

МУТАЦИИ И БОЛЕЗНИ ЧЕЛОВЕКА

В. Н. Горбунова

*Санкт-Петербургский государственный педиатрический
медицинский университет*

В настоящее время не вызывает сомнения участие генетических факторов в возникновении и развитии многих болезней человека, при этом вклад генетической составляющей в их этиологию и патогенез может быть различным

Все болезни человека условно можно
разделить на три группы:
собственно **наследственные**
болезни, куда входят **хромосомные**,
генные и **эпигенетические**
заболевания;
болезни с наследственной
предрасположенностью, которые
называют **многофакторными**, или
комплексными заболеваниями;
приобретенные болезни

Причиной развития наследственных болезней являются *мутации* в определенных генах или хромосомах, присутствующие в половых клетках родителей.

Эти мутации могут передаваться потомству в ряду поколений

Хромосомные болезни

вызваны нарушением числа,
либо структуры хромосом.

Генные болезни обусловлены
присутствием мутаций в генах.

Мутации в одном гене

приводят к развитию

МОНОГЕННЫХ заболеваний

Если этот ген локализован в аутосомах, то в зависимости от характера доминирования мутации болезни могут быть *аутосомно-доминантными* или *аутосомно-рецессивными*

При локализации мутантных генов в половых хромосомах болезни называются *сцепленными с полом*. Они также могут быть доминантными или рецессивными.

Полигенные болезни обусловлены присутствием мутаций в нескольких генах

Эпигенетические
заболевания связаны с
нарушением регуляции
работы генов.

Митохондриальными
называются болезни,
обусловленные мутациями в
генах митохондрий

Проявления генных мутаций зависят от многих причин, в первую очередь, от функции соответствующих генов, типов мутаций, характера доминирования, присутствия в гомо- или гетерозиготном состоянии.

На проявление мутаций могут оказывать влияние состояния других генов или каких-то внешних факторов

Суммарная частота наследственных заболеваний среди новорожденных составляет **1,5%**, из них на долю хромосомных болезней приходится **0,5%** и моногенных – до **1%**

На рубеже 80-х и 90-х годов было показано, что к моногенным заболеваниям относятся также *наследственные опухолевые синдромы*, так как они обусловлены присутствием доминантных инактивирующих мутаций в определенных генах, получивших название *генов-супрессоров опухолей*

Единственными клиническими проявлениями этих заболеваний являются новообразования, риск появления которых с возрастом достигает десятков процентов. Суммарная частота наследственных опухолевых синдромов в разных популяциях

составляет 1-2%

Таким образом, они являются самыми распространёнными моногенными заболеваниями. С учетом этого обстоятельства общая частота наследственных заболеваний достигает **2,5%**

Многофакторные заболевания развиваются вследствие комбинированного воздействия неблагоприятных внешних и генетических факторов риска, формирующих наследственную предрасположенность к заболеванию. При этом сами по себе генетические факторы риска недостаточны для развития заболевания

Более 90% всех болезней человека являются многофакторными. К ним относятся социально-значимые хронические болезни, такие как ИБС, цереброваскулярная болезнь, сахарный диабет, ожирение, бронхиальная астма, онкологические, желудочно-кишечные, эндокринные, психические, аутоиммунные и многие другие заболевания

Основополагающие законы
наследования были открыты
во второй половине XIX века
Грегором Менделем и
изложены в работе «Опыты
над растительными
гибридами»
в 1865 г

Наблюдения за результатами скрещивания различных сортов гороха, различающихся по одной паре морфологических признаков, позволили

Г. Менделю сформулировать свои знаменитые законы – *единообразие гибридов первого поколения, расщепление признаков в соотношении 3:1 во втором поколении и независимое комбинирование признаков*

Г. Мендель впервые высказал гипотезу о существовании двух дискретных

наследственных факторов,

ответственных за формирование признаков

доминантного, который он обозначил заглавной буквой А и *рецессивного* –

а

Важнейшее предположение заключалось в том, что только один из этих факторов с равной вероятностью попадает в зародышевые клетки.

В результате образуются растения трех типов: AA , Aa и aa в соотношении 1:2:1

В дальнейшем
постулированные Менделем
наследственные факторы
были названы *генами*,
совокупность генов –
генотипом, а совокупность
признаков организма –
фенотипом

Варианты наследственных факторов или альтернативные состояния генов (доминантный, рецессивный) носят названия *аллелей*.

Генотип может быть *гомозиготным* при наличии двух одинаковых аллелей (AA или aa) или *гетерозиготным*, если аллели разные (Aa)

Генотипическая изменчивость определяется существованием различных структурных вариантов генов, или аллелей. При этом нормальная изменчивость связана с присутствием у разных индивидуумов нормальных аллелей генов, а патологическая изменчивость – с наличием множества мутантных аллелей, или *мутаций*

Сочетания нормальных и мутантных аллелей различных генов определяют индивидуальную *наследственную конституцию* каждого человека. Таким образом, люди отличаются между собой не по наборам генов, а по их состояниям, то есть по наследственной конституции

При изучении процессов деления клеток было высказано предположение о том, что гены находятся в хромосомах, так как поведение хромосом соответствует поведению постулированных Менделем наследственных факторов. Прямые доказательства локализации генов в хромосомах были получены позднее Т. Морганом в опытах на дрозофиле

В результате развития хромосомной теории наследственности к началу 40-х годов появилось представление о гене, как об участке хромосомы или хромосомном *локусе*, который отвечает за один признак и одновременно является единицей *рекомбинации* и *мутации*, ведущей к изменению фенотипа

Материальной субстанцией генов являются *молекулы ДНК*, присутствующие в хромосомах всех исследованных видов. Однако не любые участки этой молекулы являются генами, а только те, в которых содержится информация о структуре белков или молекул

РНК

В широком смысле слова мутациями называются любые изменения последовательности нуклеотидов в ДНК.

Применительно к наследственным заболеваниям мутациями называются такие нарушения в структуре ДНК, которые приводят к развитию соответствующих патологических признаков

Популяции могут существенно различаться по распространенности различных мутаций, однако их частоты в большинстве случаев составляют значительно менее **1%**. Те аллели, которые встречаются в популяциях с частотами, превышающими определенный предел, например **5%**, называются ***полиморфными***

Полиморфные аллели могут быть вариантами нормы. Однако часто они способны оказывать отрицательное влияние на функции генов. В этом случае их называют

*функциональными
полиморфизмами*

Мутации постоянно возникают в любых типах клеток, в среднем, с частотой $10^{-8} - 10^{-9}$ на один ген за одно поколение. Они могут возникать под действием как экзогенных, так и эндогенных факторов

Мутации, возникающие в период созревания половых клеток родителей – *мутации de novo* – приводят к *гонадному мозаицизму*, и в зависимости от стадии гаметогенеза могут присутствовать в одной гамете или в определенном проценте зрелых половых клеток

Мутации, возникающие в
соматических клетках в
период эмбриогенеза,
приводят к *соматическому*
мозаицизму,

Такие мутации присутствуют
не во всех, а только в части
клеток определенных органов
или ткани взрослого
организма

Соматические мутации в специфических генах, участвующих в контроле клеточного деления, пролиферации и дифференцировки являются причиной развития *онкологических заболеваний*, причем накопление подобных мутаций происходит в тех соматических клетках и тканях, которые затем вовлекаются в процесс неоплазии

Мутации могут быть
хромосомными или *генными*

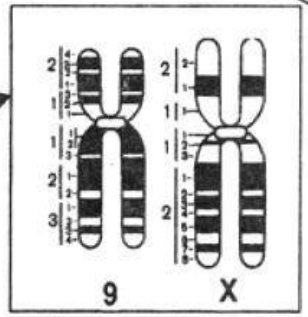
Хромосомные

Мутации

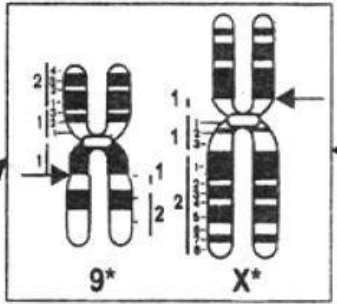
Генные

Хромосомы

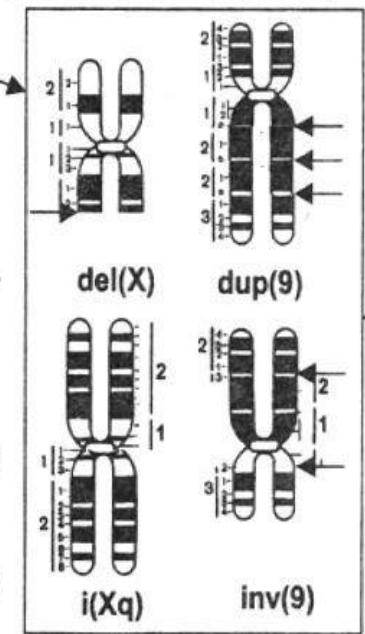
Нормальные



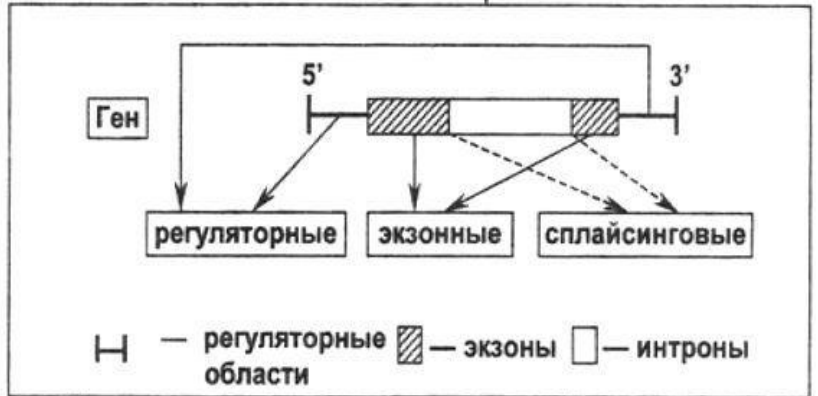
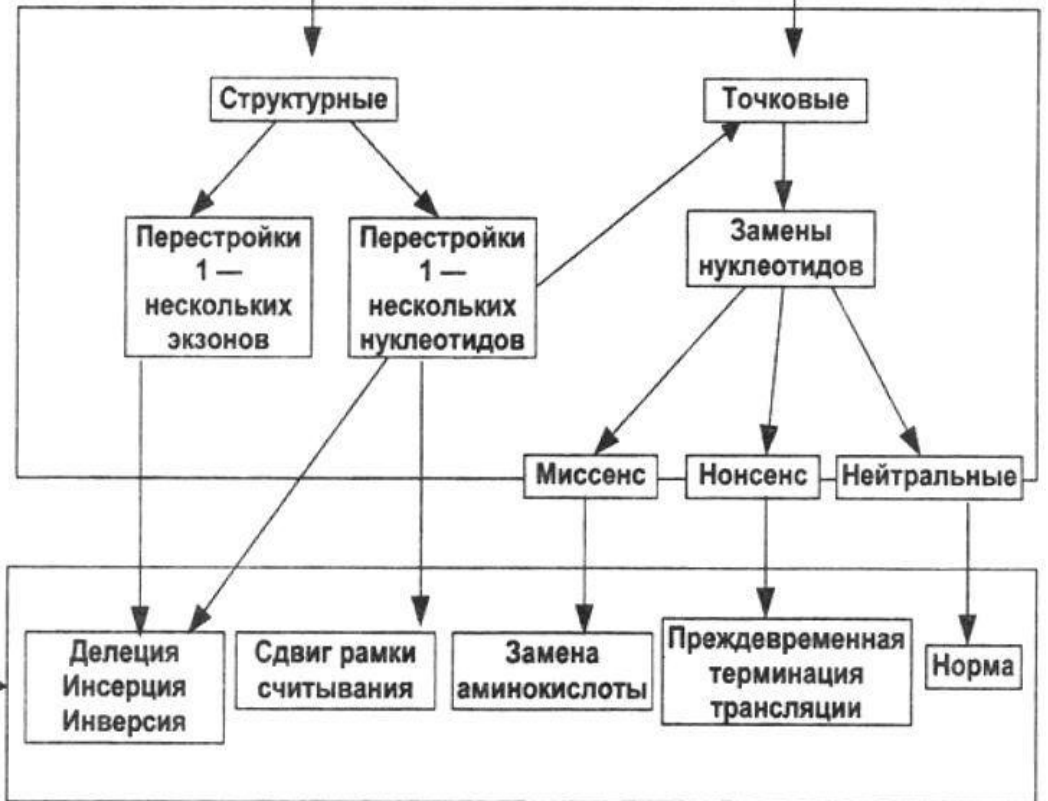
Мутантные



*- транслокация (взаимный обмен между 9 и X),
 del(X) – делеция в X-хромосоме, dup-
 дупликация в 9-
 хромосоме, inv-
 инверсия в X-
 хромосоме,
 i-изохромосома X
 по длинному
 плечу,
 →-точки разрывов
 в хромосомах



Белок



Структурные

Точковые

Перестройки 1—несколько экзонов

Перестройки 1—несколько нуклеотидов

Замены нуклеотидов

Миссенс

Нонсенс

Нейтральные

Делеция
Инсерция
Инверсия

Сдвиг рамки считывания

Замена аминокислоты

Преждевременная терминация трансляции

Норма

Причиной развития
хромосомных болезней
являются числовые или
структурные нарушения
хромосом.

Они могут возникать под
действием как экзогенных, так
и эндогенных факторов

К экзогенным факторам относятся химические *мутагены*, физические воздействия, такие как облучение или температурный шок, вирусные инфекции

Нарушения числа хромосом
возникают вследствие их
неправильного расхождения.
Среди эндогенных факторов
важную роль в нерасхождении
хромосом играют процессы
внутри- и внефолликулярного
перезревания гамет

Многолетнее пребывание ооцитов в фолликулах на фоне постоянно меняющегося гормонального фона, а также длительная миграция овулировавшей яйцеклетки к месту оплодотворения приводят к дегенеративным изменениям микротрубочек веретена деления и, как следствие, к нарушению сегрегации мейотических хромосом

Этим, в частности,
объясняется повышение с
возрастом беременной
женщины частоты
хромосомных аномалий у
плода

К числовым изменениям хромосом относятся *полиплоидии* и *гетероплоидии*.

Полиплоидия – это изменение числа хромосом, кратное гаплоидному набору (триплоидия, тетраплоидия и т. п.).

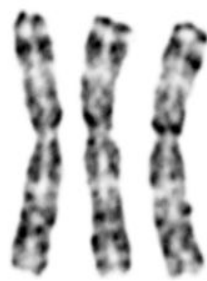
Полиплоидия у человека, обычно, не совместима с жизнью и приводит к внутриутробной гибели



1



2



3



4



5



6



7



8



9



10



11



12



13



14



15



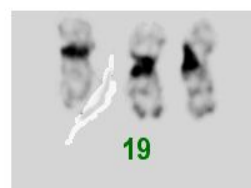
16



17



18



19



20



21



22



X



Y

Гетероплоидия, или *анеуплоидия*
– это изменение числа отдельных
хромосом. Наиболее частыми
аномалиями числа хромосом
являются *моносомии* и *трисомии*
– отсутствие одной или
существование трех
гомологичных хромосом вместо
обычных двух соответственно.

Иногда количество
добавочных хромосом может
быть больше одной, тогда эти
аномалии называются

ПОЛИСОМИЯМИ

Изменения структуры
хромосом называют
хромосомными
перестройками или
абerrациями. Они связаны с
возникновением одной или
нескольких точек разрывов
хромосом, которые приводят к
потере или перегруппировке
генетического материала

Потери участка хромосом называют *делециями* (del), вставки – *инсерциями* (ins), удвоения – *дупликациями* (dup), поворот участка хромосомы на 180° – *инверсиями* (inv), перенос фрагмента одной хромосомы на другую – *транспозициями*, а обмен фрагментами негомологичных хромосом – *транслокациями*

Транслокации, при которых не происходит утраты генетического материала, называются реципрокными, или *сбалансированными*

Основная масса зародышей с дисбалансом хромосом погибает в ранний период развития плода. Более чем в 50% случаев причиной самопроизвольных выкидышей являются нарушения кариотипа

Значительная часть плодов с аномалиями хромосом, совместимыми с завершением эмбриогенеза, погибают в перинатальном периоде, в том числе все дети с полиплоидией и несбалансированными транслокациями

В настоящее время описано
около *1000* нозологических
форм хромосомных болезней.
Все они характеризуются
рядом общих признаков,
прежде всего,
множественностью
поражения, что обусловлено
большим дисбалансом генов

Часто наблюдаются задержка
внутриутробного и
психомоторного развития,
повышенный порог условной
стигматизации, множественные
врожденные пороки развития,
нарушения половой
дифференцировки и
репродуктивной функции,
изменения дерматоглифики и др.

Хромосомные болезни редко наследуются, и более чем в **95%** случаев риск повторного рождения в семье больного ребенка с хромосомной патологией не превышает общепопуляционного уровня.

Исключение составляют те случаи, когда родители больного ребенка несут ***сбалансированные транслокации***

Носители сбалансированных транслокаций практически здоровы, но в их гаметогенезе нарушаются процессы расхождения хромосом. Поэтому у них повышена вероятность выкидышей, замерших беременностей или рождения детей с несбалансированными хромосомными перестройками

Поэтому при бесплодии,
мертворождениях, привычной
невынашиваемости
беременности, а также при
наличии в семье ребенка с
хромосомной патологией
необходимо проводить анализ
кариотипа каждого из родителей с
целью диагностики
сбалансированных хромосомных
транслокаций

Довольно часто числовые аномалии затрагивают половые хромосомы.

Так присутствие дополнительной X-хромосомы у мужчин приводит к синдрому *Клайнфельтера*, а отсутствие одной из X-хромосом у женщин –

к синдрому *Шерешевского-Тернера*.

Оба заболевания характеризуются серьезными нарушениями репродуктивной функции и бесплодием

Характерными симптомами синдрома Клайнфельтера являются бесплодие, атрофия яичек, олигоспермия (маленький объем эякулята) и азооспермия (отсутствие сперматозоидов в сперме), гинекомастия и нередко умственная отсталость



Частота синдрома среди новорожденных мальчиков составляет **1:850**, в популяции равна **1:18000** здоровых мужчин, среди мальчиков, у которых наблюдается отставание психического развития, – **1:100**; такая же частота наблюдается среди мужчин, страдающих бесплодием

Самым распространенным вариантом кариотипа при синдроме Клайнфельтера является **47, XXU**, но встречаются больные, у которых число X-хромосом доходит до 4-х и более



1



2



3



4



5



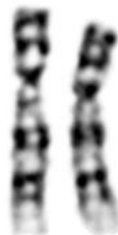
6



7



8



9



10



11



12



13



14



15



16



17



18



19



20



21



22



X



Y

Синдром Шерешевского-Тернера или *моносомия по X-хромосоме* (45,X0)
наблюдается только у женщин.

Частота заболевания равна
1:2000 – 1:5000

новорожденных, а при росте
взрослых женщин 120 – 140 см
эта частота возрастает до *1:14*



1



2



3



4



5



6



7



8



9



10



11



12



13



14



15



16



17



18



19



20



21



22

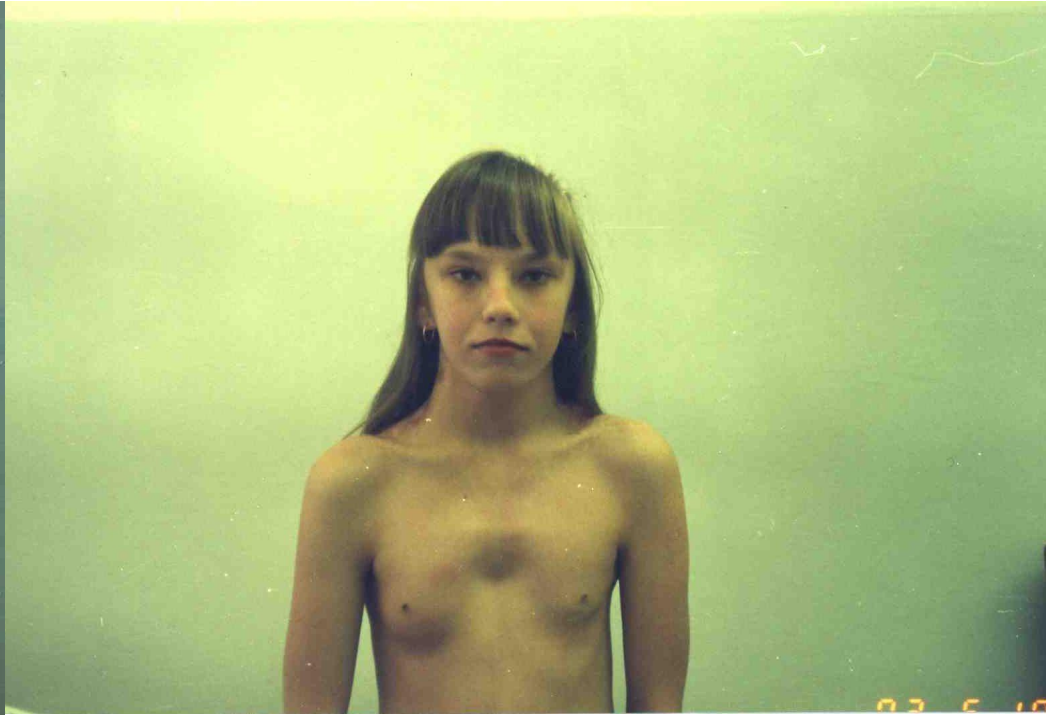


X



Y

Наличие моносомии-Х можно предположить у новорожденных девочек с массой тела не более 2500 г., с крыловидными складками кожи на шее сзади и лимфатическим отеком кистей и стоп. Ведущим симптомом заболевания является половой инфантилизм, связанный с дисгенезией гонад, что в полной мере раскрывается в пубертатном периоде



Герминальные и фолликулярные клетки дегенерируют и почти не вырабатывают эстрогены. Следствием этого является первичная аменорея, недоразвитость молочных желез, скудное оволосение на лобке и в подмышечных впадинах

У больных наблюдается
гормонозависимое снижение
роста. В возрасте от 16 до 23 лет
рост больных равен в среднем 135
см

(у здоровых сверстниц 158 см).

Маленький рост девушки в
сочетании с первичной аменореей
является обязательным
показанием для ее
кариотипирования

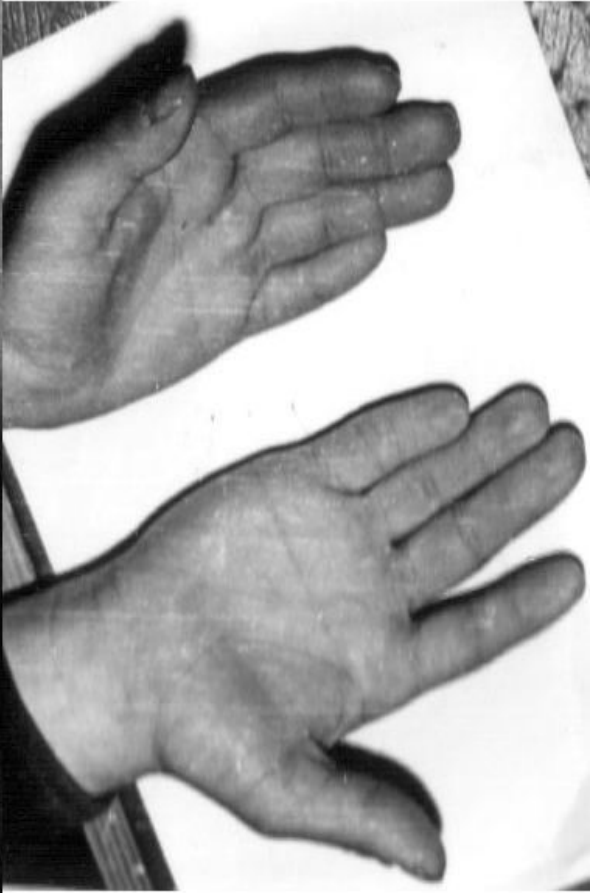
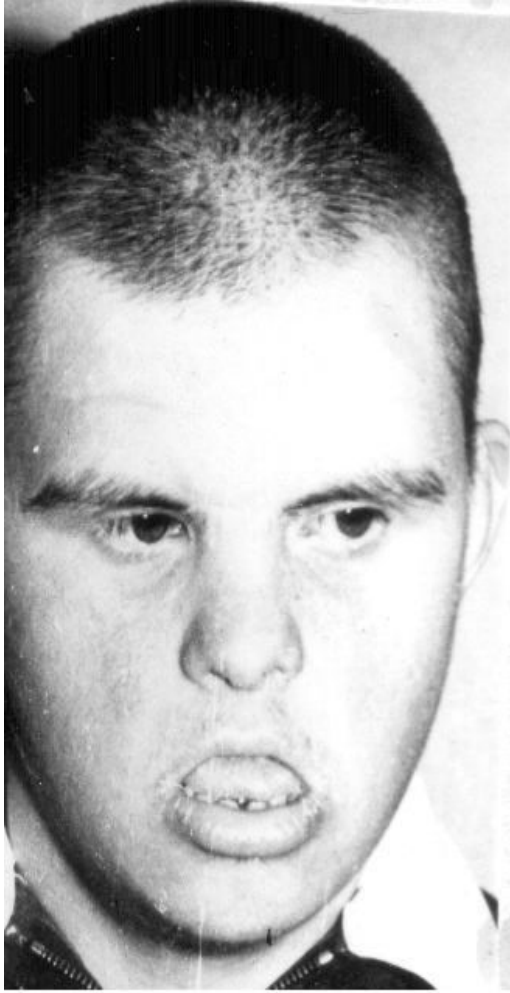
Описаны мозаичные варианты болезни Шерешевского-Тернера, при которых наблюдается нормальное развитие вторичных половых признаков, включая гениталии. Более того, в отдельных случаях такие женщины могут иметь детей. Конечно, таким беременным нужно проводить пренатальное кариотипирование для исключения хромосомной аномалии у плода

Моносомии аутосом среди живых детей не найдены, а трисомии описаны лишь для шести хромосом, по остальным хромосомам они летальны. Из них наиболее значимыми является *синдромы Дауна, Эдвардса* и *Патау* – трисомии по хромосомам **21, 18 и 13** соответственно

В двух последних случаях
больные уже при рождении
имеют множественные ВПР, и
их продолжительность жизни,
обычно, не превышает года,
тогда как больные синдромом
Дауна могут достигать зрелого
и даже пожилого возраста

частота синдрома Дауна, в среднем, равна **1:700** среди новорожденных, а в общей популяции – **1:4000**. Среди больных олигофренией встречаемость синдрома Дауна составляет около **10%**. Риск рождения детей с синдромом Дауна повышается с возрастом матери, и у **40-летних** матерей частота рождения Дауна достигает

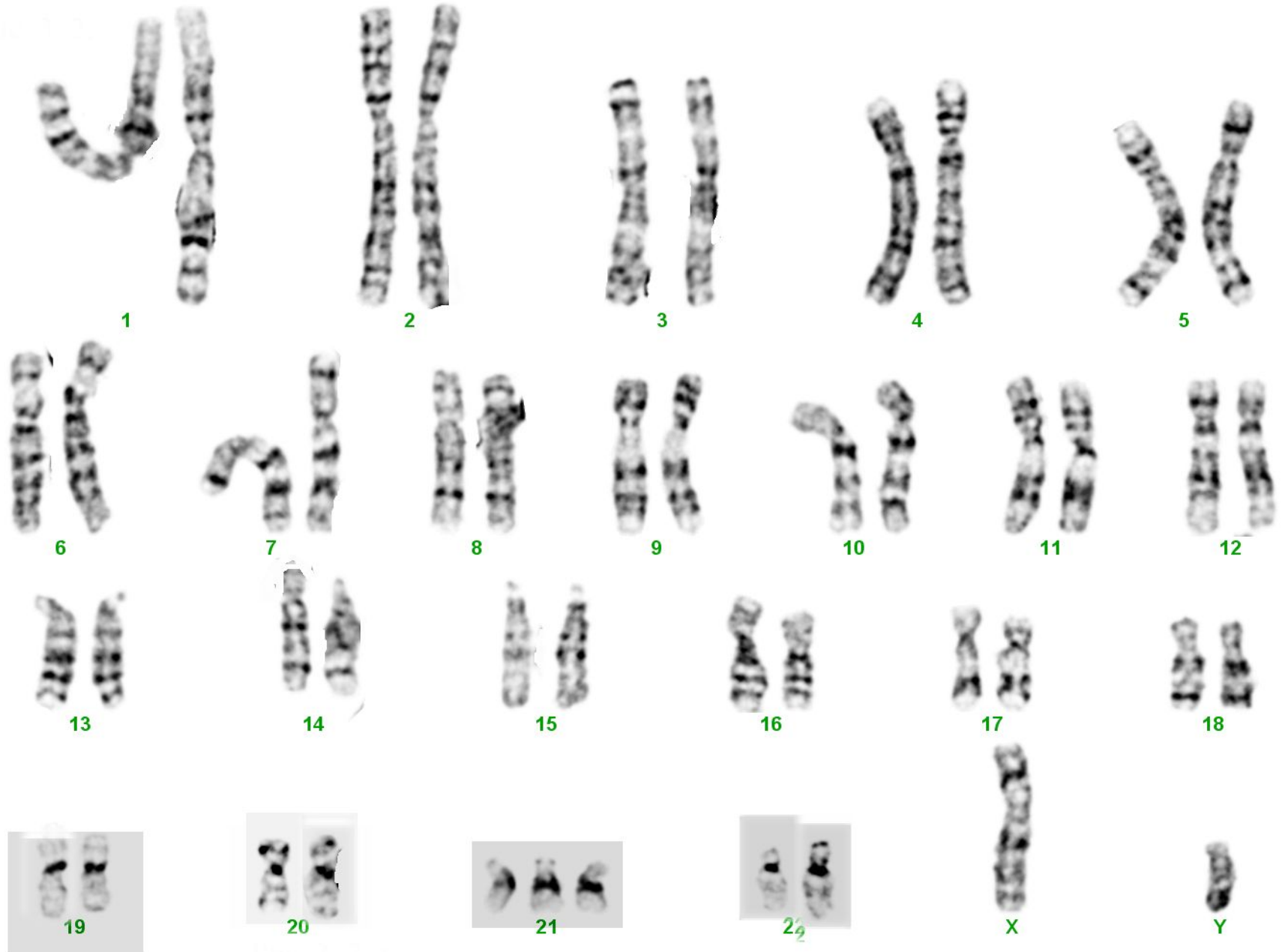
Больные синдромом Дауна отличаются своеобразными лицевыми аномалиями: косой, монголоидный разрез глаз, при котором наружный угол глаза выше внутреннего, нередко эпикант, короткий нос с широкой переносицей, маленькие деформированные уши, часто полуоткрытый рот с высунутым языком и выступающей нижней челюстью



В 96% случаев кариотип у мальчика с синдромом Дауна составляет 47, ХУ (+21), и у девочки – 47, ХХ (+21).

В 3-4% наблюдений регистрируется транслокационный вариант синдрома Дауна. При этом у одного из родителей имеется транслокация между сегментами 21 хромосомы и другими хромосомами

Figure 2





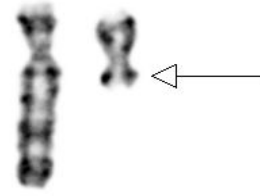
1



2



3



4



5



6



7



8



9



10



11



12



13



14



15



16



17



18



19



20



21



22



X



Y

Третий вариант синдрома Дауна – мозаичный, когда добавочная 21 хромосома присутствует лишь в части клеток больного. Частота этого варианта – 1-2% .

«Мозаики» имеют более стертые проявления синдрома, часто их интеллект сохранен, но внешние проявления заболевания остаются

Разнообразие болезней, обусловленных структурными нарушениями хромосом, очень велико. Их клинические проявления зависят от специфики и размера участвующего в перестройке хромосомного сегмента.

В настоящее время описано более 100 нозологически оформленных частичных анеуплоидий

К генным мутациям относятся
любые изменения
последовательности нуклеотидов
в пределах гена, включая
структурные перестройки,
затрагивающие от одного до
нескольких нуклеотидов или
экзонов – *структурные* мутации,
а также замены нуклеотидов,
которые называются *точковыми*
мутациями

Наиболее тяжелыми по последствиям являются структурные внутригенные мутации со сдвигом рамки считывания – это делеции и инсерции, не кратные трем нуклеотидам, то есть величине кодона

При сдвиге рамки считывания,
начиная с определенного
места, нарушается
последовательность
аминокислот в кодируемой
полипептидной цепи.

При этом велика вероятность
случайного формирования
стоп-кодона с
преждевременным

прекращением трансляции

Делеции, кратные величине кодона, не приводят к сдвигу рамки считывания, и реализуются в виде локальных нарушений структуры белка. Поэтому последствия таких мутаций оказываются менее тяжелыми

Замены нуклеотидов могут
быть *нейтральными* – без
изменения аминокислотной
последовательности
соответствующего белка,
нонсенс-типа – с
образованием
преждевременного стоп-
кодона и *миссенс-типа* - с
заменой аминокислоты в
белке

Нейтральные замены с высокими частотами встречаются в разных популяциях.

Нонсенс-мутации, как правило, обнаруживаются при тяжелых вариантах моногенных заболеваний, так как их последствия сопоставимы с теми, которые происходят при мутациях со сдвигом рамки считывания.

Проявления *миссенс-мутаций* зависят от функциональной значимости того участка белка, в котором произошла аминокислотная замена

Отдельную категорию составляют вариации нуклеотидной последовательности, наблюдаемые в регуляторных участках генома. Эти мутации могут сопровождаться количественным нарушением белка с сохранением его нормальной структуры.

Поэтому *регуляторные мутации* часто относятся к *полиморфным аллелям*

Некоторые мутации расположены в сайтах сплайсинга или приводят к возникновению новых сайтов сплайсинга в интронах – *сплайсинговые мутации*.

Их последствиями могут быть ошибочное вырезание экзона или сохранение в составе мРНК интрона

В первом случае в белке будет отсутствовать аминокислотная последовательность, кодируемая ошибочно вырезанным экзоном. Во втором случае при трансляции невырезанного интрона обязательно встретится стоп-кодон, и синтез белка преждевременно остановится

К особому типу генетических дефектов относятся *динамические мутации* – увеличение (или экспансия) выше допустимого предела числа повторов (чаще всего 3-нуклеотидных), расположенных в функционально значимых областях генов. Наследственные заболевания, обусловленные динамическими мутациями, называются *болезнями экспансии*

Разработаны стандартные правила обозначения мутаций. При нуклеотидных заменах в центре записывается номер позиции гена, слева — нормальный, а справа — мутантный варианты оснований. Например, мутация *F2 G20210A* означает замену аденина на гуанин в 20210 позиции гена фактора II свертывания крови

Миссенс-мутации могут обозначаться и на белковом уровне. Каждой аминокислоте соответствует одно- или трехбуквенный символ. В этом случае номер в центре записи мутации соответствует месту замены в полипептидной цепи, слева от номера записывается нормальный, а справа мутантный варианты аминокислоты

Буквой **X** обозначается остановка синтеза при нонсенс-мутациях. Делеции и инсерции обозначают символами **del** (или Δ) и **ins** соответственно с указанием нуклеотидов, если их не более двух, или в противном случае – их числа. Сплайсинговые мутации обозначаются символом **IVS**

В последние десятилетия произошел огромный прогресс в изучении *эпигенетической изменчивости*, под которой понимают разнообразные наследуемые, хотя, возможно, и обратимые изменения экспрессии генов, не связанные с нарушением структуры генетического материала. Любое наследуемое нарушение в характере эпигенетических модификаций называется

эпимутацией

Далеко не все, а только около **5%**
генов человека связаны с
моногенными заболеваниями.

Во-первых, функции некоторых генов настолько важны, что их нарушения в результате возникновения каких-то мутаций несовместимы с жизнью.

Чаще всего, такие мутации приводят к ранней эмбриональной летальности

С другой стороны,
последствия мутаций в
некоторых генах могут быть
компенсированы за счет
продуктов других генов.
Существует немало примеров
дублирования определенных
функций организма как на
генном, так и на белковом
уровнях

Для подавляющего большинства генов человека характерен множественный аллелизм, причем количество различных аллелей одного и того же гена иногда может исчисляться сотнями.

Напомним, что в диплоидном организме всегда присутствует не более двух аллелей одного гена. При этом фенотипическое проявление этих аллелей определяется их взаимодействием

В зависимости от характера нарушения функций кодируемого геном белка мутации делят на следующие типы: (1) мутации, сопровождающиеся полной или частичной потерей функции белка (*loss-of-function*);

(2) мутации, эффект которых обусловлен снижением содержания нормального белка, то есть *гаплонедостаточностью*;

(3) мутации, приводящие к появлению у мутантного белка новой патологической функции (*gain-of-function*), которая может проявиться на фоне нормального продукта гена

Очевидно, что патологический эффект мутаций первого типа будет проявляться только при наличии инактивирующих мутаций в каждом из двух гомологичных копий гена, то есть это *рецессивные* мутации.

Гаплонедостаточность может быть результатом как рецессивных, так и доминантных мутаций

Для фенотипического проявления мутаций с доминантно-негативным эффектом, относящихся к третьему типу, достаточно их присутствия в гетерозиготном состоянии.

Такие мутации являются *доминантными*

Часто мутации в одном и том же гене у каждого из родителей оказываются разными, и тогда у их потомков может наблюдаться *гетероаллельная*, или *компаунд-гетерозиготная* комбинация мутаций.

Те мутации, которые имеют широкое распространение в одной или нескольких популяциях называются *мажорными*

Взаимоотношения между мутациями и их фенотипическими проявлениями, то есть признаками, достаточно сложные.

Широко распространено в живой природе явление, которое получило название

генетическая гетерогенность –

сходный характер течения заболеваний, обусловленных мутациями

в *разных зонах*

С другой стороны, для многих наследственных заболеваний характерен

клинический полиморфизм –

различный характер течения заболеваний, обусловленных

разными мутациями в одном и том же гене,

то есть составляющих единую

аллельную серию

Клинический полиморфизм может проявляться не только разной степенью тяжести заболевания и вариабельностью сроков его манифестации, но и вовлеченностью в патологический процесс различных систем, органов и тканей больного.

С клинической точки зрения заболевания, входящие в единую *аллельную серию*, могут рассматриваться как нозологически самостоятельные

Существование аллельных
серий чаще всего объясняется
многофункциональностью
белка, лежащего в основе
первичного биохимического
нарушения

Генетическая гетерогенность определяется взаимодействиями продуктов разных генов (участием в единой метаболической цепи, образованием надмолекулярных белковых комплексов и др.)

Существование аллельных серий чаще всего объясняется многофункциональностью белка, лежащего в основе первичного биохимического нарушения

Фенотипическое выражение специфической мутации может меняться в зависимости от внешних условий, или *средового фона*.

На проявление мутации могут также оказывать влияние состояния каких-то других генов, модифицирующих развитие признаков, так называемых *генов-модификаторов*. В этом случае говорят о роли *генетического фона* в формировании признака

И средовой, и генетический фон могут влиять как на проявление мутации, то есть ее *пенетрантность*, так и на степень выраженности признака, то есть его *экспрессивность*

Для многих наследственных
заболеваний характерна

плейотропия, то есть одновременное
вовлечение в патологический процесс
нескольких систем, органов и тканей
больного.

В медицине результат плейотропного
действия генов часто называют
синдромом, или совокупностью
симптомов, вызванных одной
причиной

Еще более сложными
становятся взаимоотношения
между генотипом и фенотипом
в случаях полигенного
наследования.

Определяющую роль при этом
играет характер
взаимодействия между
разными генами

Наиболее известным типом межгенного взаимодействия является *полимерия*, при которой несколько генов аддитивно участвуют в формировании признака.

Роль полимерии особенно важна при формировании количественных признаков, таких как рост, вес, продолжительность жизни, скорость биохимической реакции и т. д.

В этом случае даже при
участии в формировании
признака всего трех
диаллельных генов с полным
доминированием, как,
например, в случае окраски
цвета кожи у человека,
распределение в популяции
фенотипических классов
будет приближаться к

НОРМАЛЬНОМУ

Причиной развития моногенных заболеваний является присутствие унаследованных от родителей мутаций в одном из генов человека. Влияние мутации на развитие заболевания зависит от многих факторов и, в первую очередь, от характера повреждения белка и его функциональной значимости

Разнообразиие моногенных заболеваний достаточно велико и их количество по некоторым оценкам достигает 5000.

Моногенные заболевания относятся к относительно редкой патологии

В медико-генетической практике принято выделять следующие группы моногенных заболеваний: широко распространенные заболевания, встречающиеся не реже 1:40000 населения, заболевания со средним уровнем распространенности – с частотами от 1:40000 до 1:100000, редкие, распространенность которых составляет менее 1:100000, и очень редкие с частотами менее 1:500000

Поскольку количество
моногенных заболеваний
достаточно велико, суммарно
они играют значительную роль
в перинатальной и детской
смертности, и большой
процент педиатрических коек
занято такими больными

При некоторых моногенных
заболеваниях выявляются
редкие *специфические*
симптомы или даже сочетания
этих симптомов.

Иногда их проявления не
имеют клинического значения,
но являются ключевыми при
постановке диагноза

Так, в случае лице-пальце-генитального синдрома Аарскога основным поводом для обращения к врачу является задержка роста, нередко сочетающаяся с крипторхизмом. А диагностически значимым и даже специфическим признаком синдрома является необычная форма мошонки: кожная складка в виде валика, окружающая основание полового члена ребенка (шелевидная мошонка)



Облигатные симптомы встречаются практически у всех больных с определенным наследственным синдромом; примеры — макроцефалия при синдроме церебрального гигантизма Сотоса , широкие дистальные фаланги первых пальцев кистей при синдроме Рубинштейна-Тейби , гипотония мышц при синдроме Цельвегера и т. д.



Возможные симптомы — наиболее часто встречающаяся группа признаков в структуре синдромального поражения; например, крыловидные складки на шее встречаются приблизительно в 80% случаев при синдроме Нунан, эктопия хрусталика при синдроме Марфана (около 75%), гипоплазия скуловых костей при нижнечелюстно-лицевом дизостозе (около 60%), сенсоневральная тугоухость при синдроме Ваарденбурга (около 20%) и т. д.



В *каталоге генов и наследственных болезней человека*, который на протяжении нескольких десятилетий составлялся под руководством выдающегося медицинского генетика *Виктора А. МакКьюзика*, содержатся сведения о всех картированных генах человека, мутантных аллелях и связанных с ними наследственных заболеваниях, типе наследования, функциях и структурных характеристиках генов и кодируемых ими белков

В этом каталоге представлено описание более 16000 генов, ответственных за моногенные признаки, примерно для 11000 из них установлен тип наследования.

Количество аутосомных заболеваний превышает 4500, причем число доминантных и рецессивных заболеваний примерно одинаково, хотя доминантных несколько больше

Более 300 болезней
наследуется по X-
сцепленному типу, около 10 –
по Y-сцепленному типу и
немногим более 20
заболеваний обусловлены
мутациями в
МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ генах

В заключение еще раз поговорим
о *структурном полиморфизме*
генома и его роли в этиологии
наследственных заболеваний.

Геном – это полная генетическая
система клетки, необходимая для
ее функционирования и
наследственной передачи в ряду
поколений всех её свойств

В пределах одного вида основные характеристики генома относительно постоянны. В процессе эволюции и видообразования в структуре генома постоянно накапливаются изменения: меняется количество ДНК, характер регуляции работы генов, соотношение кодирующих и не кодирующих последовательностей нуклеотидов

С генами ассоциирована относительно небольшая часть генома человека, а их кодирующие области, то есть суммарно экзоны всех генов, составляющие **ЭКЗОМ**, занимают около **1%** от общей длины ДНК

Более половины генома человека
занято различными классами

повторяющихся

последовательностей, которые, как
правило, не входят в состав генов.

Их появление ассоциировано с
многократной инсерцией в геномы

эукариот *мобильных элементов*,
способных менять свою локализацию
и существовать автономно в составе
небольших кольцевых молекул ДНК

Наряду с повторами, в геноме человека представлено довольно много уникальных последовательностей, не связанных с кодирующими функциями

Последовательности ДНК
различных участков хромосом
очень сходны у разных людей.

Однако, наряду с этим,
существуют области генома,
обладающие высоким
уровнем структурного
полиморфизма

Одним из видов которого являются инсерции или делеции от 2 до 100 нуклеотидов («*инделы*»). Их число измеряется сотнями тысяч. Примерно половина из них называются простыми, так как они имеют только два аллеля – отсутствие или присутствие полиморфного сегмента ДНК

Мультиаллельные «инделлы»
разделяются на микро- и мини
сателлитные полиморфизмы.

Они обладают большой
вариабельностью, причем
изменчивость в этих областях
генома обусловлена не
структурными заменами, а
варьирующим количеством
повторяющихся элементов

Относительно недавно в геноме человека был открыт новый вид структурного полиморфизма – *полиморфизм числа копий* (CNV), представляющий собой изменения в числе повторов больших сегментов ДНК, размер которых может варьировать от 200 до 2 миллионов нуклеотидов

Этот вид полиморфизма также может быть простым или мультиаллельным из-за присутствия 0, 1, 2, 3 или большего числа тандемных копий ДНК

Однако наиболее
изменчивыми точками генома
человека считаются
однонуклеотидные
полиморфные замены – *SNPs*
(Single Nucleotide Polymorphisms),
которые встречаются через
каждые
250-400 нуклеотидов

Наряду с вариабельными
мини- и микросателлитными
повторами, они обеспечивают
индивидуальную
изменчивость, называемую
генетическим
полиморфизмом. В настоящее
время идентифицировано
более 10 млн. SNPs

В 2003 году успешно завершен международный проект «Геном человека», целью которого было определение полной нуклеотидной последовательности ДНК человека. Эти успехи нашли реальное воплощение в клинической практике

В настоящее время разработаны генетические тесты для более, чем 2500 заболеваний. Большинство этих тестов проводятся с целью молекулярной диагностики редких моногенных заболеваний и выявления гетерозиготных носителей мутаций

Неуклонно возрастает
удельный вес

*предиктивного
тестирования,*

направленного на раннее, так
называемое "доклиническое"

выявление повышенной
предрасположенности к

наиболее частым

многофакторным болезням

Таким образом, создан
фундамент для развития
новой молекулярной
медицины, основанной на
понимании первичных
биохимических нарушений,
лежащих в основе развития
различных патологических
процессов

Наряду с профилактическим направлением, основной целью молекулярной медицины является разработка патогенетических методов лечения не только наследственных, но и многих многофакторных болезней человека

Подходы к изучению наследственной патологии достаточно разнообразны.

В клинической практике наиболее востребованы методы, пригодные для медико-генетического консультирования конкретного пациента или семьи.

В основе любого генетического обследования семьи лежит *клинико-генеалогический метод*, то есть составление и анализ родословных

На следующем этапе
используются лабораторные
методы, дающие диагностическую
информацию.

В зависимости от специфики
заболевания может
потребоваться проведение
цитогенетических, биохимических
или молекулярно-генетических
исследований

Клинико-генеалогический метод включает в себя составление родословной семьи, клиническое обследование ее членов и проведение генеалогического анализа.

Целью подобного анализа является определение характера наследственной передачи в ряду поколений какого-либо конкретного признака или заболевания

Генеалогический анализ
является самым
распространенным, наиболее
простым и одновременно
высокоинформативным
методом, доступным каждому,
кто интересуется своей
родословной и историей своей
семьи

Цитогенетический метод
применяется для анализа
кариотипа у индивидуумов с
подозрением на хромосомную
патологию.

В клинической практике чаще
всего проводят исследование

метафазных хромосом

Для изучения числовых и структурных аномалий, затрагивающих относительно небольшие участки хромосом, более эффективными являются методы *молекулярной цитогенетики*, которые могут проводиться на всех стадиях клеточного цикла

Внедрение молекулярных технологий в сочетании с использованием *флуоресцентных красителей* резко увеличило разрешающую способность цитогенетического анализа. Основными методами молекулярной цитогенетики является *флуоресцентная гибридизация in situ* (FISH) и *сравнительная геномная гибридизация* (Comparative Genomic Hybridization, CGH)

Метод FISH основан на способности хромосомной ДНК после денатурации образовывать устойчивые гибриды со специфическими ДНК-зондами непосредственно на препаратах хромосом и интерфазных ядер.

Таким образом, может быть определено положение любой последовательности ДНК на хромосомах

Для полногеномного скрининга
хромосомных аномалий
разработан метод
сравнительной геномной
гибридизации на микрочипах
(arrayCGH), содержащих локус-
специфические ДНК-пробы

Наряду с полногеномными CGH-чипами, сконструированы наборы ДНК-мишеней из районов, наиболее часто вовлекаемых в хромосомные перестройки. Эти чипы чаще всего используются в клинической практике для диагностики хромосомных аномалий у детей с врожденными дефектами развития и умственной отсталостью неясного генеза

Биохимические методы направлены на анализ различных классов органических и неорганических соединений, дефекты метаболизма которых наблюдаются при различных наследственных заболеваниях, в первую очередь, наследственных болезней обмена. Биохимические нарушения, как правило, предшествуют появлению клинических симптомов заболевания

Предметом биохимической диагностики могут быть белки, аминокислоты, углеводы, липиды, ионы металлов и др. При этом исследовать можно разные ткани и секреты организма (кровь, моча, слюна, пот, ликвор, амниотическая жидкость, биоптаты мышц, кожи, печени и т. п.)

Очень важна роль
биохимических методов
анализа при проведении
массового скрининга
беременных или
новорожденных с целью
раннего выявления
наследственных заболеваний

Молекулярно-генетические методы основаны на анализе нуклеиновых кислот, в первую очередь, ДНК с целью диагностики мутаций и подтверждения диагноза наследственного заболевания. Преимуществом ДНК-диагностики является использование одних и тех же методов анализа вне зависимости от конкретного заболевания.

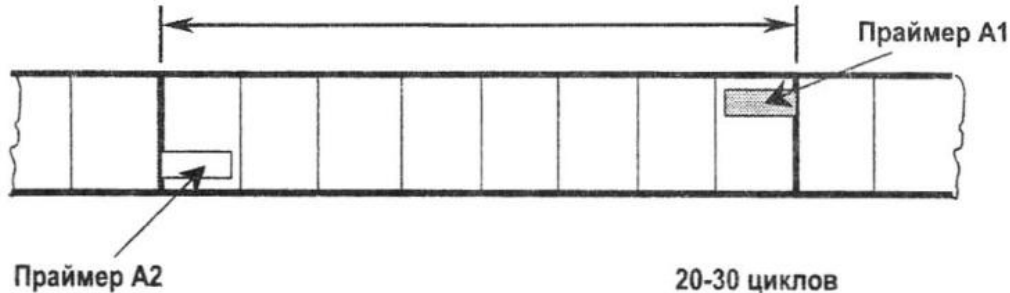
Главными из них являются
выделение ДНК,
полимеразная цепная реакция
(ПЦР) и определение
нуклеотидной
последовательности
исследуемого фрагмента

Внедрению молекулярно-генетических методов в клиническую практику способствовала разработка *полимеразной цепной реакции* (ПЦР) или специфической амплификации ДНК. Метод был предложен в 1983 году, и его автор Керри Мюллис за свое изобретение был удостоен Нобелевской премии

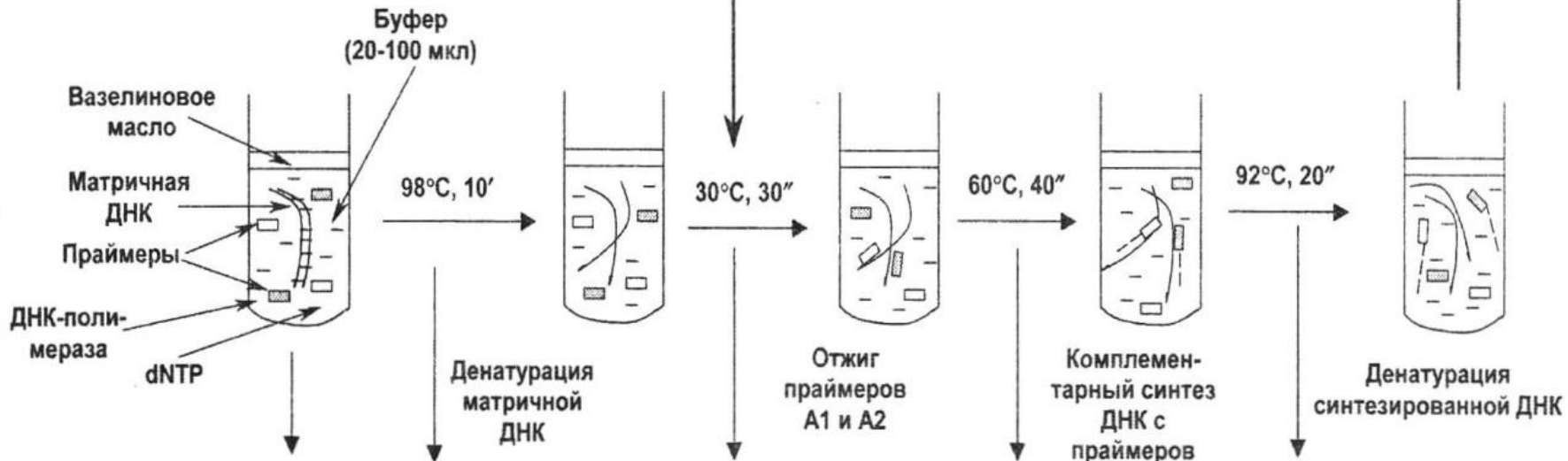
Суть ПЦР заключается в избирательном *in vitro*-копировании небольшого фрагмента гена, в котором предположительно локализована мутация; матрицей служит геномная ДНК обследуемого

Накопление огромного количества продукта реакции позволяет в дальнейшем использовать простые методы визуализации исследуемого участка ДНК – например, электрофорез в полиариламидном или агарозном геле с последующим окрашиванием бромистым этидием

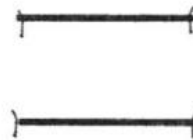
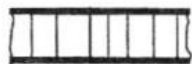
Аmplифицируемый участок ДНК:



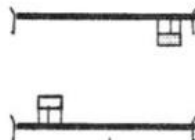
Циклы ПЦР:



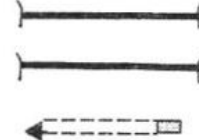
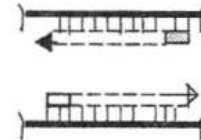
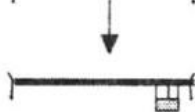
Матричная ДНК:



1 цикл:



2 цикл:



При посадке праймеров на вновь синтезированные молекулы размер амплифицированного фрагмента в точности соответствует расстоянию между праймерами.

ПЦР широко используется не только в диагностике наследственных и инфекционных заболеваний, но и в молекулярной онкологии, фармакогенетике.

Использование ПЦР в судебной медицине основано на детекции высоковариабельных областей генома, что позволяет проводить идентификацию личности (геномная дактилоскопия)

Существует множество модификаций ПЦР, каждая из которых имеет оптимальную область применения. В частности, существует возможность одновременной амплификации нескольких фрагментов ДНК в одной пробирке –

мультиплексная ПЦР. Широкое практическое применение нашла

ПЦР в реальном времени

(Real-time PCR)

данного подхода является возможность детекции накопления продуктов амплификации непосредственно во время проведения реакции. Для этого используют флуоресцентно-меченные ДНК-зонды или флуоресцентные красители, обеспечивающие рост уровня флуоресценции, прямо пропорциональный количеству

Секвенирование ДНК, то есть определение ее нуклеотидной последовательности является «золотым стандартом» ДНК-анализа.

Методология секвенирования достаточно проста и заключается в том, чтобы из исследуемой ДНК получить серию молекул, различающихся по длине на одно основание

Секвенированию подлежат только фрагменты, имеющие признаки наличия мутации.

Это позволяет снизить стоимость генетического исследования

Отбор кандидатов для дальнейшей расшифровки нуклеотидной последовательности может осуществляться различными методами, наиболее известными из которых являются анализ конформации однонитевых фрагментов (SSCP), гетеродуплексный анализ и градиентный гель-электрофорез

В последнее время для этой цели успешно применяется метод высокоразрешающего плавления продуктов ПЦР (High-resolution melting, HRM). Возможность осуществления последнего метода предусмотрена в некоторых приборах для проведения ПЦР в реальном времени

Важнейшим технологическим достижением, появившимся в XXI веке стала разработка методов высокопроизводительного геномного анализа. Термин «секвенирование нового поколения» объединяет несколько подходов к масштабному анализу генома, предложенных разными компаниями, и различающихся в отношении технологических решений и объема исследований

Полногеномное
секвенирование позволяет
расшифровать нуклеотидную
последовательность всех
известных участков ДНК,
включая помимо генов и
некодирующие области

Поскольку подавляющее большинство генетических заболеваний связано с мутациями в экзонах, для практического применения наиболее пригодно **ЭКЗОМНОЕ СЕКВЕНЦИРОВАНИЕ** (exome capture sequencing), при котором исследуются кодирующие последовательности и сайты сплайсинга всех известных генов (**ЭКЗОМ**)

Важнейшим отличием
подобных технологий от
существующих ранее
является возможность
проведения диагностического
поиска без предварительной
гипотезы о том, какие именно
гены лежат в основе
патогенеза заболевания

Именно поэтому их использование представляется наиболее оправданным в тех случаях, когда установление диагноза наследственного заболевания посредством традиционных методов (кариотипирование, FISH, отдельные молекулярно-генетические тесты) затруднительно

Таким образом, секвенирование нового поколения не только идентифицирует мутации в уже известных генах, но и позволяет находить новые гены, причастные к развитию заболеваний.

С использованием этого подхода за последние несколько лет были открыты генетические причины многих моногенных синдромов

Помимо этого, практически востребовано так называемое *«таргетное» секвенирование*, то есть создание диагностических панелей, позволяющих одновременно проанализировать десятки и сотни генов, причастных к развитию некоторых заболеваний (например, наследственных форм рака)

Необходимо отметить, что на современном этапе развития технологий секвенирования нового поколения, результаты, полученные с их помощью, должны обязательно верифицироваться с помощью традиционных методов ДНК-анализа

***Благодарю
за внимание***