимание заслуживает одноцветовая FISH с использованием

ДНК проб, маркирующих полностью пару гомологичных хромосом. Этот метод применяется преимущественно для идентификации сложных хромосомных перестроек, реже, он используется для определения численных хромосомных аномалий.

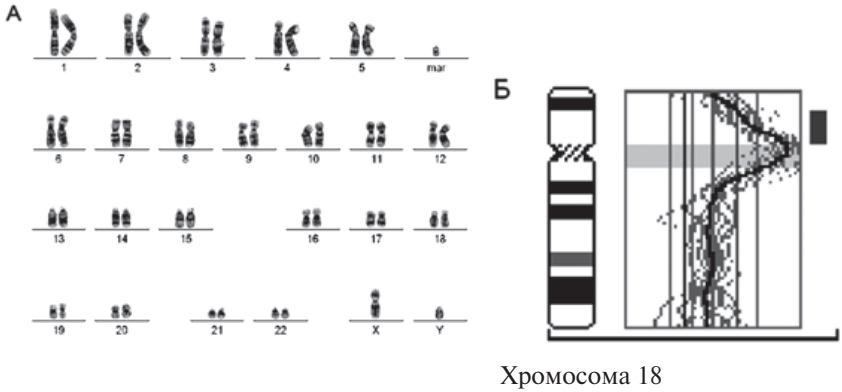

Рис. 21. Результаты проведения HR CGH ребенку с умственной отсталостью и МАР: А – цитогенетическое исследование [кариотип: 47,XY,+mar]; Б – молекулярно-цитогенетическое исследование: обнаружено увеличение числа копий последовательностей ДНК (трипликация) короткого плеча хромосомы 18 [ish cgh enh(18)(p11.1pter)*]. Примечание. *запись результата в соответствии с международной номенклатурой ISCN 2013

MFISH основывается на создании смеси ДНК проб, меченных различными флюорохромами, которые одновременно вводятся в исследуемый препарат с последующей совместной гибридизацией. Изначально данный метод разрабатывался для идентификации хромосомных аномалий при отсутствии клинического диагноза из-за значительной экономии затрачиваемого экспериментального времени на анализ. Помимо этого, данный метод является эффективным для определения структурных хромосомных аномалий за счет одновременной визуализации нескольких участков хромосом. На базе ранних разработок MFISH были созданы такие высокоразрешающие методы идентификации хромосомных аномалий, как 24-цветовая FISH и спектральное кариотипирование (SKY – spectral karyotyping). Данные методы используют комбинацию из 24-х ДНК проб, меченных разными флюорохромами, которые соответствуют каждой гомологичной аутосоме и половым хромосомам. Различие их заключается

в том, что для SKY используются специальные спектральные системы детекции, а для 24-цветовой FISH применяется цифровой анализ изображения, целью которого является создание соответствующей комбинации цветов, в результате чего каждая хромосома имеет свою характерную окраску. Использование технологий, основанных на микроманипуляции микроскопическими объектами, позволило создать коллекцию ДНК проб, маркирующих одновременно участки хромосом, соответствующие полосам G-окрашивания. Подобные коллекции обычно состоят из нескольких сотен проб и их применение позволяет получить разноцветное сегментное окрашивание всех хромосом с высоким разрешением. **MCB FISH** (multicolor banding FISH) представляет собой высокоэффективный метод диагностики сложных структурных хромосомных перестроек и микроаберраций.

В настоящее время существует целый ряд модификаций CGH, применение которых рассматривается в качестве оправданных при ряде диагностических процедур. Как уже было сказано, применение методов зависит от их разрешающей способности, оценивающейся числом последовательностей ДНК, которая представлена в табл. 7. Классический CGH анализ был внедрен в молекулярно-цитогенетическую практику для анализа хромосомного набора в клетках тканей, культивирование которых затруднено или невозможно. Среди основных ограничений CGH необходимо отметить невозможность диагностики хромосомного мозаицизма и сбалансированных структурных хромосомных перестроек. Разработка модификаций метода CGH была направлена на создание протоколов для высокоразрешающей идентификации хромосомных микроаберраций (микроделеций и микродупликаций). В результате этого были созданы методы серийного CGH анализа (**серийная CGH** или **arrayCGH**). Серийный CGH анализ основан не на гибридизации тотальной геномной ДНК донора и пациента, а на применении в качестве ДНК донора специфических последовательностей ДНК, соответствующих определенным участкам хромосом. Схема проведения arrayCGH (молекулярного кариотипирования) представлена на рис. 22. CGH проводится несколькими сериями с использованием цифровых систем детекции и анализа сравнительной интенсивности сигналов. Методы, основанные на серийной CGH, позволяют проводить идентификацию хромосомных микроаберраций, а также генных мутаций, затрагивающих последовательности ДНК, размер которых больше 50 пн. На рис. 23 показан результат проведения arrayCGH ребенку с дополнительным материалом на хромосоме 1.

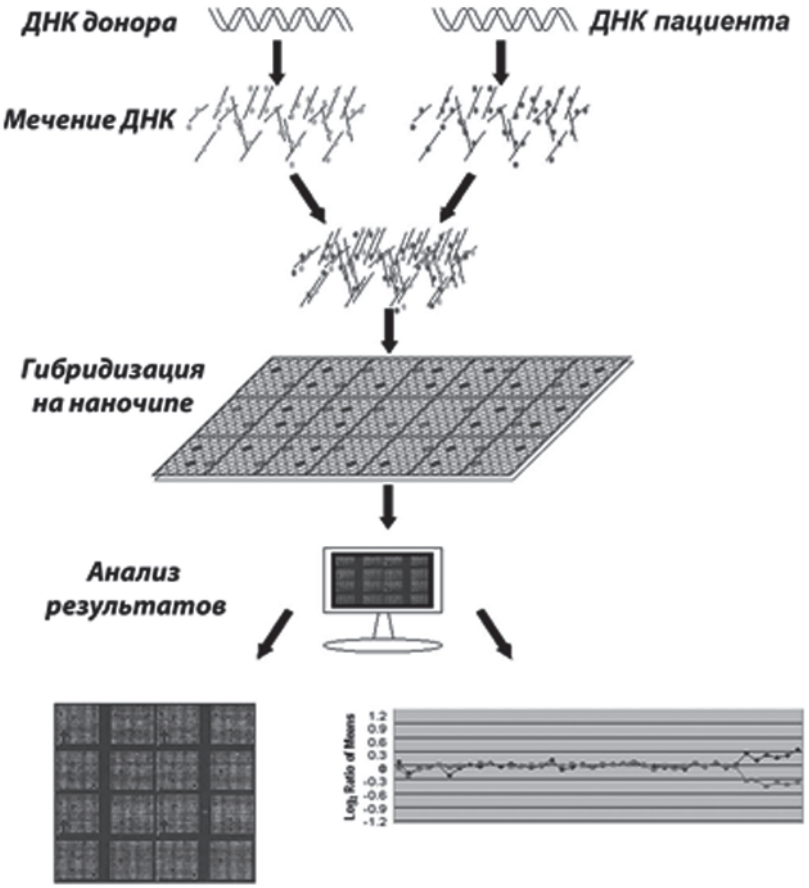

Рис. 22. Схематическое изображение метода arrayCGH:
ДНК пациента и донора метятся разными флюорохромами; затем проводится гибридизация на наночипе, а далее результаты сканируются и анализируются с помощью специальных систем – «лазерный сканер + компьютер»

Одним из наиболее используемых методов молекулярно-цитогенетической диагностики является интерфазная FISH на препаратах культивированных и некультивированных клеток. Данный метод нашел широкое применение в идентификации хромосомных аномалий при различных

заболеваниях, многие из которых сопровождаются нарушением психики. Среди преимуществ данного метода следует отметить высокую эффективность определения регулярных и мозаичных форм фактически любой хромосомной патологии. Дополнительным преимуществом этого метода является возможность проведения анализа непосредственно на предметном стекле, которое можно было использовать при классическом цитогенетическом анализе (культивирование клеток исследуемой ткани, дифференциальное окрашивание хромосом, исследование кариотипа с помощью светового микроскопа). Невозможность культивирования большинства клеток тканей человека ограничивает FISH анализ на метафазных хромосомах. В результате чего и был разработан метод FISH на интерфазных ядрах или **интерфазная FISH**. Этот метод в значительной степени более эффективен по сравнению с FISH анализом метафазных хромосом при идентификации мозаичных форм численных хромосомных аномалий, поскольку позволяет легко изучить большое число клеток (до нескольких десятков тысяч). Недостатком этого метода является сложность в определении структурных хромосомных аномалий. На рис. 24 показан пример использования метода FISH на интерфазных клетках.

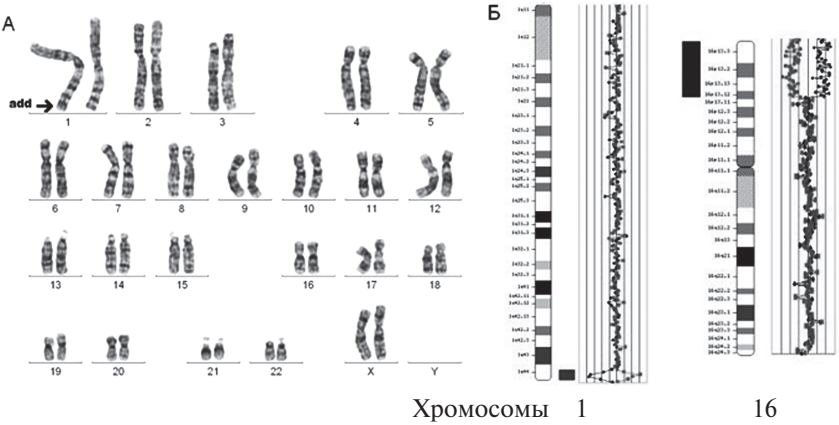

Рис. 23. Результаты молекулярно-цитогенетического исследования дополнительного материала неизвестного происхождения на длинном плече хромосомы 1:
А – цитогенетический анализ [кариотип ребёнка: 46,XX,add(1)(q4?4)];
Б – исследование методом arrayCGH участка длинного плеча хромосомы 1 и хромосомы 16

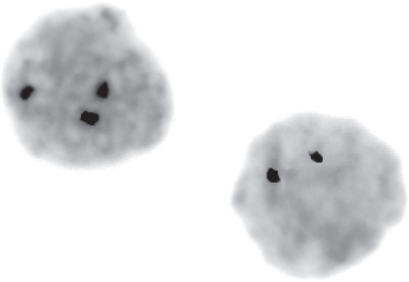

Рис. 24. Пример использования метода FISH, демонстрирующий наличие двух хромосом в клетке (норма) и трех хромосом X (трисомия хромосомы X). Слева видны: три сигнала, соответствующие трем хромосомам X (трисомия), справа – два сигнала – двум хромосомам X (норма)

Как уже отмечалось, одним из основных направлений развития методологических подходов к разработке новых вариантов FISH является создание ДНК проб с различными свойствами, связанными с их молекулярным составом и локализацией на хромосомах. Среди ДНК проб для метода FISH можно выделить следующие: ДНК пробы, состоящие из высокоповторяющихся последовательностей ДНК; ДНК пробы, состоящие из уникальных последовательностей ДНК генов; WCP ДНК пробы (whole chromosome probe – проба, маркирующая хромосому полностью) и 24-цветовая FISH/SKY (набор из 24-х WCP ДНК проб); ДНК пробы, состоящие из участков хромосом (MCB FISH) для MFISH. Наиболее частая процедура в клинической практике – FISH с использованием ДНК проб, состоящих из высокоповторяющихся последовательностей ДНК, для идентификации численных хромосомных аномалий. FISH с применением ДНК проб, состоящих из уникальных последовательностей ДНК, является методом идентификации и локализации структурных хромосомных аномалий и определения изменения ДНК на субхромосомном уровне (**выявление точек разрыва**). FISH с использованием WCP ДНК проб и 24-цветовая FISH/SKY (набор из 24-х WCP ДНК проб) являются дополнительными методами диагностики структурных хромосомных аномалий. Эти методы, в основном, используются для уточнения диагноза при наличии перестройки с участием нескольких хромосом. Они также могут быть использованы при диагностике транслокаций небольших участков хромосом. MCB FISH является высокоэффективным методом идентификации сложных структурных хромосомных перестроек и хромосомных микроаберраций.

CGH анализ нашел своё применение в области онкоцитогенетики и диагностики хромосомных микроаберраций у детей с умственной отсталостью. Помимо этого, серийный CGH анализ позволяет с высокой эффективностью определить потерю (делеции) или приобретение (дупликации) последовательности хромосомной ДНК размером менее одного млн пн (геномные аномалии).

Необходимо знать, что при постнатальной диагностике хромосомных аномалий молекулярно-цитогенетические методы являются дополнительными к классическим цитогенетическим. Инициирующей стадией диагностики хромосомных аномалий обычно является классический цитогенетический анализ, включающий в себя культивирование исследуемых клеток с целью получения метафазных пластинок с последующим применением методов дифференциального окрашивания хромосом по длине и исследованием кариотипа с помощью светового микроскопа. Данный метод позволяет идентифицировать или предположить наличие хромосомной аномалии. При необходимости, исходя из предположения, применяется молекулярно-цитогенетическая диагностика. При этом выбирается участок хромосомы, последовательности ДНК которого маркирует соответствующая проба. После этого проводится молекулярно-цитогенетический анализ. Следует отметить и то, что сложные хромосомные перестройки требуют применения нескольких модификаций FISH.

Особого внимания заслуживает молекулярно-цитогенетическая диагностика **субтеломерных хромосомных микроаберраций**. Частота данных хромосомных аномалий может достигать 5–25 % в группах детей с недифференцированными формами умственной отсталости и нарушением психики. До создания коллекций ДНК проб, маркирующих соответствующие участки хромосом, диагностика этой патологии оставалась невозможной. Получение набора ДНК проб, маркирующих все субтеломерные участки, позволило с высокой эффективностью обнаружить данную форму хромосомной патологии. Другой возможностью идентификации хромосомных микроаберраций является применение различных вариантов метода CGH. Многие исследователи отмечают и то, что метод серийной CGH (молекулярного кариотипирования) является в значительной степени эффективным для диагностики субтеломерных хромосомных микроаберраций. Альтернативным методом диагностики субтеломерных хромосомных микроаберраций, предложенным отечественными исследователями, является использование FISH и ДНК зондов, маркирующих субтеломерные участки хромосом.

В настоящее время известны многие клинические характеристики пациентов с субтеломерными микроаберрациями различных хромосом. Благодаря этому, становится возможным теоретически выделить ту хромосому, в которой с наибольшей вероятностью расположена микроаберрация, в результате исчезает необходимость одновременного использования нескольких зондов и анализ производится с использованием лишь одной субтеломерной ДНК пробы.

Таким образом, генетические нарушения, выявляемые у индивидуумов, достаточно гетерогенны. Причинами этих нарушений нередко могут быть различные хромосомные (геномные) микроперестройки, которые невозможно выявить с применением стандартных цитогенетических методов из-за не слишком высокого уровня разрешения этой классической технологии. С разработкой современных технологий многие ученые считают, как говорилось выше, что субтеломерные и интерстициальные перестройки могут являться причиной более 5–10 % случаев недифференцированной умственной отсталости при условии их выявления с использованием высокоразрешающего сканирования генома методом arrayCGH (с разрешением не менее 100 тыс. пн). Они также предполагают, что применение высокоразрешающих методов сканирования генома увеличивают удельный вес субтеломерных и интерстициальных перестроек в 1,5–2 раза. Показано, что исследования больных с недифференцированными формами умственной отсталости и аутизмом, проведенные с помощью современных молекулярно-цитогенетических методов, способствуют более корректному определению структурных особенностей генома и при определении генетических причин позволяют классифицировать недифференцированные формы. Кроме того, подобные исследования имеют практическую значимость, а именно, благодаря им определены показания для проведения молекулярного кариотипирования (arrayCGH), определяется тактика проведения молекулярно-цитогенетических исследований, что в дальнейшем способствует эффективному медико-генетическому консультированию, а в отдельных случаях и пренатальной диагностики.

Суммируя результаты наших исследований, можно сказать, что мы обследовали более 1000 пациентов с недифференцированными формами умственной отсталости различными молекулярно-цитогенетическими методами. Учитывая данные, полученные с помощью цитогенетических исследований (их было более 9 тысяч) и частично подтвержденные с использованием FISH и MCB, различные хромосомные

аномалии были выявлены в 10,6 % случаев. Принимая во внимание наличие у некоторых детей хромосомной нестабильности в виде анеуплоидии аутосом и гоносом, хромосомных перестроек (транслокаций, делеций, сайтов ломкости и т.д.), можно сказать и о том, что мозаичные хромосомные аномалии, включая низкопроцентный мозаицизм и хромосомную нестабильность, имеют относительно повышенную частоту среди детей с умственной отсталостью, ВПР и/или МАР, и этим пациентам требуется проведение исследования с использованием нескольких методов, а именно цитогенетических и молекулярно-цитогенетических технологий (HR CGH и arrayCGH). Обсуждая данные, полученные в наших лабораториях при использовании HR CGH, сделано заключение о том, что этот метод является эффективным для выявления хромосомных микроаномалий (эффективность более 40 %), и может быть использован для анализа геномных перестроек, связанных с умственной отсталостью и аутизмом. Однако в связи с такими ограничениями этого метода, как невозможность подтверждения (исключения) низкопроцентного мозаицизма, сбалансированных транслокаций, а также микроделеционных синдромов в тех случаях, когда размер перестройки является ниже разрешения HR CGH метода, применяется метод arrayCGH. При этом микроаномалии хромосом (генома) обнаружены в 48 % случаев, а в 37 % случаев были выявлены вариации числа копий последовательностей ДНК (CNV). Методом arrayCGH также были подтверждены и/или уточнены точки разрыва, предположенные с помощью цитогенетических и других молекулярно-цитогенетических методов. Микроаномалии и/или вариации числа копий последовательностей ДНК затрагивали все хромосомы и довольно большое число генов, которые могут быть ассоциированы с недифференцированными формами умственной отсталости. Нами был сделан вывод о том, что патогенез умственной отсталости связан со многими генами и, практически, со всеми хромосомами, и заболевание следует рассматривать в плане геномных сетей и генных взаимодействий, т.е. как связанное со специфическим комплексом процессов, в которые вовлекаются от нескольких десятков до нескольких тысяч генов. Единичные аномалии у индивидуумов с наследственными недифференцированными формами (например, с умственной отсталостью) указывают, скорее всего, на одно из звеньев патогенетического каскада, а не на специфическую перестройку, характерную для заболевания. Вероятно, к изучению многих недифференцированных форм

предположительно наследственных заболеваний следует подходить с точки зрения персонифицированной геномной медицины, т.е. основываясь на идентификации индивидуальных особенностей вариаций генома на молекулярном и клеточном уровнях (см рекомендуемую литературу). Таким образом, следует подходить к клиническому анализу больного персонализировано, используя все современные геномные и клеточные технологии в диагностике. Становится всё более и более очевидным, что патогенез, связанный со многими генами, необходимо рассматривать в плане геномных сетей и геномных взаимодействий. Предлагаемый биоинформатический (*in silico*) подход к анализу геномых перестроек позволяет определить возможные гены-кандидаты и молекулярные «процессы-мишени», связанные с патогенезом наследственных нервных и психических заболеваний. Анализируя наиболее известные методы поиска этиологических факторов недифференцированных форм, можно сделать вывод о том, что сочетание высокоразрешающих молекулярно-цитогенетических методов и *in silico* анализа может считаться наиболее удачной комбинацией для поиска генетических причин недифференцированных форм наследственных заболеваний.

Кроме того, применение цитогенетических и молекулярно-цитогенетических методов, направленных на идентификацию хромосомных (геномных) микроаномалий, позволяет не только выявлять те или иные численные и структурные изменения генома, но также картировать гены-кандидаты данной формы нарушения психики. Таким образом, анализ геномных вариаций и микроаномалий хромосом (генома), обнаруженных современными молекулярно-цитогенетическими методами, представляет несомненный интерес для выявления причин заболеваний и фактически дифференцирования изучаемых форм, определения их генетических маркеров, а также дальнейшего поиска генетических и эпигенетических механизмов патологии головного мозга.

Знание молекулярных и клинических основ наследственных болезней, а также знакомство с рекомендуемой литературой, помогут исследователям с высшим медицинским, биологическим и психологическим образованием постигать основы медицинской генетики и успешно работать в подразделениях генетического профиля педиатрических, психиатрических и психологических учреждений, а также в медико-генетических консультациях.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. **Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Чернышов В.Н.** Хромосомные синдромы и аномалии. Классификация и номенклатура. Ростов-на-Дону, Изд.: РГМУ, 1999, 192 с.

2. **Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Чернышов В.Н.** Медицинская цитогенетика (учебное пособие). 2006. М. Изд: МЕДПРАКТИКА. 300 с.

3. **Ворсанова С.Г., Юров И.Ю., Соловьёв И.В., Юров Ю.Б.** Гетерохроматиновые районы хромосом человека: клинико-биологические аспекты. М., Изд.: Медпрактика, 2008, 300 с.

4. **Ворсанова С.Г., Юров И.Ю., Куринная О.С., Юров Ю.Б.** Недифференцированные формы умственной отсталости у детей: цитогенетические и молекулярно-цитогенетические аспекты: монография. М.: Издательский дом Академии Естествознания, 2017. – 244 с.

5. **Гинтер Е.К.** Медицинская генетика. 2003. М. Изд: Медицина. 448 с.

6. **Гинтер Е.К., Козлова С.И.** (редакция) Современное медико-генетическое консультирование. М.: Авторская академия, 2016, 304 с.

7. **Жимулёв И.Ф.** Общая и молекулярная генетика. Учебное пособие. 4-е издание. 2007. Новосибирск. Изд: Сибирское университетское издательство. 479 с.

8. **Козлова С.И., Демикова Н.С.** Наследственные синдромы и медико-генетическое консультирование. 3-е издание, перераб. и дополн. М.: Т-во научных изданий КМК; Авторская академия. 2007. 448 с.

9. **Коряков Д.Е., Жимулёв И.Ф.** Хромосомы. Структура и функции. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2009, 258 с.

10. **Юров И.Ю., Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б.** Геномные и хромосомные болезни центральной нервной системы: молекулярные и цитогенетические аспекты. М., Изд: «Медпрактика – М», 2014, 384 с.

РЕКОМЕНДУЕМЫЕ ЭЛЕКТРОННЫЕ РЕСУРСЫ

11. **Face2Gene** – клинический ресурс для анализа изображений: https://www.face2gene.com.

12. **OMIM** – Online Mendelian Inheritance in Man (электронный каталог наследственных заболеваний): http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=OMIM.

13. **POSSUM** – Pictures of Standard Syndromes and Undiagnosed Malformations (электронная база данных наследственных синдромов): http:www.possumcore.com/nuxeo/login.jsp.

14. **PubMed** – наиболее обширная база данных научных статей, посвященных различным аспектам биологии и медицины: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez.

Приложение

Оценка основных антропометрических данных у детей

В зависимости от интервала, которому соответствует антропометрический показатель, дается его оценка, а также оценка физического развития ребенка в целом.

Интервал до 3 центиля – область «очень низких величин».

Интервал от 3 до 10 центиля – область «низких величин».

Интервал от 10 до 25 центиля – область величин «ниже среднего».

Интервал от 25 до 75 центиля – область «средних величин».

Интервал от 75 до 90 центиля – область величин «выше среднего».

Интервал от 90 до 97 центиля – область «высоких величин».

Интервал выше 97 центиля – область «очень высоких величин».

Если рост ребенка соответствует интервалу 25–75 центилей, то физическое развитие считается средним, если 10–25 центилей – ниже среднего, 3–10 центилей – низкое (карликовость), ниже 3 центиля – очень низкое. Таким же образом дается оценка высокого физического развития (интервал 90–97 центилей), выше среднего (75–90 центилей) и очень высокого (выше 97 центиля).

Оценка окружности головы дается следующим образом: значения, соответствующие интервалу более 90 центилей, расцениваются как макроцефалия, и менее 10 центилей – как микроцефалия.

Оценка гармоничности развития проводится следующим образом. Если различия между длиной, массой тела и окружностью груди не превышают одного интервала, то говорят о гармоничном физическом развитии. В случае, когда различия этих антропометрических показателей составляют 2 интервала и более, развитие считается дисгармоничным. Например, у больного синдромом Марфана длина тела оценена как очень высокая величина, масса тела – средняя, а окружность груди ниже среднего. В этом случае физическое развитие ребенка высоко дисгармоничное.

Центильные величины длины тела (см) мальчиков (0 мес. – 17 лет)

Интервал / Возраст	Центили					
	3	10	25	75	90	97
1	2	3	4	5	6	7
0 мес.	48,0	48,9	50,0	53,2	54,3	55,1
1	50,5	51,5	52,8	56,3	57,5	58,7
2	53,4	54,3	55,8	59,5	61,0	62,1

Продолжение приложения

1	2	3	4	5	6	7
3	56,1	57,0	58,6	62,1	64,0	65,5
4	58,6	59,5	61,3	65,6	67,0	68,7
5	61,0	61,9	63,4	67,9	69,6	70,9
6	63,0	64,0	65,6	69,9	71,3	72,5
7	65,0	65,9	67,5	71,4	73,0	74,1
8	66,5	67,6	68,9	73,0	74,5	75,7
9	67,8	68,8	70,1	74,5	75,9	77,1
10	68,8	69,9	71,3	76,1	77,4	78,8
11	69,9	71,0	72,6	77,3	78,9	80,4
12	71,0	72,0	73,8	78,5	80,3	81,7
15	72,9	74,3	76,0	81,3	86,5	84,9
18	75,0	76,5	78,4	84,4	83,4	88,2
21	77,2	78,6	80,8	86,8	88,2	91,0
24	79,4	81,0	83,0	88,4	92,0	93,8
27	81,4	83,2	85,5	92,2	94,6	96,3
30	83,7	85,2	87,5	94,8	97,2	99,0
33	86,0	87,4	90,0	97,4	99,7	101,4
36	88,0	89,6	92,1	99,7	102,2	103,9
Годы						
3,5 лет	90,3	92,1	95,0	102,5	105,0	106,8
4,0	93,2	95,4	98,3	105,5	108,0	110,0
4,5	96,3	98,3	101,2	108,5	111,2	113,5
5,0	98,4	101,7	104,9	112,0	114,5	117,2
5,5	102,4	104,7	108,0	115,2	118,0	120,1
6,0	105,5	108,0	110,8	118,8	121,4	123,3
6,5	108,6	110,9	113,9	122,0	124,4	126,4
7,0	110,3	113,8	117,0	125,0	127,9	130,0
8,0	116,4	118,8	122,0	131,0	134,3	136,4
9,0	121,5	124,6	127,5	136,5	140,3	142,5
10,0	126,4	129,2	133,0	142,0	146,2	149,1
11,0	131,2	134,0	138,0	148,3	152,9	155,2

Продолжение приложения

1	2	3	4	5	6	7
12,0	135,8	138,8	142,7	154,9	159,5	162,4
13,0	140,2	143,6	147,4	160,4	165,8	169,6
14,0	144,9	148,3	152,4	166,4	172,2	176,0
15,0	149,3	153,2	158,0	172,0	178,0	181,0
16,0	154,0	158,0	162,2	177,4	182,0	185,0
17,0	159,0		168,0			

Центильные величины массы тела (кг) мальчиков (0 мес. – 17 лет)

Интервал / Возраст	Центили					
	3	10	25	75	90	97
1	2	3	4	5	6	7
0 мес.	2,4	2,7	3,0	3,7	4,0	4,4
1	3,1	3,5	3,8	4,5	5,2	5,6
2	3,9	4,3	4,6	5,5	6,2	6,6
3	4,5	4,9	5,4	6,4	7,0	7,5
4	5,2	5,6	6,2	7,2	7,9	8,4
5	5,8	6,2	6,8	7,9	8,6	9,1
6	6,4	6,8	7,4	8,6	9,2	9,7
7	6,9	7,4	7,9	9,1	9,8	10,3
8	7,4	7,8	8,4	9,6	10,3	10,8
9	7,8	8,3	8,9	10,1	10,9	11,3
10	8,0	8,6	9,2	10,6	11,3	11,8
11	8,3	8,9	9,5	11,0	11,8	12,3
12	8,6	9,1	9,8	11,5	12,2	12,7
15	9,2	9,6	10,5	12,2	12,9	13,5
18	9,6	10,2	11,0	12,8	13,6	14,2
21	10,1	10,6	11,5	13,5	14,3	14,9
24	10,6	11,1	12,0	14,1	14,9	15,4
27	11,1	11,6	12,4	14,6	15,4	15,9
30	11,5	12,0	12,8	15,1	16,0	16,5
33	11,9	12,4	13,2	15,6	16,5	17,0

Продолжение приложения

1	2	3	4	5	6	7
36	12,1	12,8	13,6	16,0	16,9	17,5
Годы						
3,5 лет	12,7	13,4	14,2	17,0	18,0	18,7
4,0	13,3	14,2	15,1	18,0	19,1	20,0
4,5	14,0	14,9	15,9	19,0	20,6	21,7
5,0	14,8	15,7	16,8	20,1	22,0	23,2
5,5	15,5	16,6	17,8	21,4	23,4	25,1
6,0	16,3	17,6	18,9	22,6	24,9	27,0
6,5	17,2	18,4	20,0	24,0	26,4	29,0
7,0	18,2	19,6	21,3	25,5	28,0	31,1
8,0	20,0	21,5	23,4	28,4	31,7	35,1
9,0	22,0	23,4	25,6	31,4	35,4	39,2
10,0	24,0	25,6	28,0	35,1	39,5	45,0
11,0	26,0	28,0	31,0	39,2	44,5	50,5
12,0	28,3	30,4	34,4	43,8	50,0	57,0
13,0	31,0	33,4	39,8	49,0	56,2	63,6
14,0	34,0	35,2	42,2	54,6	62,2	70,6
15,0	37,8	40,8	46,9	60,2	65,1	76,5
16,0	41,2	45,4	51,8	65,9	73,0	82,5
17,0	46,4	50,5	56,8	70,6	78,0	86,2

Центильные величины окружности головы (см) мальчиков (0 мес. – 17 лет)

Интервал / Возраст	Центили					
	3	10	25	75	90	97
1	2	3	4	5	6	7
0 мес.	32,5	33,2	43,0	35,5	36,5	37,7
1	34,8	35,3	36,0	37,9	39,0	39,8
2	36,9	37,3	38,0	40,3	40,9	41,8
3	38,4	38,8	39,5	41,6	42,5	43,3
4	39,6	40,2	40,8	42,9	43,8	44,5
5	40,6	41,2	42,0	44,0	45,0	45,9
6	41,5	42,0	42,7	45,3	46,0	46,7

Продолжение приложения

1	2	3	4	5	6	7
7	42,2	42,8	43,7	46,1	47,0	47,7
8	42,8	43,6	44,2	46,8	47,7	48,4
9	43,5	44,0	44,8	47,4	48,3	49,0
10	44,0	44,6	45,4	48,0	48,8	49,6
11	44,3	45,0	45,9	48,6	49,3	50,0
12	44,6	45,3	46,2	49,1	49,8	50,7
15	45,3	46,0	46,7	49,5	50,3	51,3
18	46,0	46,6	47,3	49,9	50,7	51,6
21	46,5	47,2	47,7	50,3	51,0	52,0
24	47,0	47,6	48,1	50,5	51,3	52,3
27	47,3	47,9	48,5	50,8	51,7	52,7
30	47,5	48,2	48,8	51,1	52,0	53,0
33	47,8	48,4	49,2	51,3	52,3	53,3
36	48,0	48,6	49,5	51,5	52,6	53,5
Годы						
3,5 лет	48,6	49,2	49,9	52,0	53,0	54,0
4,0	49,0	49,6	50,2	52,4	53,4	54,3
4,5	49,3	49,8	50,4	52,7	53,8	54,6
5,0	49,6	50,1	50,7	53,1	54,2	55,0
5,5	49,8	50,4	51,0	53,5	54,5	55,5
6,0	50,0	50,6	51,2	54,0	54,8	55,7
6,5	50,2	50,8	51,4	54,3	55,0	55,8
7,0	50,4	51,0	51,6	54,5	55,3	56,0
8,0	50,5	51,4	52,0	55,0	55,8	56,6
9,0	50,8	51,7	52,5	55,5	56,3	57,2
10,0	51,2	52,0	52,8	56,0	56,7	57,7
11,0	51,5	52,3	53,2	56,3	57,2	58,2
12,0	51,7	52,6	53,5	56,7	57,7	58,8
13,0	51,9	52,8	53,7	57,3	58,1	59,2
14,0	52,1	53,0	54,0	57,5	58,5	59,6
15,0	52,3	53,2	54,3	57,8	58,8	60,0
16,0	52,4	53,4	54,4	57,9	59,0	60,1
17,0	52,5	53,5	54,6	58,0	59,1	60,2

Продолжение приложения

Центильные величины окружности груди (см) у мальчиков (0 мес. – 17 лет)

Интервал / Возраст	Центили					
	3	10	25	75	90	97
1	2	3	4	5	6	7
0 мес.	31,7	32,3	33,5	36,0	36,8	37,3
1	33,3	34,1	35,4	38,0	38,9	39,4
2	35,0	35,7	37,0	40,0	40,8	41,6
3	36,5	37,3	38,4	42,1	43,1	43,8
4	38,1	38,8	39,8	43,5	44,5	45,7
5	39,3	40,1	41,1	45,0	46,2	47,7
6	40,6	41,4	42,4	46,3	47,6	49,0
7	41,7	42,5	43,4	47,5	48,9	50,1
8	42,7	43,5	44,4	48,5	49,9	51,1
9	43,6	44,3	45,2	49,3	50,7	52,0
10	44,3	45,0	46,0	50,0	51,5	52,8
11	44,8	45,6	46,6	50,8	52,2	53,6
12	45,3	46,1	47,0	51,2	52,8	54,3
15	46,0	46,8	47,9	51,9	53,7	55,0
18	46,5	47,4	48,6	52,4	54,3	55,6
21	47,0	47,9	49,1	52,9	54,7	56,0
24	47,6	48,4	49,5	53,2	55,1	56,4
27	47,8	48,7	49,9	53,5	55,6	56,8
30	48,2	49,1	50,3	53,9	55,8	57,3
33	48,4	49,3	50,5	54,2	56,1	57,7
36	48,6	49,7	50,8	54,6	56,4	58,2
Годы						
3,5 лет	49,2	50,3	51,5	55,0	57,1	59,0
4,0	50,0	51,2	52,4	55,8	58,0	59,9
4,5	50,8	52,0	53,3	56,9	59,0	61,2
5,0	51,3	52,8	54,0	58,0	60,0	62,6
5,5	52,2	53,5	55,0	59,1	61,3	63,8

Продолжение приложения

1	2	3	4	5	6	7
6,0	53,0	54,4	56,0	60,2	62,5	65,1
6,5	53,8	55,2	57,0	61,3	63,8	66,4
7,0	54,6	56,2	57,9	62,3	65,1	67,9
8,0	56,1	58,0	60,0	64,8	67,9	70,8
9,0	57,7	59,6	61,9	67,1	70,6	73,8
10,0	59,3	61,4	63,9	69,8	73,6	76,8
11,0	61,1	63,0	66,0	72,1	76,2	79,8
12,0	62,6	65,0	68,0	74,9	79,0	82,8
13,0	64,7	66,9	70,2	78,2	82,2	87,0
14,0	67,0	68,6	73,1	81,8	86,2	91,0
15,0	70,0	72,6	76,3	85,7	90,1	94,2
16,0	73,3	76,1	80,0	89,9	93,6	97,0
17,0	77,0	80,1	82,9	92,2	95,5	98,4

Центильные величины длины тела (см) девочек (0 мес. – 17 лет)

Интервал / Возраст	Центили					
	3	10	25	75	90	97
1	2	3	4	5	6	7
0 мес.	47,0	46,0	49,2	52,1	53,3	54,5
1	49,7	50,0	52,4	55,3	56,9	57,7
2	52,2	53,3	55,0	58,6	59,9	60,8
3	55,1	56,1	57,9	61,5	63,0	63,9
4	57,4	58,6	60,5	64,1	65,6	66,4
5	59,9	61,0	62,8	66,4	67,8	68,8
6	62,1	63,0	64,3	68,2	69,8	70,8
7	63,7	64,2	66,4	70,0	71,6	72,7
8	65,2	66,1	67,7	71,6	73,1	75,2
9	66,5	67,5	69,3	72,8	74,5	75,8
10	67,7	68,8	70,5	74,2	75,9	77,1
11	69,0	70,3	71,7	75,7	77,1	78,3
12	71,4	71,4	72,8	76,3	78,3	79,3
15	72,2	73,6	75,2	78,8	81,2	82,4
18	74,0	75,8	77,5	82,1	84,4	86,0

Продолжение приложения

1	2	3	4	5	6	7
21	76,0	78,2	80,0	84,6	87,4	88,8
24	78,4	80,4	82,6	87,5	90,2	92,2
27	80,8	83,0	85,4	90,1	93,0	94,7
30	83,4	85,6	87,8	92,8	95,6	97,3
33	85,9	88,2	90,3	95,5	98,2	100,0
36	88,6	90,8	92,9	98,1	100,8	102,9
Годы						
3,5 лет	91,0	93,4	95,6	101,0	103,9	105,8
4,0	94,0	96,2	98,4	104,2	106,9	109,1
4,5	96,9	99,3	101,5	107,1	110,6	114,0
5,0	99,9	102,4	104,9	110,7	114,0	116,5
5,5	102,5	105,2	108,0	114,5	117,1	120,0
6,0	105,3	108,0	111,0	118,0	120,8	124,0
6,5	108,0	110,5	114,0	121,7	124,2	127,4
7,0	111,0	113,6	117,1	125,0	128,1	131,3
8,0	116,6	119,4	123,0	131,0	134,4	137,6
9,0	122,0	124,4	128,5	136,7	140,6	143,8
10,0	127,0	130,0	133,8	142,5	146,6	150,1
11,0	131,0	134,2	138,6	148,6	153,9	156,8
12,0	135,2	138,4	143,0	155,1	159,3	163,5
13,0	139,5	143,1	148,0	160,3	164,3	168,0
14,0	144,0	147,4	152,4	164,2	168,0	170,5
15,0	148,1	151,6	156,3	167,0	170,3	172,6
16,0	151,7	155,0	158,3	169,0	172,0	174,1
17,0	154,2	157,3	161,2	170,0	173,2	175,5

Центильные величины массы тела (кг) девочек (0 мес. – 17 лет)

Интервал / Возраст	Центили					
	3	10	25	75	90	97
1	2	3	4	5	6	7
0 мес.	2,3	2,5	3,0	3,5	3,8	4,0
1	3,0	3,3	3,7	4,3	4,6	4,9
2	3,7	4,0	4,4	5,0	5,3	5,6

Продолжение приложения

1	2	3	4	5	6	7
3	4,4	4,6	5,0	5,7	6,1	6,5
4	5,0	5,3	5,6	6,5	6,9	7,4
5	5,5	5,8	6,2	7,2	7,7	8,2
6	6,1	6,3	6,8	7,9	8,5	9,0
7	6,5	6,8	7,3	8,5	9,1	9,7
8	7,0	7,3	7,7	9,1	9,7	10,5
9	7,4	7,7	8,2	9,6	10,4	11,2
10	7,7	8,1	8,7	10,1	11,2	11,3
11	8,1	8,5	9,1	10,6	11,5	12,2
12	8,3	8,8	9,4	11,0	11,9	12,6
15	8,9	9,4	10,0	11,7	12,7	13,3
18	9,4	9,9	10,6	12,5	13,4	13,9
21	9,8	10,4	11,1	13,1	13,9	14,6
24	10,3	10,9	11,6	13,5	14,5	15,2
27	10,8	11,3	12,0	14,0	15,0	15,7
30	11,2	11,7	12,5	14,5	15,5	16,3
33	11,5	12,1	12,9	14,9	16,0	16,8
36	11,8	12,5	13,3	15,4	16,5	17,3
Годы						
3,5 лет	12,4	13,1	14,0	16,3	17,8	18,6
4,0	13,1	13,9	14,8	17,2	19,0	20,0
4,5	13,8	14,9	15,8	18,4	20,4	21,6
5,0	14,9	15,8	16,9	19,8	21,9	23,7
5,5	15,6	16,6	17,8	21,2	23,6	25,8
6,0	16,3	17,4	18,8	22,5	25,1	27,9
6,5	17,1	18,2	19,9	24,0	26,7	29,8
7,0	18,0	19,3	20,6	25,3	28,4	31,8
8,0	20,0	21,2	23,0	28,5	32,2	36,4
9,0	21,9	23,3	25,4	32,0	36,4	41,0
10,0	23,9	25,6	28,0	36,0	41,1	47,0
11,0	26,0	28,0	31,1	40,3	46,0	53,5
12,0	28,4	31,4	35,2	45,4	51,3	58,8
13,0	32,0	35,3	40,0	51,8	56,8	64,2
14,0	36,1	39,9	44,0	55,0	60,9	70,0
15,0	39,4	43,7	47,6	58,0	63,9	73,6

Продолжение приложения

1	2	3	4	5	6	7
16,0	42,4	46,8	51,0	61,0	66,2	76,1
17,0	45,2	48,4	52,4	62,0	68,0	79,0

Центильные величины окружности головы (см) девочек (0 мес. – 17 лет)

Интервал / Возраст	Центили					
	3	10	25	75	90	97
1	2	3	4	5	6	7
0 мес.	32,0	33,0	34,0	35,5	36,4	37,0
1	33,8	34,8	36,0	38,0	38,8	39,5
2	35,6	36,3	37,4	39,8	40,6	41,4
3	36,9	37,7	38,5	41,3	42,2	43,0
4	38,2	38,9	39,7	42,4	43,3	44,2
5	39,2	39,9	40,7	43,5	44,4	45,4
6	40,1	40,8	41,5	44,3	45,3	46,3
7	41,0	41,7	42,5	45,3	46,2	47,3
8	41,6	42,3	43,2	45,9	46,9	48,0
9	42,4	42,9	43,7	46,6	47,6	48,5
10	42,8	43,5	44,3	47,2	48,3	49,2
11	43,2	43,9	44,8	47,8	48,7	49,6
12	43,5	44,2	45,0	48,2	49,2	50,1
15	44,2	45,1	45,9	48,7	49,6	50,5
18	44,9	45,7	46,4	49,0	49,9	50,9
21	45,4	46,1	46,9	49,4	50,2	51,2
24	46,0	46,6	47,3	49,7	50,5	51,5
27	46,5	47,0	47,8	50,0	50,7	51,8
30	47,0	47,5	48,0	50,4	51,0	52,0
33	47,3	47,9	48,4	50,6	51,4	52,4
36	47,6	48,1	48,6	51,0	51,7	52,7
Годы						
3,5 лет	47,8	48,3	49,0	51,5	52,3	53,2
4,0	48,0	48,6	49,3	51,9	52,7	53,5
4,5	48,3	48,9	49,7	52,3	52,9	53,8

Продолжение приложения

1	2	3	4	5	6	7
5,0	48,5	49,1	50,0	52,5	53,2	54,0
5,5	48,8	49,4	50,2	52,7	53,5	54,2
6,0	49,0	49,6	50,3	52,8	53,7	54,5
6,5	49,2	49,8	50,6	53,0	53,9	54,6
7,0	49,4	50,0	50,7	53,3	54,1	54,8
8,0	49,7	50,3	51,0	53,6	54,4	55,2
9,0	50,0	50,6	51,3	53,9	54,6	55,4
10,0	50,3	50,8	51,5	54,1	54,8	55,6
11,0	50,4	51,0	51,7	54,3	55,0	55,8
12,0	50,5	51,2	51,9	54,6	55,2	56,1
13,0	50,6	51,4	52,0	54,8	55,5	56,4
14,0	50,7	51,5	52,1	55,0	55,7	56,6
15,0	50,8	51,6	52,2	55,2	55,9	56,7
16,0	50,9	51,7	52,3	55,3	56,0	56,9
17,0	51,0	51,8	52,4	55,4	56,1	57,1

Центильные величины окружности груди (см) девочек (0 мес. – 17 лет)

Интервал / Возраст	Центили					
	3	10	25	75	90	97
1	2	3	4	5	6	7
0 мес.	30,8	31,8	33,2	35,7	36,4	37,0
1	32,9	34,0	35,3	37,4	38,1	39,0
2	34,6	35,7	37,2	39,1	40,0	40,9
3	36,2	37,3	38,7	40,5	41,2	42,8
4	38,1	39,1	40,4	42,1	43,2	44,3
5	39,4	40,5	41,7	43,5	44,6	45,8
6	40,6	41,6	42,9	44,9	46,1	47,2
7	41,8	42,8	44,0	46,0	47,2	48,5
8	42,8	43,7	44,9	46,9	48,3	49,8
9	43,6	44,5	45,6	47,8	49,3	51,0
10	44,3	45,2	46,2	48,1	50,1	52,0
11	45,0	45,8	46,8	49,3	50,8	52,7

Окончание приложения

1	2	3	4	5	6	7
12	45,5	46,3	47,3	49,9	51,4	53,3
15	46,4	47,2	48,1	50,8	52,3	53,9
18	47,1	47,8	48,7	51,3	52,9	54,5
21	47,5	48,2	49,1	51,9	53,5	55,0
24	47,8	48,6	49,5	52,5	54,0	55,6
27	47,9	48,8	49,8	53,0	54,5	56,2
30	48,0	48,9	49,9	53,3	55,0	56,8
33	48,1	49,0	50,1	53,7	55,5	57,2
36	48,2	49,1	50,3	54,0	56,0	57,6
Годы						
3,5 лет	48,6	49,5	51,0	54,3	56,2	57,8
4,0	49,2	50,4	51,6	55,1	56,9	58,6
4,5	50,4	51,0	52,3	55,9	57,8	59,7
5,0	50,9	51,6	53,0	56,9	58,8	61,0
5,5	51,5	52,2	53,9	57,8	60,0	62,2
6,0	52,3	53,0	54,8	58,6	61,2	63,6
6,5	53,2	53,8	55,5	59,8	62,4	64,8
7,0	54,7	54,6	56,3	61,0	63,7	66,6
8,0	56,3	56,3	58,2	64,5	67,6	70,6
9,0	56,7	58,0	60,0	68,1	71,4	75,1
10,0	58,0	60,1	62,0	71,3	75,5	78,8
11,0	59,8	62,2	64,4	74,5	78,6	82,3
12,0	61,9	64,5	67,2	77,6	81,9	86,0
13,0	64,3	66,8	70,0	80,9	85,0	88,0
14,0	67,0	69,6	73,0	83,5	87,6	91,0
15,0	70,0	72,9	76,2	85,5	89,3	92,6
16,0	73,0	75,9	78,8	87,1	90,6	93,9
17,0	75,4	78,0	80,7	88,0	91,1	94,6

Авторы приносят благодарность к.б.н. Куринной О.С. – научному сотруднику лаборатории молекулярной цитогенетики нервно-психических заболеваний ОСП НИКИ педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России за неоценимую техническую помощь в подготовке учебного пособия.

Учебное издание

Юров Иван Юрьевич
Воинова Виктория Юрьевна
Ворсанова Светлана Григорьевна
Юров Юрий Борисович

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ НАСЛЕДСТВЕННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

Учебное пособие

9 785913 275172

Технический редактор Кулакова Г.А.
Подписано в печать 30.03.2018
Бумага офсетная.
Гарнитура NewtonC
Формат 60×84 1/16
Печать трафаретная. Печ. л. 6,25.
Тираж 500 экз. Заказ № 004-18.

Отпечатано в типографии ИД «Академия Естествознания»,
440026, г. Пенза, ул. Лермонтова, 3